

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına  
Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi

Pınar Karasatı

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Biyoloji Anabilim Dalı

Ağustos 2015

Protective Effect of Selenium Against Oxidative Stress and Heart Damage in  
Cyclophosphamide Induced Cardiotoxicity in Rat

Pınar Karasatı

**MASTER OF SCIENCE THESIS**

Department of Biology

August 2015

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına  
Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi

Pınar Karasatı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Genel Biyoloji Bilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Adnan AYHANCI

“(Bu tez BAP tarafından “201130D05” nolu proje çerçevesinde desteklenmiştir)”

Ekim 2015

## ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Pınar Karasatı'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek "[oybirliği veya oyçokluğu yazmak için tıklayın]" ile kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Adnan Ayhancı

**İkinci Danışman** :

**Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:**

**Üye:** Doc. Dr. Adnan Ayhancı

**Üye:** Doc. Dr. Pınar Öztopçu Vatan

**Üye:** Prof. Dr. Mehtap Kutlu

**Üye:** Prof. Dr. Varol Şahintürk

**Üye:** Yrd. Doc. Dr. Mustafa Cengiz

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN  
Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım klavuzuna göre Doç.Dr.Adnan AYHANCI danışmanlığında hazırlamış olduğum “Sıçanlarda Siklofosamid Nedenli Kardiyotoksistide Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğime; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 24.08.2015

Pınar KARASATI

İmza

## ÖZET

Antikanser bir ilaç olan siklofosfamid (CP) ürotoksik etkilerinin yanı sıra kardiyotoksik etkilerde sahiptir ve bu durum klinik kullanımını sınırlamaktadır. CP'nin kardiyotoksitesi ürotoksitle kıyaslandığında daha az yaygındır ve şu ana kadar CP nedenli kardiyotoksitenin mekanizmasını çalışmak için daha az önem verilmiştir. Serbest oksijen radikallerinin inflamasyon boyunca aşırı üretilmesi kalp hasarının nedenlerinden biridir.

Selenyum (Se) neredeyse bütün dokularda redoks durumlarında ve serbest oksijen radikallerinin düzenlenmesinde hayati rol oynamaktadır. Bu yüzden bu çalışmada CP kardiyotoksitesi ve selenyumun olası koruyucu etkileri kalp dokusunda araştırıldı. 42 adet *Sprague-Dawley* sıçanı her grupta 7 hayvan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı ve kontrol grubuna serum fizyolojik ve diğer sıçanlara 150 mg/kg CP, 0.5 ve 1 mg/kg Se, CP+0.5 ve CP+1 mg/kg Se intraperitoneal (İp) olarak enjekte edildi. Sıçan serumlarından iskemi modifiye albumin (İMA), laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin kinaz MB (CK-MB) ölçüldü ve kalp dokuları mikroskopta incelendi. CP verilen ratlarda kontrole göre, İMA (%27) yükselirken, CP ile birlikte 0,5 ve 1 mg/kg Se verilen ratlarda İMA değerleri kontrole yaklaştı. CP uygulamasını takiben LDH (%73) CK-MB (%58) oranlarında arttı. Ancak Se uygulanmasından sonra bu değerler önemli oranda düştü dahası bu biyokimyasal sonuçlar mikroskopik gözlemlerle de desteklendi.

Sonuç olarak, bu çalışma CP nedenli kardiyotoksitede Se'un sadece potansiyel terapötik etkinliğini değil aynı zamanda kalp fonksiyon bozukluğu ile ilgili serbest oksijen türlerinin giderilmesi bakımından da önem arz etmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Siklofosfamid, oksidatif stres, kardiyotoksite, selenyum, sitoprotektivite, sıçan

## SUMMARY

The anticancer drug cyclophosphamide (CP) has cardiotoxic effects besides its urotoxicity, which both in turn limit its clinical utility. The cardiotoxicity of CP is less common compared to its urotoxicity, and not much importance has been given for the study of mechanism of CP-induced cardiotoxicity so far. Overproduction of reactive oxygen species (ROS) during inflammation is one of the reasons of the heart injury. Selenium (Se) play crucial roles in regulating ROS and redox status in nearly all tissues; therefore, in this study, the cardiotoxicity of CP and the possible protective effects of Se on rat heart were investigated.

Forty-two Sprague–Dawley rats were equally divided into six groups of seven rats each. The control group received saline, and other rats were injected with CP (150 mg/kg), Se (0.5 or 1 mg/kg), or CP+ Se intraperitoneally. Ischemia modified albumin (IMA), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase- MB (CK-MB) levels in serum of rats were measured, and heart tissues were examined under the microscope. CP-treated rats showed a increase of serum IMA levels (27% of control), while CP+Se (0.5 or 1 mg/kg) injected rats had IMA values close to the control group. LDH levels increased 73% and CK-MB levels increased 58% of controls following CP administration, which were significantly decreased after Se treatment. Furthermore, these biochemical results were supported by microscopical observations.

In conclusion, the present study not only points to the therapeutic potential of Se in CP-induced cardiotoxicity but also indicates a significant role for ROS and their relation to heart dysfunction.

**Keywords:** Cyclophosphamide, oxidative stres, cardiotoxicity, selenium, cytoprotectivity, rat

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde bana danışmanlık eden, tüm çalışmalarında beni yönlendiren ve her türlü olanağı, desteği sağlayan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince histolojik işlemlerin yorumlanmasında çok değerli görüşlerinden ve bilgilerinden faydalandığım hocam Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK'e, gerek deneysel çalışmamda gerekse istatistik işlemlerde desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Ahmet MUSMUL'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca hep desteğini gördüğüm ve bilgilerinden faydalandığım çok değerli Öğr. Gör. Dr. Sibel GÜNEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarını beraber yürüttüğümüz ve herdaim yanımda olan desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Özge ACAR ve Nilhan HEYBELİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta sevgili babam Hikmet KARASATI, sevgili annem Meral KARASATI'ya ve canım ablam Birce AKBAY'a çok teşekkür ederim.

Tezimi, yüksek lisans eğitim sürecimde bana desteğini esirgemeyen, araştırmaları ve bilimsel çalışmaları ile bilinen, ideallerine kavuşmadan aramızdan ayrılan ailesinin ve bizlerin gururu canım kuzenim Burak BELLAZ'ın anısına hediye ediyorum. Allah'tan rahmet diliyorum...

Bu tez BAP tarafından "201130D05" nolu proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	<b>vi</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>vii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1.GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>4</b>
2.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller .....	4
2.2. Antioksidan (AO) .....	6
2.2.1. Enzimatik antioksidanlar .....	8
2.2.2. Enzim karakterli olmayan antioksidanlar .....	9
2.2.3. Beslenmenin antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi .....	10
2.3. Kalp dokusu ve serbest radikaller.....	10
2.4. Siklofosfamid (Cyclophosphamide=CP).....	12
2.5. Selenyum .....	15
2.5.1. Selenyumun beslenme ve sağlıkla ilişkisi .....	16
2.5.2. Selenyum fazlalığı ve eksikliği .....	17
2.5.3. Selenyumun kalp hastalıklarındaki yeri .....	17
2.6. Laktat dehidrogenaz .....	18
2.7. Kreatin kinaz (CK) ve Kreatin kinaz-MB (CK-MB) .....	19
2.8. İskemi modifiye albumin (İMA) .....	20
2.8.1. Albümin-kobalt bağlanma testi .....	21

**İÇİNDEKİLER (devam)****Sayfa**

<b>3.MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>22</b>
3.1. Kullanılan Gereçler .....	22
3.2. Yöntemlerin Uygulanması.....	23
3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması .....	23
3.2.2. Siklofosfamid ve selenyum uygulaması .....	23
3.3. Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması .....	25
3.3.1. Serum kreatinkinaz-mb (ck-mb) düzeyinin belirlenmesi .....	25
3.3.2. Serum laktat dehidrogenaz düzeyinin belirlenmesi.....	25
3.3.3. Serum iskemi modifiye albumin düzeyinin belirlenmesi .....	25
3.4. Histolojik Değerlendirmeler.....	26
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	26
<b>4.BULGULAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>27</b>
4.1.Biyokimyasal Bulgular .....	27
4.2. Histolojik Bulgular .....	33
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>36</b>
<b>6. KAYNAKLAR DİZİNİ.....</b>	<b>40</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Serbest radikalın yapısı; en dışyörüngesinde eşlenmemiş elektron görülmektediri .....	5
2.2. Siklofosfamid;2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2 oksit .....	13
2.3. CP metabolizması .....	13
2.4. ACR'nin üroepitelyal hücreye girmesi, reaktif oksijen türevlerinin üretimi ve İNOS aktivasyonunun artmasıyla başlayan ve DNA hasarıyla sonuçlanan süreç .....	14
2.5. Albümin kobalt bağlanma testi: İMA ölçümü. İskemik örnekte, İMAdeğeri artmakta Serbest kobalt (gri alan) indirekt olarak İMA değerini yansıtmakta .....	21
4.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun İMA seviyeleri.....	30
4.2. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun CK-MB seviyeleri.....	31
4.3. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun LDH seviyeleri.....	32
4.4. Tüm deney gruplarına ait kalplerden boyuna alınmış kesitler .....	34
4.5. Tüm deney gruplarına ait kalplerden enine alınmış kesitler .....	35

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Cizelge

### Sayfa

2.2. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (Diplock, 1998) .....	7
3.2. Uygulanan Siklofosfamid ve Selenyum'un gruplara göre dağılımı .....	24
3.3. Siklofosfamid ve Selenyum'un gruplara uygulama şekli .....	24
4.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol gruplarının İMA, CK-MB ve LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması .....	28
4.2. 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile bunların kontrol gruplarının İMA, CK-MB ve LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması .....	29

**SİMGELER DİZİNİ**

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklamalar</u></b>
COOH	Karboksilik asit
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
Kg	Kilogram
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mn	Mangan
NO	Nitrik oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit
OH	Hidroksil
ROOH	Hidroperoksit

**KISALTMALAR DİZİNİ**

<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklamalar</u></b>
ACR	Akrolein
AMI	Akut Miyokart İnfarktüsü
AO	Antioksidan
CAT	Katalaz
CK-MB	Kreatin kinaz-MB
CP	Siklofosamid
FAM	fosforamid mustard
GP <sub>x</sub>	Glutasyon peroksit
GSSG	Glutasyon redüktaz
HC	hemorajik sistit
İKH	Kronik İskemik Kalp Hastalığı
İMA	İskemi Modifiye Albumin
KAH	Koroner Arter Hastalığı
LDH	Laktat Dehidrogenaz

**KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)**

MDA	Malondialdehit
NOS	Nitrik oksit sentaz
Se	Selenyum
SF	Serum fizyolojik
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen türleri
TBA	Tiyabarbitürik asit
TNF	Tümör Nekroz Faktör
Tn <sub>x</sub>	Tioredoksin reduktaz

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzün önde gelen hastalıklarından biri olan kanser ülkemizde 1970'li yıllarda ölüm nedenleri arasında 4.sırada yer alırken son 10 yılda ilk sıraya yerleşmeye başlamıştır. Kanser oluşumu, somatik hücrelerin büyüme ve farklılaşmasını düzenleyen karmaşık mekanizmaların kontrolünden kurtularak hızlı ve sürekli bir şekilde çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Kanser gelişiminde 3 evre bulunmaktadır.

- 1) Normal hücrenin neoplastik hücreye dönüştüğü başlama evresi.
- 2) Neoplastik hücrenin çoğaldığı gelişme evresi.
- 3) Malign özelliğin kazanıldığı gelişme evresi (Giray vd., 1996).

Günümüzde kanser tedavisinde, kanser tanısı konan hastaların bireysel özellikleri ve hastalık durumuna göre kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemlerinden bir veya birkaçı kullanılmaktadır (Kızılcı, 1999). Kanser kemoterapisinin de amaçlanan, tümörün büyümesini ve farklı odaklarda yeniden gelişmesini engelleyecek ve hatta tümüyle ortadan kaldırılmasını sağlayacak sitotoksik etki oluşturmaktır. Burada en büyük sınırlayıcı faktör tümörün tedavide kullanılan ilaçlara karşı direnç geliştirmesidir. Karşılaşılan diğer temel sorun ise kemoterapötiklerin normal dokular üzerindeki toksik etkisidir (Calabresi ve Welch, 1962; Kızılcı, 1999).

Kanser hastalarında antineoplastik kemoterapinin gelişmesi ve destek tedavisi ile mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (Meister ve Meadows, 1993). Antineoplastik ilaçların en fazla kanserojenik olanları alkilleyici (siklofosamid, karmustin, klorambusil, prokarbazin vb.) tipte olanlardır (Kayaalp, 1989). Alkilleyici ilaçların kemoterapi de dozunu kısıtlayan en önemli etkisi ise bağışıklık sistemini baskılamasıdır. (Turc ve Poulter, 1972; Stockman vd., 1973; Pool vd., 1988; Kawabata vd., 1990).

Bir oksazafosforin alkilleyici ajan olan CP, iltihabı azaltan ve bağışıklık sistemini baskılayan (immünosüpressif) bir ilaçtır. DNA sentezini değiştirerek hücrelerin çoğalmasını engelleme ile etki eder (Dollery, 1999). Aynı zamanda diğer

kemoterapötiklerle birlikte geniş bir kullanım alanına sahip olan CP'nin de yan etkileri vardır. Bunlardan başlıcaları; hematopoietik depresyon, hemorajik sistit (HC) ve renal toksisitedir (Abraham ve Isaac, 2011). HC, CP'nin en önemli yan etkisidir. Ciddi HC; mesane kontraksiyonu, anemi, tekrarlayan üriner sistem enfeksiyonu, mesane delinmesi (perforasyonu), böbrek yetmezliği ve ölüme yol açabilir (West, 1997). Nekrozis, içkanama ve fibrosis meydana getirmektedir (Nagi vd., 2010). CP'nin iki aktif metaboliti fosforamid mustard (FAM) ve akroleindir (ACR). CP'nin antineoplastik etkileri FAM ile ilişkilidir. FAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. CP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan ACR ile ilgilidir. ACR büyük oranda SOR (serbest oksijen radikalleri) oluşumuna yol açar ve memeli hücreleri için mutajeniktir (Kawabata vd, 1990 ). CP metabolitleri; COOH, SH, NH<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub> ve OH gruplarıyla reaksiyon verebilir ve DNA ve proteinlerle çapraz bağ oluşturabilir (Todorova vd., 2009). CP'nin yüksek doz kullanımı kardiyotoksitenin akut tipine neden olabiliyor ve konjestif kalp yetmezliği, kalp tamponadı ve miyokard depresyon gibi ölümcül komplikasyonlara yol açabiliyor (Goldberg vd., 1986).

CP'nin toksik etkilerini önleyerek daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayan yöntemler geliştirilmişse de halen ilaç uygulama sistemleri daha duyarlı olabilecek metodların arayışı içindedir (Ayhanci vd., 2008). Antioksidanların (AO), kemoterapi ile ilgili bazı toksik etkileri azaltabileceği ve AO'ların kemoterapiye bağlı toksisiteyi azaltarak, daha yüksek ve etkin dozlarının kullanılmasının sağlanabileceği ileri sürülmüştür (Block vd., 2007; Ladas vd; 2004; Simone vd., 2007; Christen vd., 2000; Blumenthal vd., 2000; Borek, 2004 ).

Kanser nedenleri arasında lipid peroksidasyonunun düşünölmeye başlanması; çalışmaları çeşitli besinsel AO'ların kanser oluşumu üzerine etkilerini araştırmaya yöneltmiştir (Byers ve Perry, 1992). AO'ların karsinogenezin başlama ve gelişme dönemini baskıladıkları, hücre ölümü ve değişmesini önledikleri bulunmuştur (İşcan ve Çoban, 1998).

Selenyum (Se) canlı organizmalar için esansiyel bir iz mineral olup organizmada doymamış yağ asitlerinin oto-oksidasyonunu engeller. Bu durum, Se' un serbest radikalleri (SOR) inaktive eden ve böylece lipid peroksidasyonunun oluşmasını engelleyen 'glutatyon peroksidaz' (GP<sub>X</sub>) enziminin merkez katalitik yapısını oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Tos- Luty vd., 2003). Se' un lipid peroksidasyonunu baskılayarak hücre zarını koruyucu görevi vardır (Ilio vd., 1987). Se ve sistein kombinasyonlarının, kemoterapi ve

radoterapinin yan etkilerine karşı koruyucu olduğu, hayatta kalma süresinin uzadığı, tedaviye cevabın arttığı bildirilmiştir (Simone vd., 2007).

