



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

**Ratlarda Akrilamid ile İndüklenen Nefrotoksisitede Selenyumun Etkileri:
Oksidatif Stres, İnflamasyon, Apoptozis ve DNA Hasarının Roller**

Proje No: 2019-7021

Proje Türü

Temel Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Doç. Dr. Emin ŞENGÜL
Veteriner Fakültesi/Fizyoloji AD

Araştırmacı

Doç. Dr. Serkan YILDIRIM
Dr. Öğr. Üyesi VOLKAN GELEN
Arş. Gör. Samet TEKİN
Doktora Öğr. Yusuf DAĞ

Ocak/2020

ERZURUM

ÖNSÖZ

Bu projede, bir Akrilamid (ACR) ile indüklenen böbrek toksisitesinde bir iz element olan Selenyum (Se)'un etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada deney hayvanı olarak rat kullanıldı ve ratlar Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM)'nden temin edildi. Çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.10.2018 tarih ve 205 nolu kararı ile onaylandı ve **Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 2019/7021 proje kodlu Temel Araştırma Projesi kapsamında** desteklendi. Çalışmada 50 adet Sprague Dawley rat kullanıldı ve her grupta 10 rat olmak üzere 5 deney grubu oluşturuldu. Deneysel protokole göre ratlara Se ve ACR uygulamaları yapıldı ve ratlar deneyin 11. günü anestezi altında ötenazi edildiler. Ratlardan alınan kanlardan elde edilen serum örneklerinde üre ve kreatin parametreleri otoanalizörde analiz edildi. Böbrek dokularında malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), nükleer faktör kappa b (NF- κ B), interlökin-33 (IL-33), interlökin-6 (IL-6), interlökin 1beta (IL-1 β), siklooksijenaz 2 (COX-2), kidney injury molecule-1 (KIM-1), mitojen aktive protein kinaz-1 (MAPK1) ve kaspaz-3 analizleri ticari ELİSA kitleri aracılığıyla gerçekleştirildi. Böbrek dokuları histopatolojik yönden incelendi. Yine böbrek dokusunda DNA hasarı ve apoptozisi belirlemek için 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OhDG) ve Bax parametreleri immunhistokimyasal incelemeler ile değerlendirildi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, ratlarda ACR'nin böbrek dokusunda, oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarını indüklediği, Se uygulamasının ise ACR'nin bu etkilerini baskıladığı belirlendi.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1. GİRİŞ	3
2. MATERYAL VE METOT	4
2.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Protokol	4
2.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması	5
2.3. Serum Üre ve Kreatinin Parametrelerinin Analizi	5
2.4. Elisa Analizleri İçin Böbrek Dokusu Örneklerinin Hazırlanması	5
2.5. MDA, SOD, GSH, GPx, IL-33, CAT, TNF- α , NF- κ B, IL-6, IL-1 β , COX-2, Kaspaz-3, KIM-1 ve MAPK1 Parametrelerinin ELİSA Kitleri ile Ölçüm Prosedürü	6
2.6. Histopatolojik ve İmmunhistokimyasal İncelemeler	6
2.7. İstatistiksel Analiz	7
3. BULGULAR	8
4. TARTIŞMA	15
KAYNAKLAR	20

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No

Sayfa No

- Şekil 1.** Şekil 1. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal TNF- α (A), IL-1 β (B), IL-6 (C) ve IL-33 (D) seviyeleri üzerine Se'nin etkileri.....9
- Şekil 2.** Şekil 2. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal NF- κ B (A), MAPK1 (B), COX-2 (C) ve KIM-1 (D) seviyeleri üzerine Se'nin etkileri..... 10
- Şekil 3.** ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal kaspaz-3 aktivitesi üzerine Se'nin etkileri..... 11
- Şekil 4.** ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek histopatolojisi üzerine Se uygulamasının etkileri, H&E, Bar: 50 μ m 12
- Şekil 5.** ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek 8 OHdG ekspresyonu üzerine Se uygulamasının etkileri, IHC-P, Bar: 50 μ m 13
- Şekil 6.** ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek Bax ekspresyonu üzerine Se uygulamasının etkileri, IHC-P, Bar: 50 μ m14

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Deney grupları ve gruptaki deney hayvanı sayıları.....	5
Tablo 2. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede deney gruplarındaki ratların deney başlangıcı ve bitişinde canlı ağırlıkları ve böbrek ağırlıkları.	7
Tablo 3. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede deney gruplarındaki ratların deney başlangıcı ve bitişinde canlı ağırlıkları ve böbrek ağırlıkları.	8
Tablo 4. Deney gruplarındaki ratların böbrek dokularında histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguların skorlanması.	15

ÖZET

Ratlarda Akrilamid ile İndüklenen Nefrotoksisitede Selenyumun Etkileri:

Oksidatif Stres, İnflamasyon, Apoptozis ve DNA Hasarının Rollerini

Amaç: Bu çalışmada, ratlarda Akrilamid (ACR) ile indüklenen nefrotoksisitede Selenyum (Se)'un etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve metod: Araştırmamızda yaklaşık 200-250 gr ağırlığında, 50 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı ve ratlar rastgele 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) serum fizyolojik (1 ml) verildi. ACR grubuna 10 gün boyunca serum fizyolojikte çözündürülmüş ACR (38.27 mg/kg) i.g. uygulandı. Se0,5+ACR ve Se1+ACR gruplarına sırasıyla 0,5 mg/kg ve 1 mg/kg dozunda Se 10 gün boyunca i.g uygulandı ve Se enjeksiyonlarından 1 saat sonra ACR (38.27 mg/kg) i.g. uygulandı. Se1 grubuna ise 1 mg/kg dozunda Se 10 gün boyunca i.g uygulandı. Deneysel çalışmanın 11. günü ratlardan anestezi altında intra kardiyak kan örnekleri alındı ve dekapite edildiler. Kanlardan elde edilen serum örneklerinde üre ve kreatin parametreleri otoanalizörde analiz edildi. Deney gruplarından elde edilen böbrek dokularında malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α), nükleer faktör kappa b (NF- κ B), interlökin-33 (IL-33), interlökin-6 (IL-6), interlökin 1beta (IL-1 β), siklooksijenaz 2 (COX-2), kidney injur molecul-1 (KIM-1), mitojen aktive protein kinaz-1 (MAPK1) ve kaspaz-3 analizleri ticari ELİSA kitleri aracılığıyla yapıldı. Ayrıca, böbrek dokuları histopatolojik ve immunhistokimyasal incelemeler (8-OhDG ve Bax) ile değerlendirildi.