Çeşitli çalışmalarda akut miyokart infarktüsü (AMI), kronik iskemik kalp hastalığı, konjestif kalp yetersizliği, kardiyomyopati ve hipertansiyon gibi hastalıklarda serum veya plazma Se konsantrasyonlarında anlamlı azalma gösterilmiştir. Se düzeyinin etiyolojik faktörler veya biyolojik sonuç olarak azalıp azalmadığı tam olarak aydınlatılamamışsa da Se eksikliğinin bu durumları arttırdığı bilinmektedir. Se eksikliğiyle oluşan GPx ve tioredoksin reduktazın (Tnx) azalmış AO aktivitesi de göz önünde tutulması gereken bir diğer faktördür. Se eksikliği bu nedenle iskemi sonrası reperfüzyon hasarıyla bunu takiben AMI, koroner bypass ameliyatı, kalp nakli ve koroner anjiyoplasti ihtiyacında artışa neden olabilmektedir (Levander ve Burk, 1994; Toufektsian vd., 2000).

Biz de bu çalışmamızda deneysel olarak oluşturulmuş CP nedenli kalp dokusu hasarının önlenmesinde, AO özellikleri bilinen Se' un olası sitoprotektif etkilerini histolojik incelemeler ve biyokimyasal yöntemlerle araştırmayı planladık.

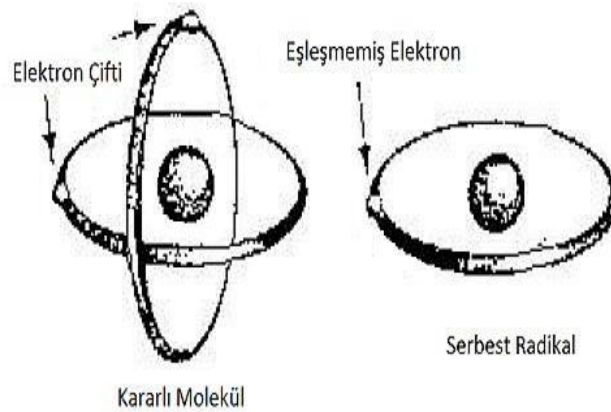
## 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Patolojik bir olayı takiben organizmada meydana gelen fizyopatolojik değişiklikler temelde belirli mekanizmaların harekete geçmesi ile oluşmaktadır. Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri veya oksijen metabolitleri olarak da adlandırılabilen bir kısım maddelerin ortaya çıkması ile hücre ölümü, doku hasarı ve nekroz sonucunda, organ veya sistemlerde işlev yetersizliği meydana gelmektedir (Dilek, 2003).

Dış orbitallerinde çiftlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllere radikal adı verilir ve “R” ile gösterilir. Atomun üzerindeki nokta paylaşılmamış elektronu göstermektedir. Kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler bir an önce kararlı hale ulaşmak isterler. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle oluşabilir. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olup tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedirler (Del Maestro, 1980; Kehre ve Smith, 1994; Uysal, 1998 ). Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA, nükleotid ve koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar verebilirler. (Diplock, 1998).

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron; atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırır (Şekil 2.1.). En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir ve molekülün kimyasal simgesinin sağ üst köşesine konan nokta veya çizgiyle gösterilir (R·, R<sup>·</sup>) (Meister, 1994; Cros vd., 1997).



**Şekil 2.1.** Serbest radikalın yapısı; en dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron görülmektedir (Meister, 1994; Cros vd., 1997).

Serbest oksijen radikalleri (SOR), atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri" de denmektedir. Oksijen insan yaşamı için çok gerekli olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı SOR'lar bedene yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir. Serbest radikal oluşumunun artması, oksidatif stresi tetiklemektedir. (Bhuvarahamurthy vd. , 1996; Berk vd., 2008).

Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle AO enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımı belirlendiği üzere, SOR ile AO'lar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbohidratlar ve lipitler gibi hücresel makromoleküller zarar görür (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Gutteridge, 1994; Berger, 2005; Zadák vd., 2009; Wildburger, 2009). Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diabetes mellitus, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Mercan, 2004). SOR'lar; süperoksit ( $O_2^-$ ), nitrik oksit ( $NO^-$ ), hidroksil ( $OH^-$ ) ve lipit peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli SOR'lar, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksidatif stres sonrası oluşan SOR'lar; DNA, lipit ve protein hasarına yol açar. SOR ile okside olan yağ asitleri lipit peroksi radikallerine ve lipit hidroperoksitlere dönüşürler. Lipit peroksi radikalleri ise malondialdehit (MDA)'e

dönüşür. Lipit radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. SOR endojen veya ekzojen olarak oluşabilir. Endojen SOR, normal hücre metabolizması ve oksidatif fosforilasyon sonrası oluşur. Hormonlar, bazı kimyasallar, ilaçlar ekzojen SOR'u oluştururlar. Lipit radikalleri hücre zarını kolayca geçebilir ve hücredeki dengeyi alt üst eder (Knight, 1995).

Radyoterapi ve bazı kemoterapötikler serbest radikal üreterek hücre ölümüne neden olmaktadır ve kemoterapi alan hastalarda, plazma lipit hidroperoksitleri ve tiyobarbitürik asit (TBA)-reaktif bileşiklerin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına işaret etmektedir (Sangeetha vd., 1990; Clemens vd., 1997; Lin, 2002). Kemoterapi aracılıklı oluşan SOR'ların; DNA, RNA, protein ve lipid gibi makromoleküllerde hücre ölümüne kadar giden hasara neden olabildiği belirtilmektedir (Brea-Calvo vd., 2006; Crohns vd., 2009).

Bu reaktif oksijen bileşikleri yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna bilgiler bulunmaktadır (Diplock 1998). Ayrıca SOR'un sitostatiklerce indüklenen yan etkilerde önemli rolü olduğu çok sayıda veri ile gösterilmiştir. Örneğin, antrasiklin grubu ilaçların, bir elektron redüksiyonu, semikinon radikali oluşumuna yol açmaktadır ve redükte demir iyonu varlığında oluşan OH<sup>-</sup> antrasiklinlerin kardiyotoksitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (weijl vd., 1997). Aerobik organizmalarda serbest radikal oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak üzere AO savunma sistemleri gelişmiştir. Ancak bazı durumlarda mevcut AO savunma sistemi SOR'ların etkisini tamamen önleyemez ve oksidatif stres ortaya çıkar (Arge, 2010). Oksidatif stres SOR'lar ve AO'lar arasındaki dengenin SOR'lar lehine bozulması sonucu ortaya çıkar (Memişoğulları, 2005).

## **2.2.Antioksidan (AO)**

Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir

(Diplock, 1998). Organizmada esansiyel maddelerin oksidasyonuna neden olabilecek moleküllerin etkilerini önleyen veya geciktirebilen maddelere AO denilmektedir (Yeum vd., 2004; Kurutaş vd., 2004). AO moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içerir. Hücre içi SOR toplayıcı enzimler asıl AO savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, GPx, glutatyon redüktaz (GSSG) , katalaz (CAT) ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (Halliwell, 1991). AO mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil AO'lar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil AO kategorisinde yer alan SOD, GPx ve CAT gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücresel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock, 1998). İkincil AO'lar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou vd., 2002).

**Tablo 2.1.** Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (Diplock, 1998).

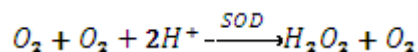
Oksidan	Antioksidan savunma
Sigara dumanı	Süperoksit dismutaz
Egzersiz	Katalaz
Çevre kirleticiler	Glutatyon peroksidaz
Ateşli hastalıklar	Glutatyon
Radyasyon	Ubikinon
Çoklu doymamış yağ asitleri ile zengin bir diyet	Selenyum
İskemi	Ürik asit
Karsinojenler	E vitamini
	C vitamini
	$\beta$ - karoten ve diğer karotenoidler

Oksidatif stres yokluğunda bu enzimler çok düşük düzeydedir. Bu enzimlerdeki artma ve azalmalar denge durumunu değiştirerek oksidatif strese yol açar (Dreher ve Junod, 1996).

### **2.2.1. Enzimatik antioksidanlar**

#### **2.2.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Bu enzim, süperoksit anyonunun ( $\cdot O_2^-$ ),  $H_2O_2$  ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir (Larson, 1988).



Hücreden  $H_2O_2$  çıkarılması için SOD, CAT ve GPx enzimleri ile birlikte çalışır (Smith vd., 1983). SOD enziminin, bakır-çinko (Cu-Zn) SOD ve mangan (Mn) SOD olmak üzere iki tipi vardır. Bunların hücre içindeki dağılımı; tetramerik Mn formunun esas olarak mitokondriyal matrikste, kısmen sitoplazmada; dimerik Cu-Zn formunun ise esas olarak sitoplazmada ve kısmen mitokondri zarları arası alanda bulunması şeklindedir. (Blum ve Fridovich, 1985; Mena vd., 1991).

#### **2.2.1.2. Katalaz**

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan  $H_2O_2$ 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli AO enzimler olan CAT ve peroksidaz enzimleri yerine getirir (Halliwell, 1984).  $H_2O_2$ , CAT tarafından  $H_2O$ 'ya ve  $O_2$ 'ye dönüştürülür. Hücre içi  $H_2O_2$  konsantrasyonunu etkin bir şekilde düzenlerler (Burk, 1990). Peroksidazlar da CAT enzimiyle aynı özelliklere sahiptir (Larson, 1988).

#### **2.2.1.3. Glutatyon ve glutatyon peroksidaz**

Glutatyon protein olmayan tek tiyoldür (Lu, 2009). GSH iki peptit bağı, iki karboksilik asit grubu, bir amino grubu ve bir tiol grubundan oluşmuş bir moleküldür.

GSH' deki en aktif grup tiol grubudur. GSH'daki tiol grubunun oksitlenmesi ile oluşan GSSG, AO özelliğini kaybeder (Zhao, 2001). GSH'ın en önemli görevlerinden biri de sistein deposu olmasıdır. Sistein hücre dışı ortamda kararsızdır ve hızlıca sistine okside olmaktadır (Lu, 2009; Yuan ve Kaplowitz, 2009). GPx, GSH tarafından hidroperoksitlerin ROOH ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye indirgenmesini sağlayarak, memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan se içeren bir enzimdir (Mates ve Sanchez-Jimenez, 1999).

Glutasyon peroksidaz enziminin Se bağlı ve bağımsız 2 izomeri vardır. Se'a bağlı izoenzimi selenosistein formunda bulunmaktadır. Se'dan bağımsız GPx ise, hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında lokalize olup, yalnızca lipit hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir (Seven ve Candan, 1996).

### **2.2.2. Enzim karakterli olmayan antioksidanlar**

Antioksidan vitaminler

Karotenoidler

Glutasyon

Ürik asit

Bilirubin

Melatonin

Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki ederler:

a) SOR'ları etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. AO enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

b) SOR'larla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

c) SOR'ları bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

d) SOR'ların oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir (Durak vd., 1996).

### 2.2.3. Beslenmenin antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi

Vücutun AO dengesi diyetten büyük ölçüde etkilenmektedir. Besin yetersizlikleri nedeniyle vücudun savunma mekanizmaları tahrip olduğu zaman patolojik koşullar oluşabilmektedir. Reaktif oksijen türlerindeki artış ve savunma sistemlerindeki bir yetersizlik vücuttaki AO dengesinin bozulmasına ve “oksidatif stres” koşullarının oluşmasına neden olmaktadır. AO savunma sisteminin etkinliği; E vitamini, C vitamini ve karotenoidler gibi AO vitaminleri ve esansiyel iz mineralleri içeren gıdaların yeterince alınmasına bağlıdır (Duthie vd., 1989). Bu vitaminler birlikte etkin bir şekilde çalışarak hastalık ve hasarlara neden olan zararlı SOR’ların etkisini yok etmektedir.

E vitamini (tokoferoller), yağda çözünebilen başlıca AO’lardan olup tüm hücre membranlarında bulunmakta ve çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır. Askorbik asit de vücudun ekstraselüler sıvılarında bulunan ve suda çözünebilen önemli bir AO’dur. Vücutta sentezlenemediği için gıdalarla dışarıdan alınması gerekmektedir. Askorbik asidin indirgen bir ajan olmasının yanısıra E vitaminini rejenere etme özelliğine de sahiptir (Diplock 1998). E vitamininin yüksek dozlarda diyet ilavesinin LDL düzeylerini önemli ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı oldukça koruyucu olduğu bildirilmektedir (Reaven vd., 1993).

Karotenoidler ise; A ve O aktiviteğini serbest radikal reaksiyonlarına katılarak zararlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşum hızını azaltmak suretiyle gösterirler (Di Mascio vd., 1991). Önemli diyet karotenoidlerinden β- karoten; sarı, turuncu sebze ve meyvelerde, yeşil sebzelerde, likopen; domateste ve lutein; brokoli ve lifli yeşil sebzelerde bulunmaktadır (Diplock, 1998). Özellikle bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler de indirgen ajan, hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı ve metal kelatör olmaları nedeniyle önemli AO’lar arasında sayılmaktadır (Rice-Evans vd., 1995). Se, bakır, manganez ve çinko gibi mineraller de koruyucu enzimlerin yapıları ve katalitik aktiviteleri için gereklidir.

### 2.3. Kalp dokusu ve serbest radikaller

Antikanser tedavinin potansiyel bir komplikasyonu kısa ve uzun dönem kardiyovasküler toksisitedir. Kardiyovasküler sistem üzerine etki eden kemoterapötiklerin en önemlileri antrasiklinler, mitoksantron, siklofosfamid, ifosfamid ve paklitaksel olmakla birlikte yeni monoklonal antikolar (trastuzumab) ve trozin kinaz inhibitörleri de seyrek

olarak çok ciddi kardiyotoksisite gösterebilmektedir. Antrasiklin toksisitesinin akut formu EKG değişiklikleri, ritim bozuklukları ve hemen oluşan ventrikül disfonksiyonudur (Yahalom ve Portlock, 2008; Özkocaman, 2010).

Antrasiklinler redoks siklusunu etkiler ve bir molekül antrasiklin birçok serbest radikalin oluşumuna yol açar (Olson vd., 1981). Hidrojen radikalleri hücre zarındaki lipidlerin oksidasyonu, mitokondriyal respiratuvar siklusda defekt oluşumu, DNA yıkımı, sülfidril içeren enzimler ile kollajen ve hiyaluridik asit fonksiyonlarında bozulmaya yol açar (Holland vd., 1993; Cummings et al., 1991). Kardiyomiyosit hasarındaki anahtar rol antrasiklin kompleksleri ile demir ( $Fe^{+++}$ ) iyonları arasındaki ilişkidir. Bu  $Fe^{+++}$  iyonları hem hidrojen radikallerinin üretiminin katalizörleridir, hem de direkt olarak DNA ve hücre zarındaki lipidler üzerinde yıkıcı etkileri vardır (Robison ve Giri., 1987). Kalp daha az serbest radikal detoksifiye eden enzimler içerdiğinden hasara daha fazla duyarlıdır (Huber, 1990).

Kardiyovasküler hastalıklarda hipoksi ve iskeminin özel bir yeri vardır (Haider vd., 1999). Hipoksi ve iskemi sırasında oluşan myokardiyal hasarın etyopatogenezine ve önlenmesine yönelik çalışmalara günümüzde devam edilmektedir.

Hipoksiye bağlı myokardiyal hasarlanmanın patogeneğinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (Dhalla vd., 2000).

Herhangi bir nedenle oluşan myokardiyal hipoksi ve/veya iskemi sırasında ortaya çıkan serbest radikaller, sitokinler ve nitrik oksit (NO) iskeminin erken evresinde, nötrofil ve monositlerin intimayı infiltre ederek endotel hücrelerinde hasara neden olması sonucu ortaya çıkar ve lipid peroksidasyonunu indüklerler (Das, 2000). Lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan MDA gibi lipid peroksidasyon ürünleri de myokardiyal hasarda rol oynar (Halliwell, 1994). Myokardiyal hasar için serum kreatin kinaz (CK-MB), laktat dehidrogenaz (LDH) ve troponin I düzeylerindeki artışlar belirleyici olarak kullanılmaktadır (Haider vd., 1999). Bazı çalışmalarda myokardiyal iskemi hipoksiye bağlı kardiyak SOD aktivitesinde azalma olduğunu rapor edilmiştir (Guarnieri vd., 1980; Rao vd., 1983).

Yapılan bir çalışmada hipoksi oluşturulan grupta çalışma sonu CK-MB ve LDH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptanması literatürdeki çalışmalarla uyumlu

bulunmuş, CK-MB ve LDH düzeylerindeki yükselme gruplarda yeterli hipoksi ve myokardiyal hasar oluşturulduğunu düşündürmüştür (Narin vd., 2004).