Bulgular: Serum üre ve kreatin düzeyleri ACR grubunda kontrole göre anlamlı düzeyde arttı. Se'nin özellikle yüksek dozunun, ACR'nin sebep olduğu bu artışları önlediği görüldü. ACR'nin renal oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis, DNA ve doku hasarını indüklediği ve Se'nin yüksek dozunun ACR'nin sebep olduğu bu değişiklikleri önlediği tespit edildi.

Sonuç: Bu çalışmanın sonucunda, ratlarda ACR ile indüklenen nefrotoksisite modelinde Se'nin oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarını baskılayıcı etkilerinin olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Akrilamid, Nefrotoksisite, Rat, Selenyum.

ABSTRACT

The Effects of Selenium in Acrylamide-Induced Nephrotoxicity in Rats: Roles of Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis and DNA Damage

Aim: In this study, it has been aimed that determination of effects of Selenium (Se) in Acrylamide (ACR)-induced nephrotoxicity in rats.

Material and method: In our study, fifty male adult Sprague Dawley rats weighing approximately 200-250 g were used and rats randomly divided into five groups. The control group was given intra-gastric (i.g.) saline (1 ml) for 10 days. The ACR group was given i.g. saline-dissolved ACR (38.27 mg/kg-1 ml) for 10 days. Se_{0,5}+ACR ve Se₁+ACR groups were administered Se, dissolved in saline, at doses of 0,5 and 1 mg/kg, respectively for 10 days and given i.g. ACR (38.27 mg/kg-1 ml) one hour after Se injections. Se₁ group was administered to Se (1mg/kg, i.g.) for 10 days. On the 11th day of the experimental study, intracardiac blood samples from the rats were taken under anesthesia and decapitated. Urea and creatinine values in serum samples obtained from blood samples were analyzed at autoanalyzer. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutation (GSH), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), nuclear factor kappa b (NF- κ B), interleukin-33 (IL-33), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1beta (IL-1 β), cyclooxygenase-2 (COX-2), kidney injury molecule-1 (KIM-1), mitogen-activated protein kinase-1 and caspase-3 analysis in kidney tissues obtained from experimental groups were made through commercial ELISA kits. In addition, renal tissues were evaluated by histopathological and immunohistochemical examinations (8-OhDG and Bax).

Results: Serum urea and creatinine levels were significantly increased in the ACR group compared to the control. It was observed that the especially high dose of Se prevented these increases caused by ACR. It was found that ACR induced renal oxidative stress, inflammation, apoptosis, DNA and tissue damage and high doses of Se prevented these changes caused by ACR.

Conclusion: As a result of this study, in the model of nephrotoxicity induced by ACR in rats was determined that Se had suppressing effects the oxidative stress, inflammation, apoptosis and DNA damage.

Keywords: Acrylamide, Nephrotoxicity, Rat, Selenium.

1. GİRİŞ

Akrilamid (ACR) kimya mühendisliğinde, su arıtma sistemlerinde, inşaat ve yol yapım malzemelerinde yaygın olarak kullanılmakta olup, kullanım alanları arasında kâğıt endüstrisi, kozmetik imalat sektörü, analitik kimya ve moleküler laboratuvarlar da bulunmaktadır (1, 2). 2002 yılına kadar ACR maruziyetinin, ACR kullanımı olan sanayi alanlarında çalışılması, sigara içilmesi ve kozmetik ürünlerin kullanılması ile olduğu bilinmekteydi. Ancak 2002 yılında yapılan çalışmalar neticesinde, karbonhidratça zengin besinlerin (özellikle patates cipsi) 200 °C'den yüksek ısılarla maruz bırakılması sonucunda, besinlerde ACR oluşumunun gerçekleştiği belirlenmiştir (3-6). İnsanlarda ACR maruziyetinin başlıca, 180-200 °C üzeri ısıya maruz bırakılan karbonhidratça zengin besinlerin tüketilmesi sonucu meydana geldiği belirlenmiştir (7). Yüksek sıcaklıkta (180-200 °C üzeri) hazırlanan et, ekmek, patates kızartması ve cipsi, tahıl ürünleri ve kavrulmuş kahve gibi ürünler de dâhil olmak üzere çok sayıda gıdada ACR varlığı tespit edilmiş ve bu kimyasalın kanserojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (8-11). ACR insan ve hayvan sağlığı için birçok risk faktörü taşımaktadır. ACR plasental bariyeri geçebilmektedir ve direkt prenatal ve posnatal anomalilere sebep olabilmektedir (12). Yüksek dozlarda ACR'nin, canlıda genetik mutasyonlara neden olabildiği (13) ve nörotoksik etkilerinin varlığı (14) ifade edilmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda, ratlarda ACR maruziyeti sonrasında üreme ve gelişim bozuklukları şekillendiği, ratlarda genotoksisiteyi ve kanser oluşumunu indüklediği rapor edilmiştir (15). ACR maruziyeti sonrasında renal tübül hücrelerinde vakuolar dejeneratif değişiklikler, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve periglomerüler ödem şekillendiği de bildirilmiştir (16, 17). Yapılan bir başka araştırmada, ACR uygulanan ratlarda serum üre, kreatin ve ürik asit düzeylerinin, renal TNF- α , IL-6, ve IL-1 β seviyelerinin, lipid peroksidasyonunun, antioksidan biomarkırların konsantrasyonlarının/aktivitelerinin ve DNA hasarı belirteci olan 8-OHdG düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (18). ACR'nin sebep olduğu nefrotoksisiteyi önlemek veya tedavi etmek amacıyla, bazı antioksidan ve antiinflamatuvar bileşiklerin etkileri güncel

olarak araştırılmaktadır (18-21). Deney hayvanlarında oluşturulan nefrotoksisite modellerinde protektif veya terapötik amaçlı kullanılan bileşikler arasında Se de yer almaktadır (22-25). Canlılar için önemli bir iz element olan Se, çeşitli selenoproteinler aracılığıyla antioksidan savunma sistemlerinde önemli rol oynar (26). Ayrıca Se'nin ağır metaller ile indüklenen nefrotoksisitede detoksifiye etkisinin olduğu belirlenmiştir (16). Se'nin antiinflamatuvar (27-29) ve apoptozisi baskılayıcı etkilere sahip olduğu birçok araştırma ile (30-32) ortaya konulmuştur.

Bu bilgiler doğrultusunda yapılan bu çalışmada, ratlarda ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis, DNA ve doku hasarı üzerine güçlü antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-apoptotik etkili bir iz element olan Se'nin etkileri belirlendi.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Deney Hayvanları ve Deneysel Protokol

Araştırmamızda, ratlarda ACR (38.27 mg/kg, oral, 10 doz) (33) ile indüklenen böbrek toksisitesi modeli üzerinde çalışıldı ve belirlenen gruplara iki farklı dozda Se (0.5 ve 1 mg/kg, oral, 10 gün) (24) uygulandı.

Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmamız Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (HADYEK Karar No: 2018/205) ve **Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından Temel Araştırma Projesi (Proje No: 2019/7021) kapsamında** desteklendi. Ratlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 25°C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilerek ad-libitum olarak beslendiler. Ortalama 200-250 g ağırlığında 12 haftalık yetişkin Sprague Dawley cinsi 50 adet erkek rat kullanıldı. Deney grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu;

Tablo 1. Deney grupları ve gruptaki deney hayvanı sayıları.

Grup sayısı	Grup isimleri	Hayvan sayısı
Grup 1	Kontrol	10
Grup 2	ACR (38.27 mg/kg)	10
Grup 3	Se 0.5 (0.5 mg/kg)+ACR (38.27 mg/kg)	10
Grup 4	Se 1 (1 mg/kg)+ACR (38.27 mg/kg)	10
Grup 5	Se 1 (1 mg/kg)	10

Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldular. Grup 1'e 10 gün boyunca oral 1 ml serum fizyolojik ve Grup 2'ye ise 10 gün boyunca gavaj ile oral ACR (38.27 mg/kg) uygulandı. Grup 3 ve 4'e belirlenen dozlarda 10 gün boyunca oral Se uygulandı ve her Se uygulamasından 1 saat sonra oral ACR (38.27 mg/kg) verildi. Grup 5'e ise 10 gün boyunca 1 mg/kg dozunda oral Se uygulaması yapıldı. Deneysel uygulamalar sonunda ratların canlı ağırlık tartımlarından sonra ketamin-ksilazin anestezisi altında intrakardiyak kan alındı ve dekapite dildiler. Ratların böbrek dokuları alınarak tartıldı ve her bir ratın bir böbreği histopatolojik ve immunhistokimyasal incelemeler için serum fizyolojik ile yıkamayı takiben hemen formaldehit içine alındı. Diğer böbrek ise biyokimyasal analiz çalışmalarına kadar -20°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

2.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması

Ratlardan alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktararak +4°C'de soğutmalı santrifüjde 3500-4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri godelere alındı ve analizler yapılana dek -20°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

2.3. Serum Üre ve Kreatinin Parametrelerinin Analizi

Önceden hazırlanıp -20 °C'de muhafaza edilen serumlarda üre ve kreatinin parametrelerinin ölçümleri Modular PP oto-analizörde (Randox IV Monaco Auto-Chemistry Analyzer) yapıldı.

2.4. Elisa Analizleri İçin Böbrek Dokusu Örneklerinin Hazırlanması

Böbrekler sıvı azot kullanarak TissueLyser II (Qiagen)'de 5 mikron çapa kadar

öğütüldü. Gerekli miktarlar tartılarak fosfat tampon (Ph:7.4) ile 1/20 oranında sulandırıldı ve TissueLyser II'de homojenize edildi. Homojenizasyon sonrasında homojenatlar elisa analizleri için +4 °C'de 3000 rpm'de 20 dk. santrifüj edildi ve süpernatant kısım analizler için kullanıldı.

2.5. MDA, SOD, GSH, GPx, IL-33, CAT, TNF- α , NF- κ B, IL-6, IL-1 β , COX-2, Kaspaz-3, KIM-1 ve MAPK1 Parametrelerinin ELİSA Kitleri ile Ölçüm Prosedürü

Çalışmada, çift antikor sandiviç rat uyumlu ELİSA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kitleri (YLBiont, Shanghai, China) kullanıldı. Spesifik monoklonal antibadi ile kaplı pleyt kuyucuklarına standart ya da numune eklendi, daha sonra Biotin ile işaretli ikinci antibadiler ilave edildi. Son olarak Streptavidin-HRP solüsyonu eklenen pleyt inkübasyona bırakılarak kompleks oluşumu sağlandı. Inkübasyon sonunda kompleks oluşumuna katılmayan enzimlerin ortamdan uzaklaştırılması için pleyt yıkandı. Renk oluşumu sağlamak amacıyla kromojen A ve B eklenerek tekrar inkübasyona bırakılan kitlerdeki reaksiyon sonucunda mavi renk oluşumu gözlemlendi. Reaksiyon sonlandırıcı solüsyonun eklenmesiyle mavi renk sarıya dönüştü ve bu sarı rengin şiddeti Elisa okuyucusunda 450 nm dalga boyunda okundu (34, 35).