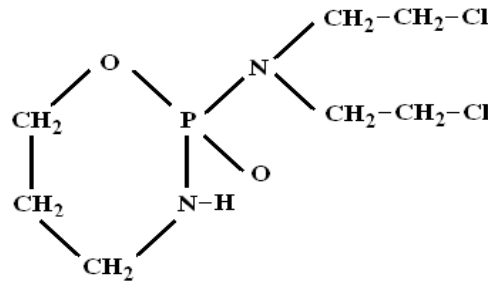
Özellikle yüksek doz CP (120-200 mg/kg) kullanımından sonra kardiyak etkiler bildirilmiştir. Kardiyak semptomları; aritmi (taşıkardi, atriyo-ventriküler tam blok), akut fulminant kalp yetersizliği ve hemorajik miyoperikardiyum ve bunun neden olduğu perikardiyal efüzyon, kardiyak tamponat ve hatta ölüme neden olabilir (Floyd vd., 2005; Slordal ve Spigset, 2006).

#### **2.4.Siklofosfamid (Cyclophosphamide=CP)**

Siklofosfamid (CP), nitrojen mustard (azotlu hardal) tipi alkilleyici ilaçlardır. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustard (PAM)'a dönüşerek etkinlik kazanır. (McEvoy, 2004). CP, ifosfamid ve dikarbazin farmakokinetik anlamda ön ilaçlardır. Bu ilaçlar karaciğerde karma fonksiyonlu oksidazlar tarafından aktif metabolitlere dönüştürülürler (Türker ve Dizdar, 2005). Karaciğer sitokrom p450 sistemi CP'yi 4-hidroksisiklofosfomide çevirir. Bu form aldofosfomide eşittir. Aldofosfamid'in ayrışması ile PAM ve akrolein (ACR) oluşur (Shaunak vd., 1988).

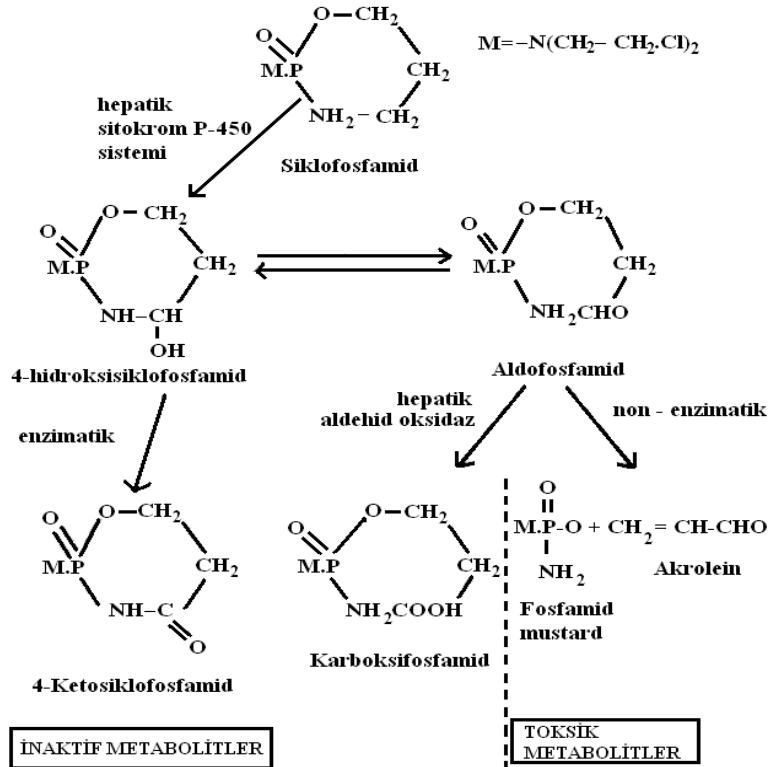
Siklofosfamid, solid tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmasının yanında lenfoma, miyeloma, kronik lenfositik lösemi ve Waldenstrom makroglobulinemisi gibi B-hücre malignitelerinde de kullanılmaktadır. Ayrıca CP ve sentetik analogu olan ifosfamidin trombositopenik purpura, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis, nefritik sendrom ve Wegener granülomatosisi gibi nonneoplastik hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. CP'nin ilk yan etkileri 1960 yılında rapor edilmiştir (Coggins vd., 1960).

Siklofosfamid karaciğerde hidrosillenerek bir metaboliti olan ACR dönüşmektedir ve ACR'in böbrekten atılmasıyla yan etkiler ortaya çıkmaktadır. ACR sadece CP yıkılmasıyla oluşmamakta ayrıca sigarada, böcek ilaçlarında, bazı yiyeceklerde ve yanmış organik malzemelerde de bulunabilmektedir. ACR'in ürotelyumla direk temasıyla ürotelyal hasar başlamaktadır (Masuda vd., 2006). CP tedavisinden sonra %68 oranlarına varan he-morajik sistit ve kontrol edilemeyen kanama nedeniyle %4 oranında mortalite rapor edilmiştir. Hemorajik sistit CP'nin en önemli potansiyel toksisitesi ve doz sınırlayan yan etkisidir (Gray vd., 1986). CP'nin kimyasal yapısı şekil 2.3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2 oksit (Budavari, 1987).

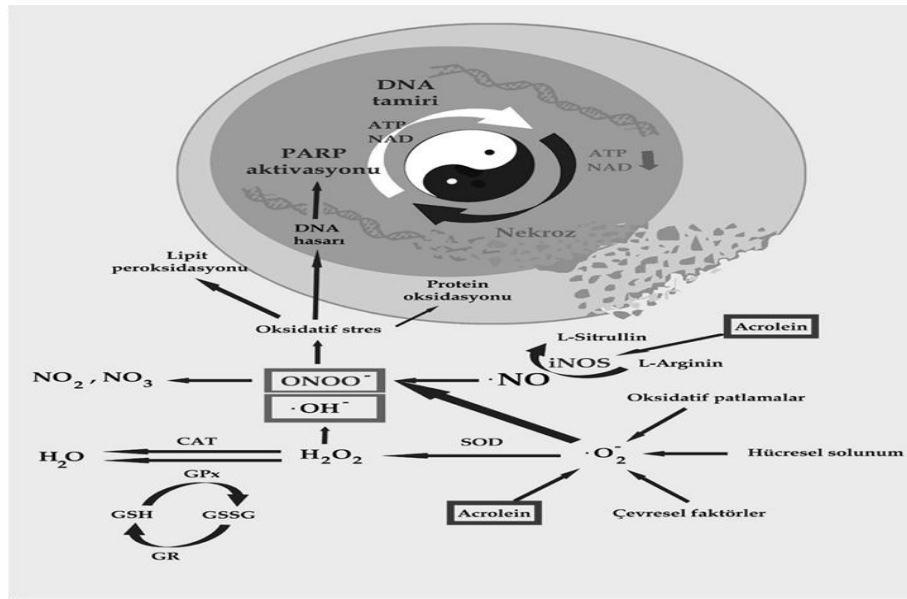
Fosforamid mustard'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan ACR'nin önemli makro moleküllerinin sülfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği böylece bağışıklığın baskılanmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Kwon vd., 1987; Pool vd., 1988; Kawabata vd., 1990).



Şekil 2.3. CP metabolizması

Siklofosfamide bağlı nefrotoksisiteden nefronun tüm segmentleri etkilenir. En sık tübüler glukoz, aminoasit, protein, fosfat ve bikarbonat kaybı ile karakterize proksimal tübül tutulumu görülür (Goren., 1987).

Akrolein üroepitelyumu geçerek ve bazı SOR'ları uyararak etkisini gösterdiği gibi nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden NO seviyelerini artırarak da (Şekil 2.4.) gösterir (Korkmaz vd., 2007).



**Şekil 2.4.** ACR'nin üroepitelyal hücreye girmesi, reaktif oksijen türevlerinin üretimi ve iNOS aktivasyonunun artmasıyla başlayan ve DNA hasarıyla sonuçlanan süreç (Korkmaz vd., 2007).

Nitrik oksit birçok önemli fizyolojik ve fizyopatolojik süreci düzenleyen SOR öncülü bir üründür. L-argininden NOS yoluyla sentez edilmektedir ve NOS'un 3 tipi vardır. Endotelial NOS (eNOS) endotelial hücrelerde ve fibroblastlarda sentez edilir ve esas olarak vazodilatasyondan sorumludur. Sinir sisteminde üretilen nöronal NOS (nNOS) sinirsel sinyalizasyonda görev alan bir enzimdir. İndüklenebilir NOS (iNOS), lökosit ve makrofajlarda sentezlenir. Genel olarak patolojik durumlarda sentezlenen iNOS'un aktivasyonu ile eNOS aktivasyonundan çok daha fazla NO üretilebilir (Szabo, 1996). Hemorajik sistit durumunda subüretelyumda iNOS üreten immünoreaktif hücrelerin sayısı artmaktadır. Ayrıca ACR'nin tetiklediği mekanizmalar sonucunda interloklin- $\alpha$ , tümör nekroz faktör (TNF- $\beta$ ), trombosit aktive edici faktör, COX-2 ve güçlü bir oksidan olan peroksinitrit seviyeleri artmaktadır (Korkmaz vd., 2005).

CP'nin kullanıldığı alanlar şunlardır:

Hodgkin dışı lenfomalar (Glode vd., 1981)

Çocukların akut lenfositik lösemisi (Bokser vd., 1990)

Küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri (Thatcher vd., 1988)

Pediyatrik solid tümörler (Bramwell vd., 1987)

CP'nin en sık görülen yan etkisi bulantı, kusma ve diğer gastrointestinal bozukluklar ile kemik iliği depresyonudur (Hansen vd., 1995; Ayhanci vd., 2009). CP'nin sınır dozunda gösterdiği toksisitenin kemik iliğini baskılayıcı toksisite olduğu ileri sürülmüştür (Thatcher vd., 1988). Kemik iliği depresyonuna bağlı olarak lökopeni, trombositopeni, ve bazı hastalıklarda alopesi gelişmektedir (Banham vd., 1985; Akçasu vd., 1992).

CP'nin insanlarda ve deney hayvanlarında mesane kanseri yaptığı yönünde raporlar bulunmaktadır (Lahdetie vd., 1990).

## 2.5. Selenyum

Selenyum (Se), yüksek konsantrasyonları toksik olan bu ametalin eser element olarak düşük konsantrasyonları vücut için esansiyeldir. Deniz ürünleri, yumurta ve karaciğerin yapısında bolca bulunur, vücudumuzda birçok enzimin kofaktörüdür ve temel olarak antioksidan fonksiyonuyla bilinen esansiyel bir iz elementtir. Se, insanlarda organizmayı oksidatif hasarlardan koruyan GPx'ların, iodo tiroin deiyodinazların, tiyoredoksin redüktazın ve selenoprotein P' nin de dahil olduğu pek metabolizmada rol oynamaktadır (Köhrle J vd., 2005). Selenosisteinler, biyolojik pH' da anyonik halde bulunur ve bu sayede elektron alışverişi yoluyla biyolojik redoks reaksiyonlarının gerçekleşmesini sağlarlar (Rayman, 2000). Selenoproteinler ise, selenosistein rezidüleri içeren protein yapılarıdır. Se eksikliğinin aslen selenoproteinlerin oluşmasında aksama sonucu klinik bulgulara neden olduğu düşünülmektedir. Se iz element olarak inflamatuvar, immunregülatuar ve endokrin fonksiyonların düzenlenmesi için hem yapısal hem de kofaktör olarak rol alır (vd., 2007).

Vücuttaki AO savunma sistemlerinin önemli bir elemanı olan GPx kofaktörü olan selenyum dışarıdan alınması gerekli olan bir mineraldir. GPx'ın; oksitlenmiş LDL kolesterolün etkilerinden endotel hücrelerini koruduğu tahmin edilmektedir (Yoshizawa vd., 2002; Whanger ve pd,2004; Lorgeril ve Sarel, 2006). GPx-1 hücre sitoplazmasında bir antioksidandır ve Se deposu olarak görev yapar. GPx'ın yapısı incelendiğinde selenosistein

rezidüsü içeren tetramerik bir selenoproteinden oluştuğu anlaşılmıştır. Yapıda asıl fonksiyon gören kısım selenosistein ucudur (Brown KM vd., 2001).

Selenyum ilk araştırmalarda antikarsinojenik etkileri ile ilgi çekmiştir. İlk olarak 1969 yılında Se'un kansere karşı olası koruyucu etkisi Shamberger ve ark tarafından bildirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yüksek miktarda Se alımı olan insanlarda azalmış kanser insidansı olduğu belirtilmiştir (Shamberger RJ vd., 1969). Se'un bazı kanser tiplerine karşı koruyucu olabileceği, erkek fertilitasını artırdığı, kardiyovasküler mortalitede azalma sağladığı ve astımda inflamatuvar mediatörlerin yapımını baskıladığı gösterilmiştir (Brown vd., 2001).

Vitamin E, Se metabolizmasında önemli rol oynar; Se'un organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak Se ihtiyacını azaltır. Serbest radikallerin kanserin başlamasında rol aldığı ve vitamin E ile diğer AO'ların antikanserojen etki göstererek kanserin yayılmasını ve tümörün büyümesini önlediği gösterilmiştir (González-Pérez vd., 2008).

### **2.5.1. Selenyumun beslenme ve sağlıkla ilişkisi**

Selenyumun en fazla deniz ürünleri, sığır ve tavuk etlerinde bulunduğu, bunu kuru meyveler, baklagiller ile tahılların izlediği, meyve ve sebzelerin ise Se açısından fakir olduğu görülmektedir. Sakatatlardaki Se, kırmızı etin yaklaşık 3-4 katı, yumurta sarısındaki Se'un, yumurta akının 4 katı, ayrıca deniz balıklarında Se'un tatlı su balıklarının 2 katı olduğu, Brezilya cevizi, Hindistan cevizi ile soğansu bitkilerden özellikle sarımsakta, Se'un diğer bitkisel kaynaklardan daha yüksek olduğu ve büyük varyasyon gösterdiği saptanmıştır (Mandic vd., 1995).

Selenyumun önemi, GPx enziminin yapısında bulunması ve bu enzimin aktivasyonu için gerekli bir element olmasından kaynaklanmaktadır. GPx, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu oluşan peroksitleri suya dönüştürerek, hücre yapısını bozan ve hücre zarına zarar veren serbest radikalleri yok eder. Bu özelliği ile kuvvetli AO olup çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif parçalanmasını önleyerek, hidroperoksit ve lipoperoksitleri inaktive etmektedir (Holsinger ve Smith, 1992; Alarcon vd., 1996; Reilly, 1998; Barceloux, 1999). Se'un bir diğer özelliği toksik ağır metallerin etkisini yok etmesidir. Deniz ürünlerinde civa veya civanın metil esteri Se ile birlikte bulunur. Her ne

kadar mekanizması tam olarak bilinmese de kadmiyum ve cıvanın toksik etkisini önlediği saptanmıştır (Shane vd., 1988; Rayman, 2000).

### **2.5.2.Selenyum fazlalığı ve eksikliği**

En belirgin bulgu saç ve tırnak dökülmesidir, deri ve sinir sistemi lezonları ve diş bozuklukları oluşur. Geçici EKG değişikliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve sarımsak kokulu solunum da bildirilmiştir (Akkuş vd., 1991).

Selenyum, kalp hastalıkları, damar sertliği gibi farklı hastalıkları olan kişilerin kanında düşük düzeyde görülürken, eksikliğinde Keshan denilen ve kalp yetersizliğine neden olan kalp kası bozukluğuna yol açtığı da bilinmektedir (Koca, 2007). Son yıllarda yapılan araştırmalar, insan vücudunda çok önemli fonksiyonlara sahip ve bazı hastalıkların önlenmesinde etkili olan Se mutlaka yeterince alınması gerektiğini göstermektedir. Se eksikliğine bağlı olarak bireylerde kretenezim yanında entelektüel düzeyde azalma, algılama ve konuşma bozukluğu, anormal yürüyüş, el becerisinde azalma, denge bozuklukları da görülebilmektedir (Levav vd., 1995). Se eksikliğinde görülen diğer önemli hastalıklar epilepsi ve Down Sendromu' dur (Aydın, 1997).

### **2.5.3.Selenyumun kalp hastalıklarındaki yeri**

Kalp yetersizliği kardiyak disfonksiyonun neden olduğu kompleks klinik bir sendromdur (McMurray vd., 2012). Hastalık, kendisini nefes darlığı, yorgunluk ve ödem gibi bulgularla göstermektedir. Konjestif kalp yetersizliğinin nedenleri arasında sıklıkla kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon ve kalp kapak hastalıkları yer almaktadır (Kannel vd., 1994). Buna karşın bazı hastalarda kardiyotoksik ilaçların kullanımı da kalp yetersizliğine neden olmaktadır. Bunların en önemlileri arasında sayılabilecek grup kanser hastalarında yaşam süresinin artışında belirgin etkileri ve yararları olan kemoterapötiklerdir. Bu ilaçların hafif kan basıncı değişikliği, tromboz, elektrokardiyografi (EKG) değişiklikleri, aritmi, miyokardit, perikardit, miyokard infarktüsü, kardiyomiyopati ve kalp yetersizliği gibi kardiyak yan etkileri gözlenmektedir (Shakir ve Rasul, 2009).