2.6. Histopatolojik ve İmmunhistokimyasal İncelemeler

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan doku örnekleri %10'luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 5 μ m kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Leica DM 1000, Germany). Kesitler immün pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

Dehidrasyon, şeffaflandırma ve parafinizasyon işlemlerinin ardından parafin bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alınarak polilizinli lamalar üzerine yerleştirildi. Parafinin eritilerek uzaklaştırılması amacıyla lamalar preparat taşıma aparatına alındı ve 56°C'de 1 saat etüvde bekletildi. İmmunohistokimyasal boyama Expose Kit (Abcam: ab80436, İngiltere) üretici firmanın önerdiği şekilde yapıldı. Bu

amaçla; Ksilolde (3 defa) 15 er dk. %100 etanol (2 defa) 5 er dk. %96 etanol (1-2 defa) 5 er dk. %90 etanol (1 defa) 5 dk. %80 etanol (1 defa) 5 dk. %70 etanol (1 defa) 5 dk. Phosphate buffer solution (PBS) ile yıkama 5 dk. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla %3 lük hidrojen peroksit (300 ml distile su + 9ml H₂O₂) solüsyonunda 10 dk. bekletildi. Antijen retrival aşaması için sodyum sitrat solüsyonu (pH = 6.0) ile mikrodalga fırında 15 dakika (600 watt) kaynamaya bırakıldı. Solüsyondan çıkarmadan oda ısısında soğuması için 15 dk. bekletildi ve süre sonunda PBS ile yıkandı. 23 Protein bloktan (Abcam: ab80436) her lam üzerine dokuyu kapatacak oranda damlatıldı ve 30-60 dakika nemlendirilmiş kap içerisinde bekletildi. (Non spesifik antikor bağlanmasını bloke etmek için) 1/100 oranında sulandırılan primer antikordan (8 OHdG ve Bax) her bir lam üzerine mikropipet kullanarak 100 µl eklendi, 1 saat 37°C etüvde nemlendirilmiş kap içerisinde inkübe edildi. Etüvden çıkarılan preparatlara PBS ile 3 defa 5 er dk. süreyle yıkama işlemi uygulandı. Sekonder antikordan (komplement) her doku üzerine 1-2 damla eklendi ve 20 dk. oda ısısında nemlendirilmiş kapta inkübe edildi. Bu süre sonunda PBS ile 3 defa 5 er dk. süreyle yıkandı. HRP konjugat her bir dokuya 1-2 damla eklendi ve 30 dk. oda ısısında nemlendirilmiş kapta inkübe edildi. PBS ile 3 defa 5' er dk. süreyle yıkandı. Kromojen olarak 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Distile su ile yıkandı. Hematoksilen (Mayer's) ile 15-20 saniye zıt boyama uygulandı. Çeşme suyu hematoksilenin fazlası uzaklaşınca kadar yıkandı. Bu işlemden sonra sırasıyla; 3' er dk. %80 etanol, %96 etanol, %100 etanol ve ksilolde bekletilerek lamlar entallen yardımıyla lamelle kapatıldı. Kesitler immunpozitifliklerine göre negatif (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Tukey testi uygulanarak değerlendirildi. P<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Ratlarda ACR ile indüklenen nefrotoksisite modelinde Se'nin etkilerini araştırdığımız bu çalışmada, deney gruplarındaki ratların canlı ağırlıkları değerlendirildiğinde başlangıç canlı ağırlıkları arasında farklılık olmadığı, çalışma sonlandırıldığında ACR ve Se0,5+ACR gruplarının canlı ağırlıklarının kontrole göre önemli düzeyde azaldığı belirlendi (Tablo 2., $p<0.05$, $n=10$). Böbrek ağırlıklarının da gruplar arasında farklılık arz etmediği tespit edildi.

Tablo 2. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede deney gruplarındaki ratların deney başlangıcı ve bitişinde canlı ağırlıkları ve böbrek ağırlıkları.

Parametreler	Deney Grupları				
	Kontrol	ACR	Se0,5+ACR	Se1+ACR	Se1
Başlangıç C.A.	221,00±12,56 ^a	216,00±15,58 ^a	218,00±12,57 ^a	217,00±15,66 ^a	214,20±11,62 ^a
Bitiş C.A.	269,10±18,62 ^a	198,50±24,30 ^b	205,40±29,52 ^b	224,50±29,04 ^{ab}	238,60±30,09 ^{ab}
Böbrek Ağırlıkları	1,16±0,09 ^a	0,98±0,13 ^a	1,02±0,13 ^a	1,04±0,09 ^a	1,08±0,21 ^a

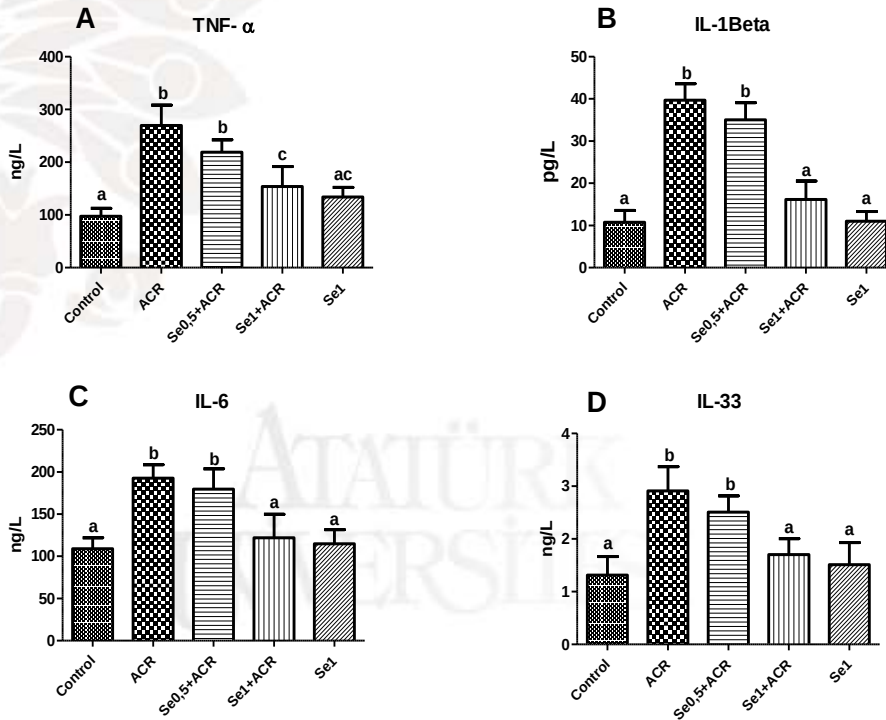
Serum üre ve kreatin düzeylerinin ACR ve Se0,5+ACR gruplarında kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı belirlendi. Se'nin yüksek dozunun ise, üre ve kreatin seviyelerindeki ACR kaynaklı artışı önemli düzeyde baskıladığı tespit edildi (Tablo 3., $p<0.05$, $n=10$).

Renal MDA düzeylerinin ACR ve Se0,5+ACR gruplarında kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı, SOD, GSH, GPx ve CAT aktivitelerinin ise önemli düzeyde azaldığı görüldü. Se'nin özellikle yüksek dozunun, MDA düzeyindeki artışı ve SOD, GSH, GPx ve CAT aktivitelerindeki azalmaları baskıladığı belirlendi (Tablo 3., $p<0.05$, $n=10$).

Tablo 3. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek fonksiyon testleri ve bazı oksidatif stres parametreleri üzerine Se'nin etkileri.

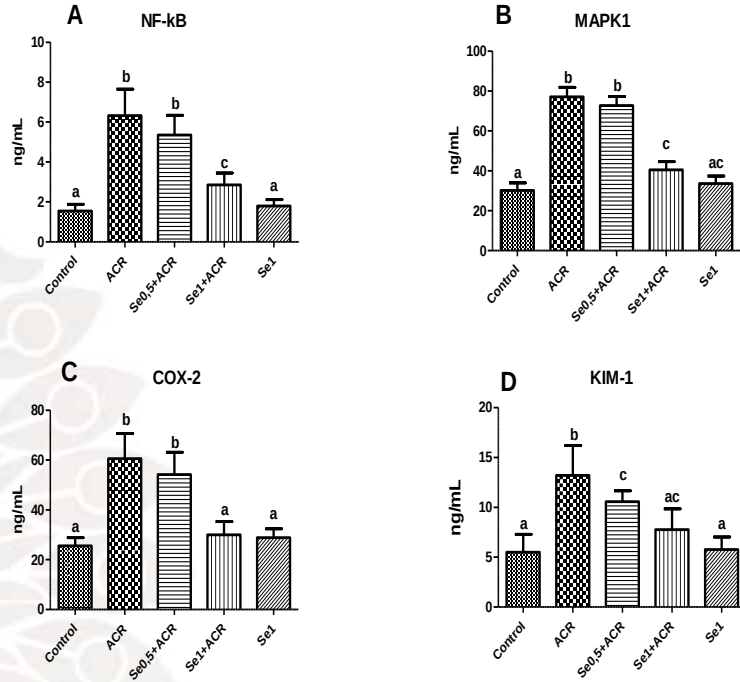
Parametreler	Deney Grupları				
	Kontrol	ACR	Se0,5+ACR	Se1+ACR	Se1
Üre (mg/dL)	34,81±1,75 ^a	50,90±2,12 ^{bc}	46,66±3,44 ^c	40,95±4,98 ^{ac}	37,43±1,76 ^a
Kreatin (mg/dL)	0,67±0,02 ^a	0,82±0,04 ^b	0,76±0,03 ^b	0,70±0,02 ^a	0,66±0,02 ^a
MDA (nmol/mL)	11,86±1,06 ^a	23,00±4,42 ^{bc}	17,04±3,96 ^c	13,83±1,94 ^{ac}	12,47±1,46 ^{ac}
SOD (ng/mL)	13,06±2,81 ^a	7,56±1,61 ^b	8,39±0,94 ^b	10,60±1,70 ^{ab}	12,05±2,48 ^a
GSH (ng/mL)	7,17±1,22 ^a	3,35±0,77 ^b	4,12±0,54 ^b	5,91±0,85 ^a	6,10±1,02 ^a
GPx (ng/mL)	20,60±2,51 ^a	10,90±2,05 ^b	13,77±2,07 ^b	18,05±1,41 ^a	20,24±2,60 ^a
CAT (ng/mL)	9,56±2,05 ^a	4,30±0,89 ^b	5,88±0,50 ^c	6,51±0,84 ^c	9,36±1,44 ^a

Renal TNF- α , IL-6, IL-1 β ve IL-33 seviyelerin ACR grubunda kontrol, Se1+ACR ve Se1 gruplarına kıyasla önemli düzeyde arttığı ve Se'nin 1 mg/kg'lık dozunun bu parametrelerdeki artışı baskıladığı belirlendi (Şekil 1., $p<0.05$, $n=10$).