Kemoterapiye bağlı oluşan iki tip kardiyotoksisite gelişebilir. Tip 1 kardiyotoksisite doz bağımlıdır ve kalıcı miyokard hasarına neden olur, antrasiklinler bu kategorinin prototipidir. Tip2 ve kardiyotoksisite dozdan bağımsız ve genellikle geri dönüşümlüdür, rastuzumab örnek olarak gösterilebilir (Ewer ve Lippman,2005; Mackey vd., 2008).

Selenyum insan ve hayvan vücudunda birikerek zehir etkisi gösterir. Kaynak sularında yaşam için tehlikeli miktarda Se bulunmamasına rağmen, bu suların otlak ve çayırları beslediği alanlarda fazla Se birikimi olabilir ve özellikle sığır ve koyunlar için tehlike yaratabilir; ayrıca süt yoluyla insanlara bulaşabilmektedir (Şahinci, 1991). Se, AO özellikleri olan selenoprotein bir bileşeni olan selenin ile birleşir. Selenoproteinler immün sistem ve kanserin önlenmesinde etkilidir. Se eksikliğinin sebebiyet verdiği en önemli kalp hastalığı endemik Keshan kardiyomyopatisidir. 1930'lu yıllarda Çin'in kuzeydoğusundaki Keshan eyaletinde yaygın olarak görülen bu hastalığın kayalarda, toprakta ve doğal sularda ileri derecede düşük selenyum içermesinden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Ge ve Yang, 1993). Hastalık tipik olarak çocuklarda ve gebelerde görülür. Patolojide karakteristik olarak miyokard dokusunda multifokal nekroz ve fibrozis vardır. Neticede akut veya kronik kalp yetmezliği oluşur. Kardiyomyopatinin Se eksikliğinin kendisinden mi kaynaklandığı ya da Se eksikliğinin kardiyotropik virüslere duyarlılığı artırmasına mı bağlı olduğu belli değildir. Konjestif kardiyomyopati hastaları, sağlıklı bireylere göre belirgin olarak daha düşük serum Se konsantrasyonlarına sahiptir (Fuster vd., 2001). Kardiyomyopati hastalarında sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu ile Se konsantrasyonları arasında da pozitif bir orantı bulunmaktadır (Oster ve Prellwitz, 1997).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada antrasiklin verilen kanserli çocuklarda Se desteğinin kardiyotoksisteyi önlediği gösterilmiştir (Tacyildiz vd., 2012). Se'un E vitaminiyle birlikte üstlendiği önemli görevlerden biri AO etki göstermektir. Yeterli olmamaları durumunda, GP<sub>x</sub> enziminin de yetersizliğiyle serbest radikallerin zararlı etkileri önlenememekte, hücrelerin yapı bütünlüğü bozulmakta ve metabolik işlevlerde eksiklik olmaktadır (Kaneko, 1989).

## **2.6. Laktat dehidrogenaz**

Laktat dehidrogenaz (LDH), dokuların çoğunda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. En yoğun bulunduğu dokular; karaciğer, kalp kası, iskelet kası ve böbrektir. Pek çok dokuda bulunması nedeniyle tek başına karaciğer hastalıklarının değerlendirilmesinde yararlı değildir (Dilek, 2003). Dolaşımda, LDH 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak adlandırılan 5 izoenzimi bulunur (Henry, 2001). LDH1 özellikle kalp kası, LDH5 ise karaciğer hasarını göstermekte etkindir. Total LDH aktivitesi başta myokard enfarktüsünde, kalp kası hastalıkları, iskelet kası hastalıkları, akut viral hepatitler, tıkanma sarılığı, enfeksiyöz

mononükleoz, siroz, kolestaz, karaciğerin primer ya da metastatik tümörlerinde artar. Megaloblastik ve pernisiyöz anemi, hemolitik anemiler, akciğer hastalıkları, şok ve dolaşım yetmezliği, böbrek hastalıkları, akut pankreatit gibi hastalıklarda da artmaktadır (Henry, 2001).

Laktat dehidrogenaz aktivitesi vücudun hemen bütün hücrelerinde mevcuttur ve yalnız hücrenin sitoplazmasında değişmeden sabit kalır (Murray vd., 1996). Ortamda yeterli oksijen olmadığı durumlarda NADH'ı kullanarak, piruvat'ı laktata dönüştürür ve ATP oluşumunu sağlar.

İskemi ile aktive olan anaerobik glikoliz sonucunda laktat üretimi artar. Bu reaksiyonlar zincirinin son basamağı olan piruvatın laktata dönüştüğü ve LDH enziminin kontrol ettiği reaksiyon iskemi hasarı sonrası önemli bir parametredir (Nieminen vd., 1988).

Günlük laktat döngüsü 1300 mmol/24 saat olabilmektedir. Laktat karaciğerde glukoneogeneze girip metabolize edilir, hidrojen iyonları kullanılır, bikarbonat ise asidozu düzeltmede işe yarayabilmektedir. Kritik hastada bu metabolik yol bozulursa veya artan bikarbonatın renal atılımı etkilenirse (kritik hastaların bir kısmı zorunlu asidik idrar üretir) alkaloz ve hipokalemi gelişebilmektedir. Diabetes mellitusta ise şeker kontrolü kötü vakalarda laktatın glukozu dönüşümü ile glukoz düzeyi artacağından ringer laktattan kaçınılması gerekmektedir (Continuing Education in Anaesthesia, 2005).

## **2.7. Kreatin kinaz (CK) ve Kreatin kinaz-MB (CK-MB)**

Kreatin kinaz (CK), yüksek enerjili fosfatların ATP' den kreatine transferini sağlayan bir enzimdir. Kas hücrelerinde mitokondri ve sitozol içinde yer alır. M ve B zincirlerinden oluşan 3 farklı izoenzim şeklinde bulunur. CK-MM; tüm dokularda bulunan dominant formdur. CK-BB; beyin, böbrek ve gastrointestinal sistemde bulunur. CK-MB; kalp, iskelet kası ve az miktarda ince bağırsak, diyafram, uterus, dil ve prostatta bulunur (Jaffe ve Davidenko, 2003). Miyokardta yer alan total CK' ın %20'si MB formundadır. Bu da miyokard infarktüsü (MI) tanısında hassaslık ve özgüllüğe sebep olur. İskelet kasında ise %5 oranında bulunur. Bu nedenle travma ve inflamasyonlarda seviyesinin yükselmesi özgüllüğünü azaltmaktadır. CK-MB'nin bir diğer kısıtlılığı da yüksek moleküler ağırlığı

nedeniyle minor miyokard hasarını gösterememesidir. Serum CK ve CK-MB'nin plazma aktivitesi akut MI başlangıcından 4-8 saat sonra normal sınırlarını aşar. 20-24 saatte pik yapar ve 48-72 saat içerisinde normal düzeylerine ulaşır. Ancak serum enzim tayini ile kesin MI tanısı için semptomların başlamasından itibaren 6-12 saat geçmesi gerekir. Total CK ve CK-MB düzeyleri enfarktüs büyüklüğü ile koreledir ve prognozun önemli bir belirteçidir. CK-MB seruma geçtikten sonra, MB1 ve MB2 olarak ikiye ayrılır. Plazmada normalde CK alt tipleri dengededir. MI meydana geldiğinde MB2 düşük oranda seruma geçer ve daha CK ve CK-MB seviyeleri normal iken MB2/MB1 oranında bariz bir değişiklik olur. MB2/MB1 oranının  $\geq 1.5$  olması MI lehine yorumlanır (Jaffe vd., 2003).

### **2.8.İskemi modifiye albumin (İMA)**

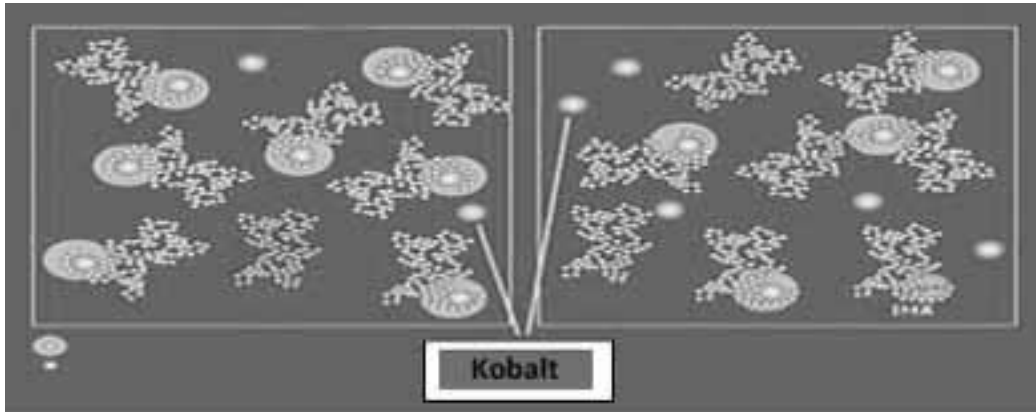
Bir oksidatif stres ürünü olan iskemi modifiye albümin (İMA); albümin yapısındaki son amino terminali, kobalt, bakır ve nikel gibi transisyon metallerinin bağlandığı bölgedir (Bar-Or vd., 2000). İskemi durumunda ortaya çıkan hipoksi, asidoz, serbest radikal hasarı ve membran bozulması gibi nedenler bu transisyon metallerinin albüminin N-terminaline bağlanmalarını azaltır. Yapısında değişiklik meydana gelmiş olan bu albümine iskemik modifiye albümin denir (McCord, 1985; Cobbe 1980; Berenshtein vd., 1997). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kardiyak iskemi belirteci olarak çalışılan İMA'nın farklı patolojilerde de artabileceği gösterilmiştir (Ma vd., 2011; Mastella vd., 2009; Mentese vd., 2013). İMA, koroner arter hastalığı tanısında son yıllarda kullanılmaya başlanılan yeni bir belirteçtir. Doksanlı yılların sonunda akut koroner sendromlu hastaların serumunda bulunan insan serum albumininin, ekzojen kobaltı (Co+2) bağlamasında azalma olduğu tespit edilmiş ve ardından İMA olarak bilinen bu metabolik varyant, 'Albumin Kobalt Bağlanma'testi ile ölçülebilir hale getirilmiştir (Bar-Or vd., 1999; Bar-Or vd., 2000). İMA bu konuda FDA onayı da almıştır. İMA, iskemide serumda 10 dakika içinde tespit edilmektedir. Bu süre miyoglobulin, CK-MB, troponin-C'nin kanda ortaya çıktığı sureye bakıldığında oldukça kısadır. İMA'nın akut koroner hadiselerde troponin ve EKG ile birlikte %95'lik bir tanısal değeri olduğu bazı çalışmalarda saptanmıştır (Dusek vd., 2006).

Günümüzde İMA'nın miyokard iskemisi, iskelet kas iskemisi mezenterik iskemi, inme ve serebrovaskuler kazalar gibi birçok durumda belirteç olarak önemi gösterilmektedir (Bhagavan vd., 2003; Sinha vd., 2004; Roy vd., 2004; Gündüz vd., 2008; Abboud vd., 2007; Refaai vd., 2006). İMA tayini, albumine kobaltın azalan bağlanma

kapasitesi, hızlı ve kolorimetrik tayin yöntemi ile değerlendirilir. Sonuçlar absorbanans ünitesi (ABSU) cinsinden rapor edilir. Önerildiği gibi 0.400 ABSU üzerindeki değerlerin düşük kobalt bağlanmasını, dolayısıyla da iskemiye gösterdiği kabul edilirken; 0.400 ABSU altındaki değerler ise iskemi olmadığı şeklinde değerlendirilir (Bar-Or vd., 2000).

### 2.8.1. Albümin-kobalt bağlanma testi

Albumin-kobalt bağlanma testi *in vitro* ortamda yapılır. Alınan serum örneğine kobalt eklenir. Eklenen kobalt normal albumine ve daha az olmak üzere İMA'ya N-terminal amino bölgesinden bağlanır. Serumdaki bağlanamayan İMA spektrofotometrik yöntemle ölçülür. Bu ölçümü yapabilmek için serbest kobaltla reaksiyona giren ve renk değişikliğine yol açan Dithiothreitol (DTT) isimli protein ortama eklenir. DTT albumine bağlanmış kobaltla reaksiyona giremez. Ortamdaki bağlanamayan serbest kobalt miktarı İMA değerini (Şekil 2.8.1) yansıtır (Bar-Or vd., 2001).



**Şekil 2.5.** Albümin kobalt bağlanma testi: İMA ölçümü. İskemik örnekte, İMA değeri artmakta. Serbest kobalt (gri alan) indirekt olarak İMA değerini yansıtmaktadır (Bar vd., 2001).

İskemik modifiye albumin, serbest radikallerce oluşan doku hasarında dakikalar içerisinde yükselmekte ve 6-12 saat yüksek kaldıktan sonra normal değerlerine dönmektedir (Alvarado, 1986; Kalan vd., 1994; Baidya vd., 2007; Soreide, 2011).

### 3.MATERYAL VE YÖNTEM

Deneysel çalışmamızda sağlıklı, erkek,  $200\pm 20$  gram ağırlığında, yaklaşık 3 aylık, *Sprague-Dawley* cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM)'nden temin edilerek Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Laboratuvarı'nda normal musluk suyu ve pellet yemle standart bir çevre yaşamında beslendi.

Bu çalışma ESOĞÜ Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 27.02.2013 tarihli ve 320/2013 notu kararı ile kabul edilmiş ve ESOĞÜ Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında (proje kodu: 2014-254) desteklenmiştir.

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

Hassas Terazı	: Super Scale-Sadaver, Türkiye
Etüv	: EN 120, nüve incubator, Türkiye
Santrifüj Cihazı	: NF 400R, Türkiye
Karıştırıcı (Vortex)	: Dragon Lab MX-S(F), Çin
Kan Sayım Cihazı	: MS 4S, Fransa
İstatistik Programı	: SPSS 21.0, Amerika

## **3.2. Yöntemlerin Uygulanması**

### **3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması**

Tüm deney hayvanlarının enjeksiyondan önce bir hafta süre ile ortam koşullarına adaptasyonu sağlanmıştır. Deney süresince 12:12 aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı ( $22\pm 2$  C°) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı.

Sıçanlar tablo 3.2.1.1.'de gösterildiği gibi her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol dahil 6 gruba ayrıldı.

Deney bittiğinde, tüm sıçanların etik kurallarına uygun olarak, ketamin/ksilazin anestezisi altında toraksı açılıp yüreğe enjektörle girilerek kalp kanı yapılacak işleme göre, normal ve EDTA'lı tüplere alındı.

### **3.2.2. Siklofosamid ve selenyum uygulaması**

Se ve CP ticari olarak temin edildi. Bu maddelerden, CP'nin 500 mg'ı 25 mL bidistile suda çözülerek enjeksiyona hazır duruma getirildi. Kimyasal madde enjeksiyonları, çözeltilerin taze olarak hazırlanmasından sonra, steril tek kullanımlık enjektörler ile intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları 0.5 mL serum fizyolojikte (SF) eritilerek çözelti hazırlanarak i.p. olarak uygulandı.

Bütün hayvanlar ilk enjeksiyondan ve otopsileri yapılmadan önce tartılarak ağırlıkları saptandı ve böylece uygulanacak ilaç dozları belirlendi.

Sadece CP verilen 2. gruptaki hayvanlar CP enjeksiyonundan 1 gün sonra anestezi edildi. CP ile birlikte Se verilen gruplarda Se uygulamasına CP uygulamasından 5 gün önce başlanacak ve deney süresince devam edildi.

6. gün hayvanlar tekrar tartılarak uygulanacak CP dozu belirlendi ve böylece 6. gün CP+Se verildi. Yedinci gün hayvanlar anestezi edilerek periferik kan ve karaciğerleri alındı (Ayhanci vd., 2009).



### 3.3. Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ketamin/ksilazin ile anestezi edilmiş hayvanlardan intrakardiyak kan alımı yapılmıştır. Alınan kan örnekleri 10 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek ve serumlar elde edilmiştir (Theocharis vd., 2001). Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C derin dondurucuda korunmuştur.

Kalp dokusu hücrelerinin olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde laktat dehidrogenaz (LDH), kreatin kinaz-MB (CK-MB), iskemi modifiye albumin (İMA) enzimlerinin seviyeleri belirlenmiştir.