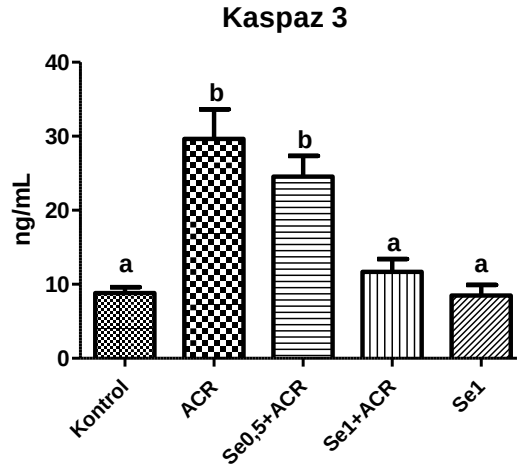
Şekil 1. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal TNF- α (A), IL-1 β (B), IL-6 (C) ve IL-33 (D) seviyeleri üzerine Se'nin etkileri (^{a-b}: $p<0.01$; ^{a-c}, ^{b-c}: $p<0.05$; $n=10$; İstatistiksel farklılık arz eden gruplar farklı harflerle ifade edilmiştir).

ACR grubunun böbrek dokularında NF- κ B, MAPK1, COX-2 ve KIM-1 düzeylerinin kontrol, Se1+ACR ve Se1 gruplarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı (Şekil 2., $p<0.05$, $n=10$). ve Se'nin yüksek dozunun bu değerlerdeki artışı önemli düzeyde baskıladığı (Şekil 2., $p<0.05$, $n=10$), Se'nin düşük dozunun ise sadece KIM-1 değerindeki artışı önlediği (Şekil 2D., $p<0.05$, $n=10$) belirlendi .



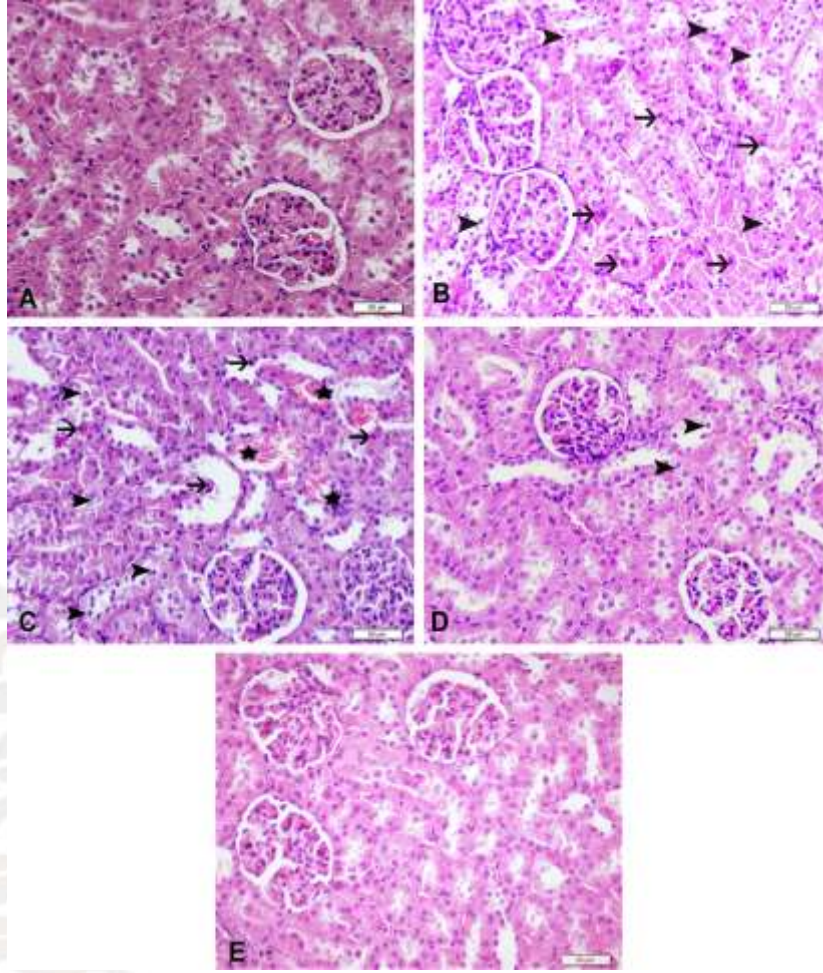
Şekil 2. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal NF- κ B (A), MAPK1 (B), COX-2 (C) ve KIM-1 (D) seviyeleri üzerine Se'nin etkileri ($a-b$: $p<0.01$; $a-c$, $b-c$: $p<0.05$; $n=10$; İstatistiksel farklılık arz eden gruplar farklı harflerle ifade edilmiştir).

Renal Kaspaz-3 aktivitesinin ACR ve Se0,5+ACR gruplarında kontrole göre anlamlı şekilde yüksek olduğu (Şekil 3., $p<0.05$, $n=10$) ve Se'nin düşük dozunun ACR'nin indüklediği Kaspaz-3 aktivitesindeki artışı baskıladığı ancak istatistiksel önem arz etmediği belirlendi (Şekil 3., $p>0.05$, $n=10$). Se'nin yüksek dozunun ise Kaspaz-3 aktivitesindeki artışı önemli düzeyde baskıladığı (Şekil 3., $p<0.05$, $n=10$) ve bu grubun Kaspaz-3 aktivitesinin kontrole benzerlik arz ettiği tespit edildi.



Şekil 3. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede renal kaspaz-3 aktivitesi üzerine Se'nin etkileri (^{a-b}: $p < 0.01$; $n = 10$; İstatistiksel farklılık arz eden gruplar farklı harflerle ifade edilmiştir).