#### 3.3.1. Serum kreatinkinaz-mb düzeyinin belirlenmesi

Kan örnekleri sıçanların kalplerinden antikoagulan içermeyen bir tüpe 2ml kan ve heparinli bir tüpe 4ml kan olacak şekilde alındı. Antikoagulan içermeyen tüpe alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve serum örnekleri -70°C'de saklandı. Serum örneklerinde CK-MB düzeyleri çalışıldı. Heparinli tüpe alınan kan örnekleri 0°C'de 15 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve plazma örnekleri çalışılmak üzere -70°C'de saklandı. Serum CKMB düzeyi, Konelab 60İ otoanalizör ile Medkim firmasının CKMB düzeyleri ölçümü için ürettiği reagent kitler kullanılarak 0.5 ml serumda çalışıldı. Sonuçlar *U/L* cinsinden verildi (Wu ve Bowers, 1982).

#### 3.3.2. Serum laktat dehidrogenaz düzeyinin belirlenmesi

Organotipik hipokampal kesit kültürleri lumikolşisin ve kolşisin ile uyarıldıktan sonra elde edilen kültür medyumlarında LDH aktivitesi ölçüldü. Kolşisin grubunun LDH düzeyi ( $89.3 \pm 23.3$  U/mL) ile lumikolşisin grubunun LDH düzeyi ( $56.2 \pm 13.4$  U/mL) arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptandı ( $p < 0,01$ ).

#### 3.3.3. Serum iskemi modifiye albumin düzeyinin belirlenmesi

İMA düzeyi (Bar-Or vd., 2000) kalorimetrik metoduyla analiz edildi. hasta serumun 200 µL'si cam tüplere yerleştirildi ve sudaki 0.1 CoCl<sub>2</sub> 50 µL'si eklendi. Hafif bir

çalkalamadan sonra, solüsyon 10 dakika bırakıldı. yeterli kobalt albumin bağlama sağlamak için renklendirici etken olarak 50 µL DTT mikrolitre eklendi ve reaksiyon %0.9 NaCl 0.1 mikrolitresi eklenerek 2 dakika sonra sulandırıldı. Operasyon öncesi ve operasyon sonrası serum örnekleri için kalorimetrik kontrol hazırlandı. Kalorimetrik kontrol örnekleri için, 1.5 mg DTT'nin 50µL için damıtılmış suyun 50 µL'si yedeklendi.

Absorbe örnekleri bir spektrometre yardımıyla 470 nm'de analiz edildi. DTT içeren örneklerin rengi, kalorimetrik kontrol tüpleriyle karşılaştırıldı. Sonuçlar, absorbance units (ABSUs) olarak rapor edildi.

### **3.4. Histolojik Değerlendirmeler**

Otopsileri yapılan sıçanların karaciğerleri dikkatli bir şekilde kesilip alındı, serum fizyolojik ile temizlendi. Daha sonra, %10'luk formalin bulunan renkli şişelere konuldu. Organlar alındıktan üç saat sonra fiksatifleri yeniden değiştirilerek daha iyi fikse edilmeleri sağlandı. Rutin histolojik doku takibinden sonra parafin blokları hazırlanan dokulardan 5-6 mikronluk kesitler alınarak hematoksilin-eosin boyası ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendikten sonra Olympus marka DP70 kamera ile fotoğrafları çekildi.

### **3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler**

Tüm veri analizleri SPSS 21.0 ve SigmaStat 3.5 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, nitel veriler ise n, ortanca değer, 25'inci ve 75'inci yüzdelerik değerler olarak ifade edilmiştir. Bağımsız ölçümlerden oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli veriler, One Way Anova (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey ve Student Newman Keuls yöntemlerinden yararlanılmıştır) testi ile, normal dağılım göstermeyen skor değişkenlerinden oluşan veriler ise Kruskal-Wallis (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey ve Student Newman Keuls yöntemlerinden yararlanılmıştır) testi ile analiz edilmiştir.

Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar,  $p < 0,05$  olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4.BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1.Biyokimyasal Bulgular

150 mg/kg CP uygulanan deney gruplarının ve serum fizyolojik (sf) verilen kontrol gruplarının İMA, CK-MB, LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.1.1'de gösterilmiştir.

150 mg/kg CP uygulanan deney grubunda İMA, CK-MB, LDH seviyeleri kontrole göre sırasıyla %27, %58 ve %73 oranlarında artmıştır ( $p<0,05$ ).

**150 + 0.5** mg/kg CP+Se uygulanan deney grubunun ve serum fizyolojik verilen kontrol gruplarının ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1'de de görüldüğü gibi, 150 + 0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki İMA, CK-MB ve LDH düzeyleri kontrol grubuna göre sırasıyla %12 ,%18 ve %51 oranlarında artmıştır ( $p<0,05$ ).

150 + 1 mg/kg CP+Se uygulanan deney grubunun ve sf verilen kontrol gruplarının İMA, CK-MB ve LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.1.1 gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1 görüldüğü gibi, 150 + 1 mg/kg CP + Se verilen deney grubundaki İMA, CK-MB ve LDH düzeyleri kontrol grubuna göre sırasıyla %13 oranında azalırken ( $p<0,05$ ), CK-MB %7 oranında artmıştır ( $p<0,05$ ). LDH düzeyinde önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4.1.** 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ile kontrol gruplarının İMA, CK-MB ve LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

<b>GRUPLAR</b> (n=7)	<b>İMA</b> (U/l)	<b>P</b>	<b>CK-MB</b> (U/L)	<b>p</b>	<b>LDH</b> (U/L)	<b>p</b>
<b>KONTROL</b>	0,7460±0,05		293,21±8,27		517,71±44,44	
<b>II. GRUP</b> <b>150 mg/kg CP</b>	0,9494±0,05	*	463,56±12,20	*	895,86±102,01	*
<b>KONTROL</b>	0,7460±0,05		293,21±8,27		517,71±44,44	
<b>V. GRUP</b> <b>150+0.5 mg/kg CP+Se</b>	0,8334±0,04	*	347,07±13,63	*	786,71±52,90	*
<b>KONTROL</b>	0,7460±0,05		293,21±8,27		517,71±44,44	
<b>VI. GRUP</b> <b>150+1 mg/kg CP+Se</b>	0,6513±0,06	*	315,82±6,30	*	583,29±52,59	0

0 :  $p > 0.05$ , fark yok \* :  $p < 0.05$ , fark var ± : ortalama değer / standart sapma

0.5 mg/kg Se, 1 mg/kg Se ve kontrol grupları arasında IMA, CK-MB ve LDH değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo 4.1.2.)

**Tablo 4.1.** 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile bunların kontrol gruplarının IMA, CK-MB ve LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

<b>GRUPLAR</b> (n=7)	<b>IMA</b> (U/L)	<i>P</i>	<b>CK-MB</b> (U/L)	<i>P</i>	<b>LDH</b> (U/L)	<i>P</i>
<b>KONTROL</b>	0,7460±0,05	0	293,21±8,27	0	517,71±44,44	0
<b>III. GRUP</b> 0.5 mg/kg Se	0,8126±0,05		293,47±10,24		562,00±58,43	
<b>KONTROL</b>	0,7460±0,05	0	293,21±8,27	0	517,71±44,44	0
<b>IV. GRUP</b> 1 mg/kg Se	0,8061±0,06		296,91±10,46		601,86±38,04	

0 :  $p > 0.05$ , fark yok

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 150+0.5 CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+0.5 CP+Se verilen deney grubundaki İMA, CK-MB ve LDH seviyeleri 150 mg/kg CP uygulanan gruba göre sırasıyla %13, %33, %13 oranlarında azalmıştır ( $p<0,05$ ).

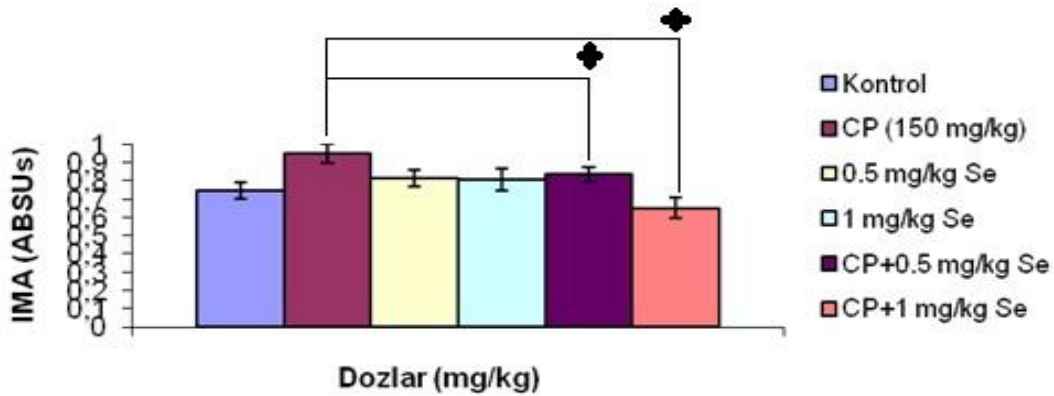
150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 150+1 CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki İMA, CK-MB ve LDH seviyeleri 150 mg/kg CP uygulanan gruba göre sırasıyla %44,%46,%53 oranlarında azalmıştır ( $p<0,05$ ).

150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ile 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubundaki İMA, CK-MB ve LDH değerleri 150+0.5 mg/kg CP+Se uygulanan gruba göre sırasıyla %27, %9 ve %34 oranında azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Bütün deney grupları İMA, CK-MB ve LDH değerleri bakımından karşılaştırılmış; İMA, CK-MB, LDH değerleri ayrıca grafiksel olarak da gösterilmiştir.

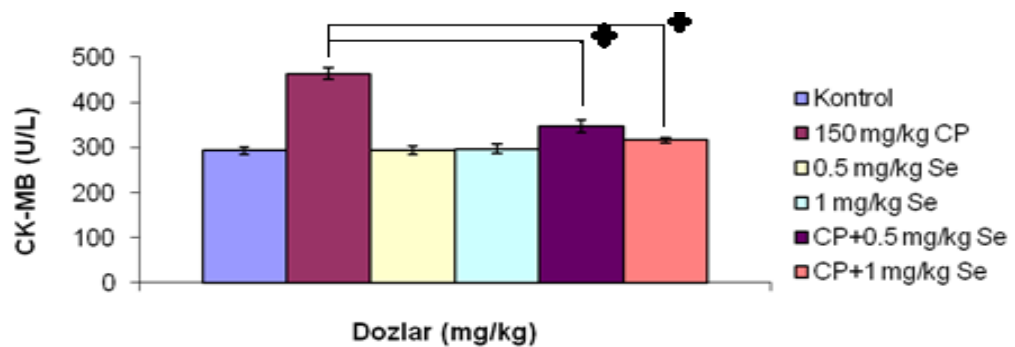


Şekil 4.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun İMA seviyeleri.

Şekil 4.1.1.'de de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları İMA bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). Bu deney gruplarının hepsi kontrol grubuna göre İMA düzeyi bakımından farklı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları İMA seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. CP ile beraber 1 mg/kg Se verilen grup kontrolle kıyaslandığında çok daha etkili bir sonuç alınmıştır. 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında İMA düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları İMA değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). 0.5 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu arasında İMA düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli fark bulunmazken ( $p>0,05$ ), 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubu İMA değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ).

1 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları İMA değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında 150+1 mg/kg CP+Se grubu ile istatistiksel açıdan ileri derecede önemli bir fark gösterirken, 150+0.5 mg/kg CP+Se deney grubu arasında İMA düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır.

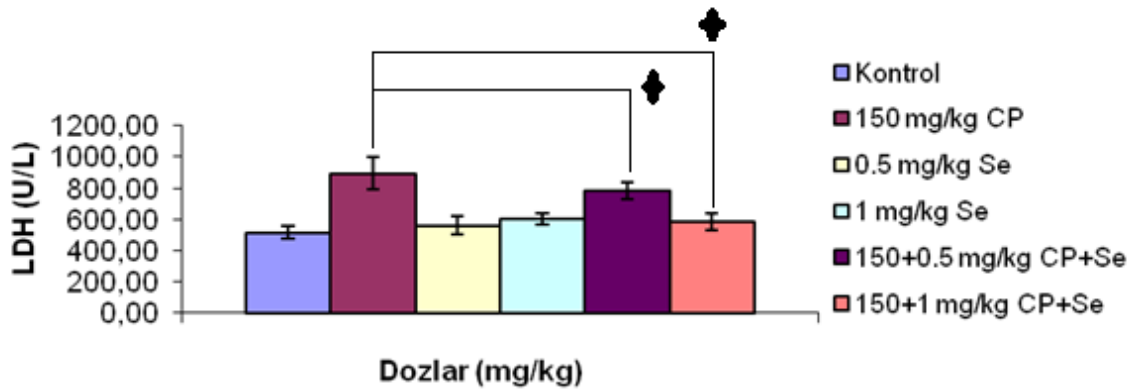


Şekil 4.1. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun CK-MB seviyeleri.

Şekil 4.1.2’de de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları CK-MB bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se’un 0.5 ve 1 mg/kg’lık dozları CK-MB seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. CP ile beraber 1 mg/kg Se verilen grup kontrolle kıyaslandığında çok daha etkili bir sonuç alınmıştır. 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında CK-MB düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları CK-MB değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). 0.5 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları arasında CK-MB düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ).

1 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları CK-MB değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ).



Şekil 4. 2. 150 mg/kg CP verilen deney grupları, 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları ve kontrol grubunun LDH seviyeleri.

Şekil 4.1.3’de de görüldüğü gibi 150 mg/kg CP verilen deney grubu, 150+0.5 ve 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grupları LDH bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). 150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se’un 0.5 ve 1 mg/kg’lık dozları LDH seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırmıştır.

0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları ile kontrol grubu arasında LDH düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 0.5 ve 1 mg/kg Se verilen deney grupları LDH değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark göstermişlerdir ( $p<0,05$ ). 0.5 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se deney grubu arasında LDH düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunurken ( $p<0,05$ ), 150+1 mg/kg CP+Se deney grubu arasında LDH düzeyi bakımından istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

1 mg/kg Se verilen deney grubu ile 150+0.5 mg/kg CP+Se verilen deney grubu LDH değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark gösterirken ( $p<0,05$ ), 150+1 mg/kg CP+Se verilen deney grubu ile karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

150 mg/kg CP ile birlikte verilen Se'un 0.5 ve 1 mg/kg'lık dozları LDH düzeyi bakımından kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

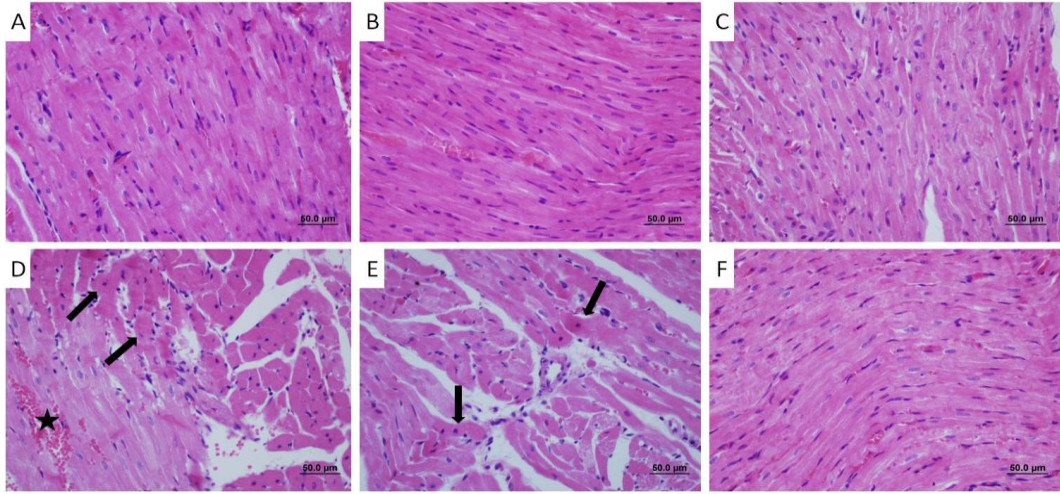
Şekil 4.1.3.'de görüldüğü gibi, CP nedenli toksisite Se'un 0.5 mg/kg'lık dozunda önemli bir değişiklik gözlenmezken 1 mg/kg'lık dozu LDH seviyesini kontrole yaklaştırmıştır.

## 4.2. Histolojik Bulgular

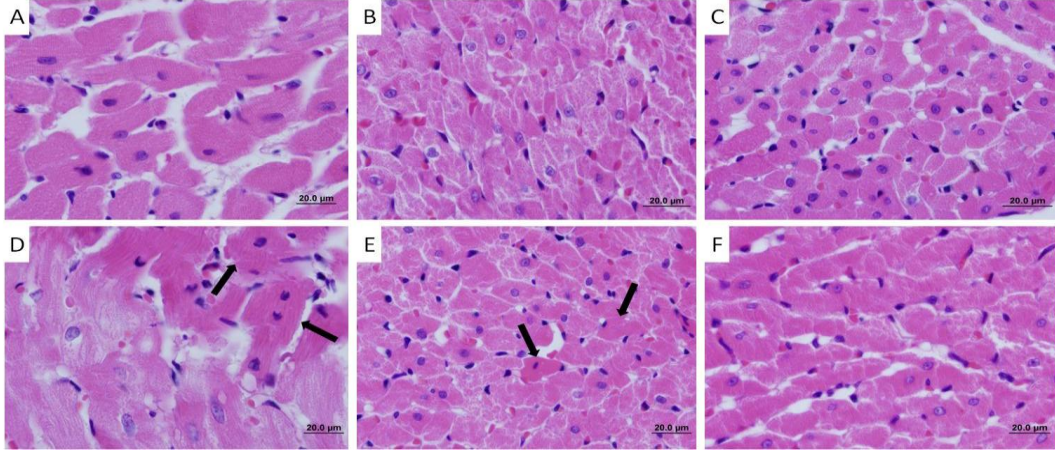
Bu çalışmada histolojik incelemesi yapılan kalp dokularının boyuna kesitleri **Şekil 1**'de, enine kesitleri ise **Şekil 2**'de gösterilmiştir. Histolojik inceleme sonuçlarına göre; kontrol grubu, 0,5 mg/kg dozunda veya 1 mg/kg dozunda Se verilen grupların kalp dokularında histolojik görünüm normal olarak saptandı. Boyuna kesitte kalp kası hücrelerinin enine çizgilenme gösterdiği, tek olan çekirdeklerinin ovoid biçimli ve ökromatik olduğu, açık boyanan çekirdeklerde çekirdekçiklerin görüldüğü belirlendi. Tek başına CP verilen gruba ait ratlarda bölgesel olarak kalp kası hücrelerinde eozinofili artışı, hücrelerde şişme ve çekirdeklerinde kromatin yoğunlaşması nedeniyle koyu boyanma ve küçülme, çekirdek sınırlarında ise düzensizlik saptandı. Ayrıca, küçük kanama odakları ve ödem nedeniyle kalp kası hücrelerinin birbirinden uzaklaştıkları görüldü. CP ile birlikte 0,5 mg/kg dozunda selenyum verilen grupta tek başına CP verilen gruba kıyasla kalp histolojisindeki değişikliklerin azaldığı, ancak 0,5 mg/kg dozunda se eklenmesinin CP'nin

neden olduğu bozuklukları yeterince önleyemediği görüldü. CP ile birlikte 1 mg/kg dozunda selenyum eklenen gruba ait kalplerde yapılan mikroskopik incelemede ise bazı küçük bölgesel değişikliklere karşın histolojik yapının daha iyi korunduğu saptandı. Genel olarak, CP verilen gruplar kıyaslandığında hiç birinde belirgin iltihabi hücre artışı görülmedi. Ancak, tek başına CP verilen ve CP ile birlikte 0,5 mg/kg dozunda se verilen gruplarda iltihabi hücrelere daha sık rastlandı.

Sonuç olarak, CP verilmesinin ratların kalplerinde bazı histolojik bozukluklara yol açtığı, 0,5 mg/kg Se eklenmesinin CP kaynaklı hasarı yeterince önleyemediği, 1 mg/kg Se eklenmesinin ise CP kaynaklı kalp hasarını önlemede daha etkili olduğu sonucuna varıldı



**Şekil 4.4.** Tüm deney gruplarına ait kalplerden boyuna alınmış kesitler, H+E. **A:** Sadece serum fizyolojik verilen grupta, **B:** Sadece 0,5 mg/kg Se verilen grupta, **C:** Sadece 1 mg/kg Se verilen grupta normal histolojiye sahip kalp kesitleri izlenmektedir. **D:** Sadece 150 CP verilen grupta küçük bir kanama alanı (*yıldız*) ve birbirinden ödem nedeniyle ayrılmış sitoplazmaları koyu eozinofilik boyanmış, çekirdekleri yoğunlaşmış ve koyu bazofilik boyanmış anormal kalp kası hücreleri (*oklar*), **E:** CP'nin yanında 0,5 mg/kg Se verilen grupta anormal kalp kası hücrelerinin (*oklar*) ve ödemin varlığını sürdürdüğü, **F:** CP'nin yanında 1 mg/kg Se verilen grupta kalbin normal histolojik yapıya sahip olduğu görülmektedir.



**Şekil 4.5.** Tüm deney gruplarına ait kalplerden enine alınmış kesitler, H+E. **A:** Sadece serum fizyolojik verilen grupta, **B:** Sadece 0,5 mg/kg Se verilen grupta, **C:** Sadece 1 mg/kg Se verilen grupta normal histolojiye sahip kalp kesitleri izlenmektedir. **D:** Sadece 150 mg/kg CP verilen grupta koyu eozinofilik boyanmış sitoplazmaları ve koyu bazofilik boyanmış, yoğunlaşmış küçülmüş çekirdekleri ile anormal kalp kası hücreleri (*oklar*), **E:** CP'nin yanında 0,5 mg/kg Se verilen grupta anormal kalp kası hücrelerinin (*oklar*) varlığını sürdürdüğü, **F:** CP'nin yanında 1 mg/kg Se verilen grupta kalbin normal histolojik yapıya sahip olduğu görülmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kanser günümüzde en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Bu yüzden kanser oluşumunun önlenmesi, üzerinde en çok çalışılan konulardan biri haline almıştır (Kumar and Cotran, 1995). İnsan tümörlerinin antikanser ilaçlara gösterdikleri direncin üstesinden gelebilmek için tümörlü hastalara yoğun bir kemoterapi uygulanmalıdır. Bunun için özellikle Siklofosamid (CP) gibi yüksek doz alkilleyici ajanların kullanılması gerekmektedir (Cavalletti vd., 1986).

CP'nin toksik etkisinin aktif metaboliti olan ACR ile ilgili olduğu sanılmaktadır. ACR doku AO savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest radikal oluşumuna yol açmaktadır (Kawabata vd., 1990; Masuda vd., 2006). Oksidatif stres SOR miktarındaki artışla seyreden bir durumdur ve bu artış zarlarda lipit peroksidasyonuna neden olmaktadır (Virag vd., 2003). SOR'ların inflamatuvar süreç içerisinde aşırı üretimi oksidatif strese neden olur ve bu da hücre ve DNA hasarlanması, protein denatürasyonu ve zar lipitlerinin peroksidasyonunu da içeren mekanizmalar yoluyla nekroza yol açmaktadır (Ribeiro vd., 1998). Memeli kalp dokusu hücrelerinde yapılan bir çalışmada CP terapisi boyunca SOR'un aşırı üretiminin lipit peroksidasyonu yaptığı ve oluşan membran hasarının miyokardiyal membranın bütünlüğünü bozduğu ve disfonksiyona neden olduğu rapor edilmiştir (Janero vd., 1991).

CP'nin antitümoral etkinliği, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlıdır (Osborne vd., 1987). Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının yaşam sürelerinin uzaması ilaçların yan etkilerini de artırmaktadır (Kumar ve Kuttan, 2004). ACR kaynaklı oluşan SOR'lar; enzim, reseptör ve iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek onların işlevlerini bozarlar (Senthilkumar vd., 2006). Yapılan bir çok çalışmada CP' nin özellikle yüksek doz (120-200 mg/kg) kullanımından sonra kardiyak etkiler bildirilmiştir (Floyd vd., 2005; Slordal ve Spigset, 2006).

Weinstein vd., (2000) farelerle yaptıkları bir çalışmada kalp dokusunda kemoterapiye bağlı oksidatif hasarın olduğunu ve kalp dokusunda proteine bağlı peroksinitrit radikallerinde artış saptadıklarını bildirmişlerdir. Yine birçok araştırmada (Yahalom ve Portlock, 2008; Özkocaman, 2010) antikanser tedavinin potansiyel bir komplikasyonunun kardiyovasküler toksisite olabileceği ve akut kardiyomiyopatinin yüksek doz CP ile oluşabileceği rapor edilmiştir.

Birçok çalışmada CP kardiyotoksitesinin lipid peroksidasyonu ve oksidatif strese katkıda bulunabileceği (Todorova vd., 2009; Fatani vd., 2010) ve artan oksidatif stres belirleyicilerinin, azalmış enzimatik ve non-enzimatik AO'ların kanser oluşumunu artırabileceği rapor edilmiştir (Gupta vd., 2009; Fisher-Wellman vd., 2009). Miyokardiyal doku, kendisini oksidatif zarardan koruyan AO enzimlere sahiptir. Ancak Selvakumar ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada CP verilen sıçan miyositlerinde SOR'ların AO enzimlerin inaktivasyonuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yine Machida vd., (2003) murin miyokardiyumunda yaptıkları bir çalışmada CP (200 mg/kg) nedeniyle akut kardiyotoksiteyi SOR artışına ve azalan AO savunma mekanizmasına bağlamışlardır.

Bu bilgiler ışığında yaptığımız deneysel çalışmada CP nedeniyle kalp dokusu hasarının önlenmesinde Se'un muhtemel koruyucu etkisi serum kreatin kinaz-MB (CK-MB), laktat dehidrogenaz (LDH) ve İskemi modifiye albumin (IMA) bakımından biyokimyasal ve histolojik olarak incelenmiştir. Deneysel modellerde genellikle CP'nin 100 ve 150 mg/kg'lık dozları kullanılmakta ve hayvanlar CP enjeksiyonundan 6-72 saat sonra sakrifiye edilmektedir (Ayhancı vd., 2010; Abraham ve Isaac, 2011). Bizim çalışmamızda ise CP'nin 150 mg/kg'lık dozu kullanılarak hayvanlar CP uygulamasından 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir.

Deneysel çalışmamızın histolojik bulgularında, tek başına CP verilen gruba ait ratlarda bölgesel olarak kalp kası hücrelerinde eozinofili artışı, hücrelerde şişme ve çekirdeklerinde kromatin yoğunlaşması nedeniyle koyu boyanma ve küçülme, çekirdek sınırlarında ise düzensizlik saptandı. Ayrıca, küçük kanama odakları ve ödem nedeniyle kalp kası hücrelerinin birbirinden uzaklaştıkları görüldü. Tarek vd., (2010)'nın CP (200 mg/kg) verilen sıçanlarda yaptıkları çalışmanın histolojik bulguları; miyokardta hemorajik odaklar, miyokardiyal liflerde bozulma ve hiyalinleşme olduğunu gösterilmiştir. Çalışmamızın histolojik bulguları araştırmacılar tarafından ileri sürülen bulgularla uyumludur.

Jan (2011)'ın yaptığı klinik çalışmada kemoterapi sonucu CK-MB'nin arttığı ve bu artışın kardiyak hasarın belirleyicisi olduğunun bildirilmesi deneysel çalışmamızla uyumludur. Yine sıçanlarda yapılan deneysel bir çalışmada yüksek doz CP (200 mg/kg) verilen sıçanların kalp dokusunda oksidatif stres yanında CK-MB'nin arttığı ve miyokardiyal disfonksiyonun olduğu gösterilmiştir (Yousif, 2010). Çalışmamızda CK-MB,

LDH ve IMA düzeylerinin CP verilen deney grubunda oldukça arttığı saptanmıştır. CP uygulanan deney grubunda CK-MB %58, LDH %73 ve IMA % 27 oranlarında artmıştır. Bu durum kalp dokusunun yapısal bütünlüğünün önemli oranda bozulduğunu göstermektedir. CP'ye bağlı olarak serum enzim düzeylerinin yükselmesi kalp dokusunda oluşan CP nedenli oksidatif hasarın göstergesi olabilir.

Son yıllarda iskemi durumlarında serum albumin yapısında değişikliklerin oluştuğunun belirlenmesi, yeni bir serum kardiyak iskemi belirtecinin bulunmasına olanak sağlamıştır. Albuminin yapısındaki son aminoasit terminalinin, ağır metalleri (bakır, nikel, kobalt) bağlama kapasitesi vardır. İskemi durumunda ortaya çıkan hipoksi, asidoz, serbest radikal hasarı gibi nedenler, bu metallerin albuminin N-terminaline bağlanmalarını azaltır. Yapısında değişiklik meydana gelmiş olan, bu albumine “iskemi modifiye albumin” (IMA) denilmektedir. Bu protein düzeyine iskemik kalp hastalıkları, derin ven trombozu, pulmoner emboli, mezenter iskemisi, serebrovasküler olaylar gibi değişik hastalıklarda bakılmış ve normal seviyenin üzerinde bulunmuştur (Christenson vd., 2001; Bhagavan vd, 2003). Kardiyak biyokimyasal markerler olan CK-MB, troponin veya miyogloblin daha çok hücrel nekroz göstergeleridir, fakat miyokardial iskemi göstergesi değildirler. İskemi modifiye albumin son yıllarda kardiyak iskemi belirteci olarak değerlendirilen ve sürekli üzerinde araştırmalar yapılan bir moleküldür ve IMA akut koroner sendromlarında, miyokardiyal iskemi tanısında acil servislerde kullanılabilirliği konusunda Food and Drug Administration (FDA) lisansı almıştır (Pollack vd., 2003; Collinson vd., 2003). İMA seviyesinin miyokard iskemisinden sonra dakikalar içinde yükseldiği ve 4-6 saatte normal düzeyine indiği bilinmektedir (Bar-Or vd., 2000).

Se bazı metabolik hastalıkların ve kanser türlerinin önlenmesinde rol oynayan antioksidan GPx enziminin yapısında bulunur. Se'un biyolojik önemi GPx'in kofaktörü olmasından kaynaklanmaktadır. Her alt ünitesinde selenosistein şeklinde bir adet Se atomu içeren GPx, hücre içinde hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) suya indirgenmesinde rol oynamaktadır. Se, E vitamini ile etkileşerek lipid metabolizması sonucu oluşan peroksitlerin neden olduğu oksidatif hasarlardan hücre membranını korumaktadır (Gebre-Medhin vd., 1984). Çin'de yaygın olarak görülen bir juvenil kardiyomyopati hastalığı pek çok çocuğun ölümüne sebep olmuş ancak haftada 0,5-1 mg Se uygulanmasıyla tamamen tedavi edilmiştir (Combs ve Combs, 1984).

Kardiyovasküler hastalığın etiolojisinde Se'un önemi araştırmaların 20 yıldan daha fazla sürmesine rağmen halen tam olarak anlaşılamamıştır. Düşük Se alımı ile koroner arter hastalığı (KAH) riskinin artması arasındaki bağlantı üzerine kanıtlar zayıftır. Bununla beraber marjinal Se eksikliği kolaylıkla görülebilir (Alissa vd., 2003). Çeşitli çalışmalarda akut miyokard infarktüsü (AMI), kronik iskemik kalp hastalığı (İKH), konjestif kalp yetersizliği, kardiyomyopati, hipertansiyon, gibi hastalıklarda serum veya plazma Se konsantrasyonlarında anlamlı azalma gösterilmiştir. Se eksikliği bu nedenle iskemi sonrası reperfüzyon hasarıyla bunu takiben AMI, koroner bypass ameliyatı, kalp nakli ve koroner anjiyoplasti ihtiyacında artışa neden olabilmektedir (Lavender ve Burk., 1994; Toufektsian vd., 2000). Başka bir çalışmada Se ilavesinin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kardiyoprotektif olabileceği gösterilmiştir (Allan vd., 1999).

Bulgularımız Se'un kalp dokusunu koruyabileceği konusundaki düşüncelerimizi desteklemektedir. Çalışmamızda CP metabolitleri tarafından kalp dokusunda hasarların oluşması ve patolojik değişiklikler serum enzim düzeylerinin yükselmesiyle uyumludur. CP ile birlikte uyguladığımız Se'un her iki dozunda da bu doku hasarı ve nekroz gibi anormal patolojik bulguların azalması kalp dokusunun oksidatif hasara karşı korunduğu anlamına gelmektedir.

Çalışmamızın bulguları CP nedenli doku hasarı, AO ve membranı stabilize edici özellikleri olan Se ile korunabileceğini ve kemoterapide tedavi etkinliği kadar tedavi ilişkili yan etkilerin bilinmesi ve izlenmesinin de önem taşıdığını göstermiştir. Sonuçlarımız literatür bildirimleriyle uygunluk göstermekle birlikte bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiğine inanıyoruz.