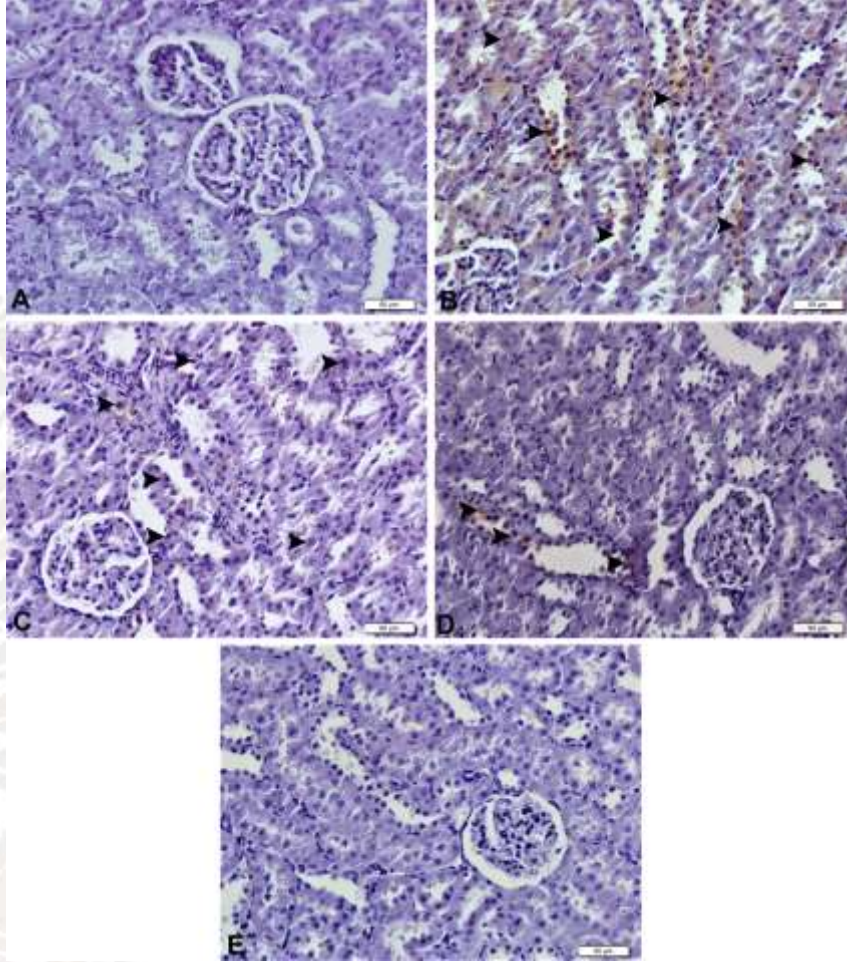
Kontrol grubundaki ratların böbrek dokularının normal histolojik yapıda olduğu (Şekil 4A), ACR grubundaki ratlarda ise, tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon ve nekroz, interstisyel ve glomeruler damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi olduğu belirlendi (Şekil 4B). Se0,5+ACR grubundaki ratların böbrek dokularında tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon, orta düzeyde nekroz, interstisyel ve glomeruler damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi (Şekil 4C), Se1+ACR grubundaki ratların böbrek dokularında ise tubulus epitellerinde hafif düzeyde dejenerasyon, interstisyel ve glomeruler damarlarda hafif düzeyde hipereminin varlığı (Şekil 4D) gözlemlendi. Sadece Se'nin yüksek dozunun uygulandığı Se1 grubunun böbrek dokularının normal histolojik görünümde olduğu belirlendi (Şekil 4E). Histopatolojik bulgular Tablo 4'de özetlendi.



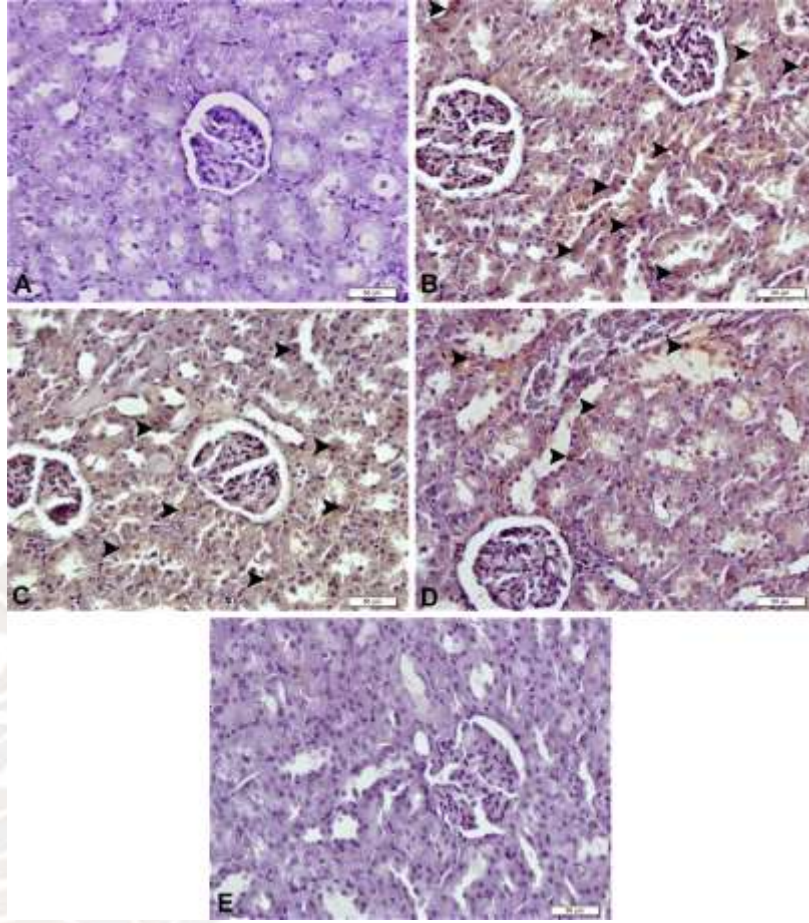
Şekil 4. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek histopatolojisi üzerine Se uygulamasının etkileri, H&E, Bar: 50 µm (**A (Kontrol) ve E (Se1)**: Böbrek dokusu, normal histolojik görünümü; **B (ACR)**: Böbrek tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon (okbaşları) ve nekroz (oklar), interstisyel ve glomeruler damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi; **C (Se0,5+ACR)**: Tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon (okbaşları), orta düzeyde nekroz (oklar), interstisyel ve glomeruler damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi (yıldızlar); **D (Se1+ACR)**: Tubulus epitellerinde hafif düzeyde dejenerasyon (okbaşları), interstisyel ve glomeruler damarlarda hafif düzeyde hiperemi).