## 6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abboud H, Labreuche J, Meseguer E, Lavallee PC, Simon O, Olivot JM, vd., 2007. Ischemia-modified albumin in acute stroke. *Cerebrovasc Dis*, 23(2-3):216-20.
- Abraham P and Isaac B., 2011. Ultrastructural Changes in the Rat Kidney After Single Dose of Cyclophosphamide-Possible Roles for Peroxisome Proliferation and Lysosomal Dysfunction in Cyclophosphamide-Induced Renal Damage. *Hum Exp Toxicol*, 30:1924.
- Akçasu A, Banoğlu N, Berkarda Ş., 1992. Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. Nobel Tıp Kitabevi, S: 822.
- Akkuş İ, Şekeroğlu MR, Üner A, Aköz M, Kurt E., 1991. Selenyum: Dağılışı, metabolizması, fizyopatolojisi. S.Ü. Tıp Fak Dergisi, S: 4: 547-51
- Alarcon, J.P.D., Alarcon, M.N., Serrana, L.G. and Martinez, M.C.L., 1996. Determination of selenium in cereals, legumes and dry fruits from southeastern Spain for calculation of daily dietary intake. *The Sci. of the Total Environ*, 184, 183-189.
- Alissa E.M., Bahijri S.M., Ferns G.A., 2003. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Med Sci Monit*, 9, 9-18
- Allan C., Lacourciere G., Stadtman T., 1999. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Ann Rev Nutr*, 19, 1-16
- Alvarado A. A practical score for the early diagnosis of acute appendicitis., 1986. *Ann Emerg Med*, 15(5):557-64.
- ARGE., 2010. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar.
- Aydın, K., 1997. Bir Endemik Guatr Bölgesindeki İlkokul Çocuklarında İyot ve Selenyum Düzeylerinin Tiroid Volümü, Tiroid Fonksiyonları, Fizik ve Zeka Gelişimi Üzerine Etkisi. *Erciyes Ünv. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı (Uzmanlık Tezi)*. 87 sayfa, Kayseri.
- Ayhanci A, Gunes S, Sahinturk V, Appak S, Uyar R, Cengiz M, Altuner Y, Yaman S., 2010. Seleno L-Methionine Acts on Cyclophosphamide-Induced Kidney Toxicity. *Biol Trace Elem Res*, 136:171–179. DOI 10.1007/s12011-009-8535-2.
- Ayhanci A, Yaman S, Appak S, and Gunes S., 2009. Hematoprotective Effect of Seleno-L-Methionine on Cyclophosphamide Toxicity in Rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 32(4): 424-428.
- Ayhanci, A., Uyar, R., Aral, E., Kabadere, S., Apak, S., 2008. Protective Effect of Zinc on Cyclophosphamide-Induced Hematotoxicity and Urotoxicity, *Biol Trace Elem Research* DOI 10.1007/s 12011-008-8189-5.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Baidya N, Rodrigues G, Rao A, Khan SA., 2007. Evaluation of Alvarado score in acute appendicitis: a prospective study. *Internet J Surg*:9(1). doi: 10.5580/1dde.
- Banham S, Dorward A, Hutcheon A, Ahmedzai S., 1985. The Role of VP-16 in the Treatment of Small-Cell Lung Cancer Group. *Seminars in Oncology*, 1 (2): 2-6.
- Barceloux, D.G., 1999. Selenium. *J. Toxicol. Clinical Toxicol*, 37(2), 145-172
- Bar-Or D, Lau E, Rao N, Bampos N, Winkler JV, CurtisCG., 2007. Reduction in the cobalt binding capacity of human albumin with myocardial ischemia. *Ann Emerg Med*, 34(4 Suppl):56.
- Bar-Or D, Lau E, Winkler JV., 1999. A novel assay for cobalt- albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia- a preliminary report. *J Emerg Med*, 19: 311-315.
- Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuyzen K, Harris L, Lau E, Hetzel FW., 2007. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: a preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*, 141(6):985-91.
- Baysal, A., 1996. *Beslenme*. Hatiboğlu
- Berenshtein E, Mayer B, Goldberg C, vd., 1997. Patterns of mobilization of copper and iron following myocardial ischemia: possible predictive criteria for tissue injury. *J Mol Cell Cardiol*, 29:3025-34.
- Berger, M. M., 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2), 172-183.
- Berk, M., Ng, F., Dean. O., Dodd, S., Bush, A. I., 2008. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends in Pharmacological Science*, 29(7), 346-351.
- Bhagavan NV, Lai EM, Rios P, Yang J, Ortega-Lopez AM, Shinoda H, vd., 2003. Evaluation of human serum albumin cobalt binding assay for the assessment of myocardial ischemia and myocardial infarction. *Clin Chem*, 49(4):581-5.
- Bhuvarahamurthy, V. Balasubramanian, N., Govindasamy, S., 1996. Effect of radiotherapy and chemoradiotherapy on circulating antioxidant system of human uterine cervical carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 158(1), 17-23.
- Block, K. I., Koch, A. C., Mead, M. N., Tothy, P. K., Newman, R. A., Gyllenhaal, C., 2007. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: Asystematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 407-418.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Blum J, Fridovich I., 1985. Inactivation of Glutathione Peroxide by Superoxide Radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 240 (2): 500-508.
- Blumenthal, R. D., Lew, W., Reising, A., Soyne, D., Osorio, L., Ying, Z., Goldenberg, D. M., 2000. Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *International Journal of Cancer*, 86(2), 276-280.
- Bokser L, Szende B, Schally AV., 1990. Protective Effects of D-Trp-luteinising Hormone-Releasing in Female Microcapsules Against Cyclophosphamide-Induced Gonadotoxicity in Female Rats. *Br. J. Cancer*, 61: 861-865.
- Borek, C., 2004. Dietary Antioxidants and Human Cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 3(4), 333-341.
- Bramwell VCH, Mourisden HI, Santaro A., 1987. Cyclophosphamide versus Ifosfamide: Final Report of a Randomized Phase 2 Trial in Adult Soft Tissue Sarcomas. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 23 (3): 311-321.
- Brea-Calvo, G., Rodríguez-Hernández, A., Fernández-Ayala, D. J., Navas, P., Sánchez-Alcázar, J. A., 2006. Chemotherapy induces an increase in coenzyme Q10 levels in cancer cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(8), 1293-1302.
- Brown KM, Arthur JR., 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr*, 4:593-9.
- Budavari S., 1987. *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*, The Merck Index. Eleventh Edition Centennial Edition, 1563: 429- 430.
- Burk RF., 1990. Protection Against Free Radical Injury by Selenoenzymes. *Pharmac. Ther.*, 45: 383-385.
- Byers T, Perry G., 1992. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr.*; 12: 139–159.
- Calabresi P, Welch AD., 1962. Chemotherapy of Neoplastic Diseases. *Annu. Rev. Med.*, 13; 147-202.
- Cavalletti, E., Tofanetti, O., Zunino, F., 1986. Comparison of Reduced Glutathione with 2-Mercaptoethane Sulfonate to Prevent Cyclophosphamide Induced Urotoxicity, *Cancer letters*, 32: 1–6.
- Christenson RH, Duh SH, Sanhai WR, Wu AH, Holtman V, Painter P, vd., 2001. Characteristics of an Albumin Cobalt Binding Test for assessment of acute coronary syndrome patients: a multicenter study. *Clin Chem*, 47(3):464-70.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Clemens, M. R., Waladkhani, A. R., Bublitz, K., Ehninger, G., Gey, K. F., 1997. Supplementation with antioxidants prior to bone marrow transplantation. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 109(19), 771-776.
- Cobbe SM, Poole-Wilson PA., 2008. The time of onset and severity of acidosis in the myocardial ischemia. *J Mol Cell Biol*, 12:745-60.
- Coggins PR, Ravdin RG, Eisman SH., 1960. Clinical evaluation of a new alkylating agent: cytoxan (cyclophosphamide). *Cancer*, 13:1254-60.
- Collinson PO, Rao AC, Canepa-Anson R, Joseph S., 2003. European Society of Cardiology; American College of Cardiology. Impact of European Society of Cardiology/American College of Cardiology guidelines on diagnostic classification of patients with suspected acute coronary syndromes. *Ann Clin Biochem*, 40(Pt 2):156-60.
- Combs, G. F., Combs S. B., 1984. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev*
- Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain, Volume5, Number5., 2005.
- Crohns, M., Liippo, K., Erhola, M., Kankaanranta, H., Moilanen, E., Alho, H., Kellokumpu-Lehtinen, P., 2009. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clinical Biochemistry*, 42(12), 1236-1245.
- Cros CE, Halliwell B, Borish ET., 1997. Oxygen radicals and human disease. *J. Annals Int. Med.*, 107: 526-45.
- Cummings J, Willmott N, Smyth J., 1991. The molecular pharmacology of doxorubicin in vivo. *Eur J Cancer*, 27:532-35.
- Das UN. Free radicals , cytokines and nitric oxide in cardiac failure and myocardial
- Del Maestro RF., 1980. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol*, 492:153-168.
- Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N., 1980. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 47:446-456.
- Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H., 1991. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53; 194-200.
- Dilek, O.N., 2003, Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III. Ulusal Kongresi. Afyon, 23-30 Mart 2003:6.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Diplock, A., 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59.
- Dollery., 1999. Cyclophosphamide In Dollery C, editör Therapeutic drugs, EdinburgChurchill Livingstone, 349-53.
- Dreher D, Junod AF., 1996. Role of oxygen free radicals in cancer development. Eur. J. Cancer. 32A(1): 30-8.
- Durak, K., Bilgen, Ö.F., Kaleli, T., Tuncel, P., Özbek, R., and Turan, K., 1996. Antioxidant effect of alfa-tocopherol on fracture haematoma in rabbit, J.Int.
- Dusek J, St'asek J, Tichy M, Bis J, Gregor J, Vojacek J, vd., 2006. Prognostic significance of ischemia modified albumin after percutaneous coronary intervention. Clin Chim Acta, 367(1-2):77-80.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T., 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. Nutr. Res. Rev. 2; 51-62.
- Ewer MS, Lippman SM., 2005. Type II chemotherapyrelated cardiac dysfunction: time to recognize anew entity. J Clin Oncology, 23:2900-2.
- Experimental myocardial ischemia. J Mol Cell Cardiol 1983,15:713-716.
- Fatani AG, Darweesh AQ, Rizwan L, Aleisa AM, Al-Shabanah OA, Sayed-Ahmed MM., 2010. Carnitine deficiency aggravates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. Chemotherapy; Chemotherapy, 56(1):71-81.
- Fisher-Wellman K, Bell HK, Bloomer RJ., 2009. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. Oxid Med Cell Longev, 2:43-51
- Floyd JD, Nguyen DT, Lobins RL, Bashir Q, Doll DC, Perry MC., 2005. Cardiotoxicity of cancer therapy. J Clin Oncol, 23:7685-96.
- Fuster V, Alexander W, O'Rourke R., 2001. The Heart. McGraw-Hill. 10th edition, p. 2032.
- Ge K, Yang G., 1993. The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. Am J Clin Nutr, 57:259-3.
- Gebre-Medhin M., Ewald U., Platin L., 1984. Elevated serum selenium in diabetic children. Acta Pediatr Scand., 73: 109-114.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)**

- Giray B., Gürboy A., Hıncal F., 1996. Kanser oluşumu, risk faktörleri ve korunma. Sendrom, MAY: 96-107
- Glode M, Robinson J, Gould FS., 1981. Protection from Cyclophosphamide-Induced Testicular Damage with an Analogue of Gonadotropin-Releasing Hormone, *The Lancet*, May 23, 1132-1136.
- Goldberg MA, Antin JH, Guinan EC, Rapoport JM., 1986. Cyclophosphamide cardiotoxicity: An analysis of dosing as a risk factor. *Blood*, 68:1114-8.
- González-Pérez O, Moy-López NA, Guzmán-Muñiz J., 2008. [Alpha-tocopherol and alpha-lipoic acid. An antioxidant synergy with potential for preventive medicine] *Rev Invest Clin*, 60: 58-67.
- Goren MP, Wright RK, Horowitz ME, Pratt CB., 1987. Ifosphamide-induced subclinical nephrotoxicity despite MESNA. *Cancer Treat Rep*, 71: 127-130.
- Gray KJ, Engelmann UH, Johnson EH, Fishman IJ., 1986. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. *J Urol*. 136:497-500
- Guarnieri C, Flamigni F, Caldarera CM., 1994. Role of oxygen in the cellular damage induced by Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev*, 52:253-265.
- Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Altunayoglu V, Turan I, Karahan SC, vd., 2008. Ischemia-modified albumin levels in cerebrovascular accidents. *Am J Emerg Med*, 26(8):874-8
- Gunduz A, Turedi S, Mentese A, Karahan SC, Hos G, Tatli O, vd., 2008. Ischemia-modified albumin in the diagnosis of acute mesenteric ischemia: a preliminary study. *Am J Emerg Med*, 26(2):202-5.
- Gupta A, Bhatt ML, Misra MK., 2009. Lipid peroxidation and antioxidant status in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Oxid Med Cell Longev*, 2:68-72.
- Gutteridge, J. M. C., 1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, 91, 133-140.
- Haider KH, Stimson WH., 1999. Cardiac myofibrillar proteins: biochemical markers to estimate myocardial injury. *Mol Cell Biochem*, 194:31-39.
- Halliwell B, 1991. Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease. *The American Journal of Medicine*, 91: (3C).

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Halliwell, B, 1984. Oxygen radicals: A commonsense look at their nature and medical importance. *Medical Biology*, 62:71-77.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: University Press.
- Henry, J.B., 2001. *Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods*, W.B. Saunders Company, 20th.
- Holland J, Frei III E, Bast R, et al., 1993. *Cancer medicine*. Lea and Febiger, Philadelphia, London, 2339-45.
- Holsinger, V.H., Smith, P.W., 1992. Minerals. *Encyclopedia of Food Science and Technology* (Volume, 3), Ed. By. Y.H. Hui, A Willey- Interscience Pub. New York.
- Huber SA, 1990 Doxorubicin-induced alterations incultured mmyocardial cells stimulate cytolytic T-lymphocyte responses. *Am J Pathol*, 137:449- 56.
- Ilio CD, Boccio GD, Casaccia R, Aceto A, Giacomo F, Federici G., 1987. Selenium Level and Glutathione- Dependent Enzyme Activities in Normal and Neoplastic Human Lung Tissues, *Carcinogenesis* vol. 8 no. 2 pp. 281-284.
- İnfarction. *Mol Cell Biochem.*, 2000, 215:145- 152.
- İşcan M, Çoban T (1998) Normal ve neoplastik meme dokusunda antioksidan enzimler. *Klinik Gelişim.*; 11: 392–395.
- Jaffe AS., 2003. Davidenko J. Diagnosis of acute myocardial ischemia and infarction. Crawford MH, DiMarco JP (eds): *Cardiology*. 1st edition. Mosby International Ltd. England.
- Jan M., 2011. Horacek. Biomarkers of Cardiac İnjury in Detection of Cardiyotoxicity İnduced by Chemotherapeutic Agents. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy)*, vol. 80, p. 103-117 ISSN 0372-7025.
- Janero DR, Hreniuk D, Sharif HM., 1991. Hydrogen peroxide- induced oxidative stress to the mammalian heartmuscle cell (cardiomyocyte): lethal peroxidative membrane injury. *J Cell Physiol*, 149:347-64.
- Johnson, C.C., Ge, X., Green, K.A. and Liu, X., 2000.
- Kalan M, Talbot D, Cunliffe WJ, Rich AJ., 1994. Evaluation of the modified Alvarado score in the diagnosis of acute appendicitis: a prospective study. *Ann R Coll Surg Engl* , 76(6):418-9.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Kaneko JJ., 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, Inc., San. Diego, 772-776
- Kannel WB, Ho K, Thom T., 1994. Changing epidemiological features of cardiac failure. *B Heart J*, 72:S3-9.
- Kawabata, T.T., Chapman, M.Y., Kim, D.H., Stevens, W.D. and Holsapple, M.P., 1990. Mechanism of in vitro Immunosuppression by Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites and 4-Hydroxycyclophosphamide, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 40: No. 5, pp. 927 – 935.
- Kawabatai, T. T., Chapman, M. Y., Kim, D. H., Stevens, W.D. and Holsapple, M. P., 1990. Mechanism of in vitro Immunesuppression by Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites and 4- Hydroxycyclophosphamide, *Biochemical Pharmacology.*, Vol. 40, No. 5, pp. 927-935 p.
- Kayaalp,S. O., 1989. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık,Ankara cilt:1,S:973-993,Cilt: 2,S: 1100-1107 p.
- Kehre J P, Smith J V., 1994. Free radicals in biology: Sources, reactivites and roles in etiology of human diseases; In Frei B(ed): Natural Antioxidants İn Human Health and Disease. San Diego: Academic Pres, 25-62.
- Kızılcı, S., 1999. kemoterapi alan Kanserli Hastalar ve Yakınlarının Yaşam Kalitesini Etkileyen Faktörler,C.Ü.Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi,3(2).
- Knight, J.A., 1995. Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin.Lab.Sci.*; 25(2):111-21.
- Koca, H.B., 2007. Koroner Arter Hastalarında Lipid ve Protein Oksidasyonu ile Selenyum İçeren Antioksidanların Düzeyi.Afyonkarahisar Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.Biyokimya (Tıp) Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.Afyonkarahisar
- Korkmaz A, Oter S, Sadir S, Coskun O, Topal T, Ozler M, Bilgic H., 2005. Peroxynitrite maybe involved in bladder damage caused by cyclophosphamide in rats. *J Urol.*, 173: 1793-1796.
- Korkmaz A, Topal T, Oter S ., 2007. Pathophysiological aspects of cyclophosphamide and ifosfamide induced hemorrhagic cystitis; implication of reactive oxygen and nitrogen species as well as PARP activation. *Cell Biol. Toxicol.*, 23(5): 303-12.
- Köhrle J, Jakob F, Contempré B, Dumont JE., 2005. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev*, 26:944-84.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam )

- Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L., 1995. Neoplasia Ln: Robbins SI (ed), Basic Pathology, WB Saunders – Philadelphia, 171-216.
- Kumar, K.B.H., Kuttan, R., 2004. Chemoprotective Activity of an Extract of Phyllanthus Amarus Against Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice, Phytomedicine, 12: 494-500.
- Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M., 2004. Serbest Radikaller. Arşiv,; 13: 120-13.
- Kwon HC, Borch RF, Engel J, Niemeyer U., 1987. Activation Mechanism of Mafosfamide and The Role of Thiols in Cyclophosphamide Metabolism. J. Medchem., 30: 395-399.
- Ladas, E. J., Jacobson, J. S., Kennedy, D. D., Teel, K., Fleischauer, A., Kelly, K.M., 2004. Antioxidants and cancer therapy: a systematic review Journal of Clinical Oncology, 22(3), 517-528.
- Lahdetie, j., RATY, R. And SORSA, M., 1990. Interaction of mesna (2-mercaptoethane sulfonate) with the mutagenicity of cyclophosphamide In vitro and In vivo, Mutation Research
- Larson, R.A., 1988. The antioxidants of higher plants. Phytochemistry. 27(4); 969-978.
- Levander O., Burk R., 1994. Selenium, Modern nutrition in health and disease (Ed). M. Shike. Lea and Febiger: Philadelphia
- Levav, M, Cruz, M.E., Mirsky, A.F., 1995. EEG abnormalities, malnutrition, parasitism and Goiter: A study of schoolchildren in Ecuador. *Acta Pe- diatr* 84, 197-202.
- Lin J. Q., 2002. Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 22(6), 530-532.
- Lorgeril, D.M., Salen, P., 2006. Selenium and Antioxidant defenses as major mediators in the development of chronic heart failure. *Heart Fail Rev.*11: 13-17. Macdonald, H.B., 2000. Conjugated Linoleic
- Lu SC., 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*: 30, 42-59.
- Ma SG, Wei CL, Hong B, Yu WN., 2011, Ischemia modified albumin in type 2 diabetic patients with and without peripheral arterial disease. *Clinics*, 66(10):1677-80.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Machida Y, Kubota T, Kawamura N, Funakoshi H, Ide T, Utsumi H., 2003. Overexpression of tumor necrosis factor-alpha increases production of hydroxyl radical in murine myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 284:H449-55.
- Mackey JR, Clemons M, Cote MA et al., 2003. Cardiac management during adjuvant trastuzumab therapy: recommendations of the Canadian Trastuzumab Working Group. *Curr Oncol*, 15:24-35.
- Mahmoud N. Nagi, Othman A. AL-Shabanah, Mohamed M. Hfez, and Mohamed M. Sayed- Ahmed Todorova V, Vanderpool D, Blossom S, vd., 2009. Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. *Nutrition*, 25, 812-7.
- Mandic, Z., Mandic, M. L., Grgic, J., Hasenay, D., Grgic, Z., 1995. Selenium content of breast milk. *Z. Lebensm Unters Forsh.201*: 209-212.
- Mastella AK, Moresco RN, da Silva DB vd., 2009. Evaluation of ischemia modified albumin in myocardial infarction and prostatic diseases. *Biomed Pharmacother*, 63:762-6.
- Masuda H, Chancellor MB, Kihara K and Yoshimura N., 2006. 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 attenuates development of cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Urology*, 67: 435.
- Mates JM, Sanchez-Jimenez F., 1999. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci*. 4: 339–345.
- McCord J. Oxygen-derived free radicals in post ischemic tissue injury., 1985. *N Engl J Med*, 312:159-63.
- McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD vd., 2012. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*, 33:1787-847.
- Meister A., 1994. Glutathione ascorbate and cellcycle regulation. *FEBBS letters*, 1-4.
- Meister LA, Meadows AT., 1993. Late effects of childhood cancer therapy. *Curr Probl Pediatr*, 23,102-131.
- Memişoğlu., 2005. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Dergisi*; 3: 30-39.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Mena P, Maynar M, Gutierrez JM, Maynar J, Timon J, Campillo JE., 1991. Erythrocyte Free Radical Scavenger Enzymes in Bicycle Professional Racers, Adaptation to Training. *Int. J. Sports Med.*, 12 (6): 563-566.
- Mentese A, Koksall I, Sumer AU, Arslan M, Karahan SC, Yılmaz G., 2013. Diagnostic and Prognostic Value of Ischemia-modified albumin in Patients with Crimean Congo hemorrhagic fever. *J Med Virol*, 85(4):684-8.
- Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg*, 15(12):91-96
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW., 1988. *Harper's Biochemistry*. Twenty-fourth edition, Prentice-Hall International, Inc, The United States of America, 1996.36. Ganczakowski M, Town M, Bowden Nieminen AL, Gores GJ, Wray BE, et al. Calcium dependence of bleb formation and cell death in hepatocytes. *Celi Calcium*, 9:237-246.
- Narin F., Başarslan F., Akgün H., Akın A., Baykan A., Saraymen R., Kuzugüden S., Yavaşcan., 2004. Hipoksi ile oluşturulan miyokardiyal hasar üzerine melatonin etkisi:13(1): 64-72.
- Olson RD, Boerth RC, Gerber JG, Nies AS., 1981. Mechanism of adriamycin toxicity: evidence for oxidative stress. *Life Sci*, 29:1393-1401.
- Osborne, R., Evans, B., Gallagher, C. vd., 1987. High-Dose Cyclophosphamide Followed by Cisplatin in the treatment of ovarian cancer. *Cancer Chemother., Pharmacol.*, 20: 48-52 p.
- Oster O, Prellwitz W., 1997. Selenium and cardiovascular disease: An update. *Biomed Environ Sci*, 10:220.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 50(11); 3122-3128.
- Özkocaman V., 2010. Ekstramedüller toksisite: Değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler. *THD Hematolojide Destek Tedaviler ve İnfeksiyonlar Kursu*, sayfa 22-32.
- Özkocaman V., 2010. Ekstramedüller toksisite: Değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler. *THD Hematolojide Destek Tedaviler ve İnfeksiyonlar Kursu*, sayfa 22-32.
- Pollack CV, Peacock WF, Summers RW, et al., 2003. Ischemia-modified albumin (IMA) is useful in risk stratification of emergency department chest pain patients. *Acad Emerg Med*, 10:555-6.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Pool ,B.L., Bos, R. P., Niemeyer, U., Theuws, J.L.G. nad Schmalhl, D., 1988. Invitro/invivo Effect of Mesna on the Genotoxicity and toxicity o
- Cyclophosphamide A Study Aimed at Clarifying theult Mechanim of Mesna's Anticarsinogenic Activity, *Toxicology Letters*, 41:49-56 p.
- Rao PS, Cohen MV, Mueller HS., 1980. Production of free radicals and lipid peroxides in early re-oxygenation of hypoxic heart.*J Mol Cell Cardiol*, 12: 797-808.
- Rayman, M.P., 2000. The importance of selenium to human health. *Lancet* 356, 233-241.
- Reaven, P.D., Khouw, A., Beltz, W.F. , Parthasarathy, S. and Witztum, J.L., 1993. Effect of dietary antioxidant combinations in humans. Protection of LDL by vitamin E but not by  $\beta$ -carotene. *Arterioscler. Thromb.* 13(4);590-600.
- Refaai MA, Wright RW, Parvin CA, Gronowski AM, Scott MG, Eby CS., 2006. Ischemia-modified albumin increases after skeletal muscle ischemia during arthroscopic knee surgery. *Clin Chim Acta*, 366(1-2):264-8.
- Reilly, C., 1998. Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends Food Sci. Techn.* 9, f114-118.
- Ribeiro RA, Souza Fiho MVP, Santos CC., 1988. Involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *International Cancer Congress, Italy Proceedings*, 227–231.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M. and Pridham, J.B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad. Res.* 22; 375-383.
- Robison TW, Giri SN., 1987. Effects of chronic administration of doxorubicin on heart phospholipase A2 activity and in vitro synthesis and degradation of prostaglandins in rats. *Prostaglandins Leukotriens Med*, 26:59-74.
- Roy D, Quiles J, Aldama G, Sinha M, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, et al., 2004. Ischemia Modified Albumin for the assessment of patients presenting to the emergency department with acute chest pain but normal or non-diagnostic 12-lead electrocardiograms and negative cardiac troponin T. *Int J Cardiol*, 97(2):297-301.
- Sangeetha, P., Das, U. N., Koratkar, R., Suryaprabha, P., 1990. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *FreeRadical Biology and Medicine*, 8(1), 15-19.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Selvakumar E, Prahalathan C, Mythili Y, Varalakshmi P., 2004. Protective effect of DL alpha-lipoic acid in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis. *Reprod Toxicol*, 19:163-7.
- Senthilkumar, S., Yogeeta, S. K., Subashini, R., Devaki, T., 2006. Attenuation of Cyclophosphamide Induced Toxicity by Squalene in Experimental Rats, *Chemico-Biological Interactions*, 160:252-260 p.
- Seven A, Candan G., 1996. Antioxidan Defense Systems. *Cerrahpasa J Med.*; 27: 41–50.
- Shakir DK, Rasul KI., 2009. Chemotherapy induced cardiomyopathy: pathogenesis, monitoring and management. *J Clin Med Res* ;1:8-12.
- Shamberger RJ, Frost DV., 1969. Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can Med Assoc J*, 100:682.
- Shane, B.S., Littman, L., Essick, L.A., Gutenmann W.H., Doss, G.J. and Lisk, D.J., 1988. Uptake of selenium and mutagens by vegetables grown in fly ash containing greenhouse media. *J. Ag-ric. Food Chem.* 36(2), 328-333.
- Simone, C. B., Simone, N. L., Simone, V., Simone, C. B., 2007. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(1), 22-28
- Simone, C. B., Simone, N. L., Simone, V., Simone, C. B., 2007. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 2. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(2), 40-47.
- Sinha MK, Roy D, Gaze DC, Collinson PO, Kaski JC., 2004. Role of "Ischemia modified albumin", a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg Med J* ;21(1):29-34.
- Slordal L, Spigset O., 2006. Heart failure induced by non-cardiac drugs. *Drug Saf* ; 29: 567-86. Yahalom J, Portlock CS. Cardiac Toxicity. In: Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). *Cancer*, Philadelphia 2008, 8th edition, Chapter 63, p 2678-2688.
- Slordal L, Spigset O., 2006. Heart failure induced by non-cardiac drugs. *Drug Saf*, 29: 567
- Smith EL, Hill RL, Lehmal R., 1983. *Principle of biochemistry*. 7th ed- McBray Hill, inc., 382-383.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Soreide K., 2011. The role of high-mobility group box-1 (HMGB-1) in the management of suspected acute appendicitis: useful diagnostic biomarker or just another blind alley? *Scand J Trauma Resusc Emerg Med* ;19:28.
- Stawicki SP, Lyons M, Aloupis M, Sarani B., 2007. Current evidence from phase III clinical trials of selenium supplementation in critically ill patients: why should we bother? *Mini Rev Med Chem*;7:693-99.
- Stockman, G.D., Heim, L. R., South, M. A. And Trentin. J.J., 1973. Differential effects of Cyclophosphamide on the B and T Cell Compartments of Adult Mice., *J. Immunol.* 110: 277-282 p.
- Szabo C., 1996. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation, and ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 6: 79.
- Şahinci A. Doğal suların jeokimyası, Reform matbaası, İzmir, 1991. sayfa 394-543.
- Tacyildiz N, Ozyoruk D, Ozelci Kavas G vd., 2012. Selenium in the prevention of anthracycline induced cardiac toxicity in children with cancer. *J Oncol* :651-630
- Tarek M.K. Motawi, Nermin A.H. Sadik, Ayat Refaat., 2010. Food and Chemical Toxicology. Cytoprotective effects of DL-alpha-lipoic acid or squalene on cyclophosphamide induced oxidative injury: An experimental study on rat myocardium, testicles and urinary bladder. Volume 48, Issues 8–9, August–September, Pages 2326–2336.
- Thatcher N, Smith DB, Lind MJ, Anderson H, Barclay J, Chopra MP, Fitzgerald MD., 1988. Double Alkylating Agent Therapy with Ifosfamide and Cyclophosphamide for Advanced Non–Small Cell Lung Cancer from the Manchester Lung Tumour Group. *Cancer*, 61: 14-18.
- Todorova V, Vanderpool D, Blossom S, Nwokedi E, Hennings L, Mrak R., 2009. Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. *Nutrition* ;25:812-7
- Tos´-Luty S, Obuchowska-Przebdrowska, Latuszynska, J, Musdk, I., Tokarska Rodak., 2003. Comparison of Histological and Ultrastructural Changes in Mice Organs After Supplementation with Inorganic and Organic Selenium, *Ann Agric Environ Med.*, 10:87-91.
- Toufektsian M-C., Boucher F., Pucheu S., et.al., 2000. Effect of Selenium deficiency on the response of cardiac tissue to ischemia and reperfusion. *Toxicol*, 148, 125-132

### KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Turc, J.L. and Poulter, L.W., 1972,. Selective depletion of Lymphoid Tissue by Cyclophosphamide., *Clin. Exp. Immunol.* 10:285-296
- Utomo A, Jiang X, Furuta S, Yun J, Levin DS, Wang YC, Desai KV, Green JE, Chen PL Lee WH., 2004. Identification of a novel putative non-selenocysteine containing phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (NPGPx) essential for alleviating oxidative stress generated from polyunsaturated fatty acids in breast cancer cells. *J Biol Chem* ;279:43522-9.
- Uysal M., 1998. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidanantioksidan dengeyi etkileyen kosullar. *Klinik gelişim*, 11: 336–341.
- Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C., 2003. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol Lett* 11;140- 141:113-24.
- Weijl, N. I., Cleton, F. J., Osanto, S., 1997. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 23(4), 209-240.
- einstein DM, Mihm MJ, Bauer JA., 2000. Cardiac peroxynitrite formation and left ventricular dysfunction following doxorubicin treatment in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 294:396-401.
- Whanger, P.D., 2004. Selenium and Its Relationship to Cancer: anupdate. *British Journal of Nutrient.* 91: 11-28.
- Wildburger, R., Mrakovcic L., Stroser M., Andrisic L., Borovic Sunjic S., Zarkovic K., Zarkovic,N., 2009. Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence: Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 29(1), 189193.
- Wu, A.H., & Bowers, G. N, Jr., 1982. Evaluation and comparison of immunoinhibition and immunoprecipitation methods for differentiating MB and BB from macro forms of creatine kinase isoenzymes in patients and healthy individuals. *Clinical Chemistry*, 28, 2017–2021.
- Yahalom J, Portlock CS. Cardiac Toxicity. In: Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds)., 20078. *Cancer*, Philadelphia, 8th edition, Chapter 63, p 2678-2688.
- Yeum K-J, Russell MR, Krinsky IN, Adlini G., 2004. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*;430: 97-103.
- Yousif A., 2010. Asiri Probulcol Attenuates Cyclophosphamide-induced Oxidative Apoptosis, p53 and Bax Signal Expression in Rat Cardiac Tissues. *Oxid Med Cell Longev.* Sep-Oct; 3(5): 308–316.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)**

- Yuan L, Kaplowitz N., 2009. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*: 30, 29-41.
- Zadák, Z., Hyspler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D., Stetina, R., 2009. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiological Research*, 58 (Suppl 1), 13-17.
- ZHAO, L., 2001. Glutathione, a ubiquitous thiol. Iowa University. Free radical and radiation biology graduate program, Iowa, 10s (yayınlanmamış).