Kontrol grubundaki ratların böbrek dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, negatif 8OHdG ve Bax ekspresyonu belirlendi (Şekil 5A ve 6A). ACR grubunun böbrek dokularında ise tubulus epitel hücrelerinde şiddetli düzeyde stoplazmik 8OHdG ve Bax ekspresyonunun varlığı gözlemlendi (Şekil 5B ve 6B). Se0,5+ACR grubunda renal tubulus epitellerinde orta şiddette stoplazmik 8OHdG ve

Bax ekspresyonu (Şekil 5C ve 6C) ve Se1+ACR grubunda da tubulus epitellerinde hafif düzeyde stoplazmik 8OHdG ve Bax ekspresyonları belirlendi (Şekil 5D ve 6D). Se1 grubundaki ratlarda ise renal 8OHdG ve Bax ekspresyonu belirlenmedi (Şekil 5E ve 6E). İmmunhistokimyasal bulgular Tablo 4’de özetlendi.



Şekil 5. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek 8 OHdG ekspresyonu üzerine Se uygulamasının etkileri, IHC-P, Bar: 50 µm (**A (Kontrol) ve E (Se1):** Böbrek dokusu, negatif 8 OHdG ekspresyonu; **B (ACR):** Böbrek tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde stoplazmik 8OHdG ekspresyonu (okbaşları); **C (Se0,5+ACR):** Tubulus epitellerinde orta şiddette stoplazmik 8OHdG ekspresyonu (okbaşları); **D (Se1+ACR):** Tubulus epitellerinde hafif düzeyde stoplazmik 8OHdG ekspresyonu (okbaşları)).



Şekil 6. ACR ile indüklenen nefrotoksisitede böbrek Bax ekspresyonu üzerine Se uygulamasının etkileri, IHC-P, Bar: 50 µm (**A (Kontrol)** ve **E (Se1)**: Böbrek dokusu, negatif Bax ekspresyonu; **B (ACR)**: Böbrek tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde stoplazmik Bax ekspresyonu (okbaşları); **C (Se0,5+ACR)**: Tubulus epitellerinde orta şiddette stoplazmik Bax ekspresyonu (okbaşları); **D (Se1+ACR)**: Tubulus epitellerinde hafif düzeyde stoplazmik Bax ekspresyonu (okbaşları)).

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ

Tablo 4. Deney gruplarındaki ratların böbrek dokularında histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguların skorlanması.

	Kontrol	ACR	Se0,5+ACR	Se1+ACR	Se1
Tubulus epitellerinde dejenerasyon	-	+++	+++	+	-
Tubulus epitellerinde nekroz	-	+++	++	-	-
Damarlarda hiperemi	-	+++	+++	++	-
8 OHdG eksp	-	+++	++	+	-
Bax eksp	-	+++	++	+	-

-: Negatif, +: Hafif, ++: Orta, +++: Şiddetli

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamızda, ratlarda ACR ile indüklenen nefrotoksisitede oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarı üzerine bir iz element olan Se'nin olası etkileri araştırıldı.

Klinikte böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde, serum üre ve kreatinin düzeylerinin ölçümü rutin olarak yapılmaktadır. Yapılan birçok araştırma sonucunda, kan üre ve kreatinin seviyelerinde meydana gelen artışlar renal disfonksiyonun bir belirtici olarak ifade edilmektedir (36,37). Atessahin ve ark. (38) cisplatin uygulaması yapılan ratlarda glomerular filtrasyon oranında azalma meydana geldiğini ve buna bağlı olarak serum üre ve kreatinin düzeylerinde artış olduğunu ifade etmişlerdir. Farklı bir araştırmada da, organofosfatlı bir insektisit olan thimet uygulanan ratlarda böbrek tübüllerinde hasar olduğu, böbrek fonksiyon bozukluğu geliştiği ve serum kreatinin düzeylerinde artış meydana geldiği rapor edilmiştir (39). Gelen ve ark. (40) ratlarda 5-FU ile indükledikleri nefrotoksisite modelinde serum kreatinin ve BUN düzeylerinin önemli düzeyde arttığını ve protektif amaçlı Naringin uygulamasının bu parametrelerdeki artışları inhibe ettiğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda ACR

grubunda serum üre ve kreatinin düzeylerinin kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi. Se'nin özellikle yüksek dozunun, ACR nefrotoksisitesine karşı protektif etki sağladığı ve buna bağlı olarak üre ve kreatinin düzeylerinin toksikasyon grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu ve kontrole farklılık arz etmediği belirlendi.

Hücrelerde yaşamsal faaliyetlerin seyri içerisinde oksidanlar denilen kimyasal bileşikler sürekli açığa çıkmaktadır ve oksidanların üretimi antioksidan sistemler tarafından kontrol edilmektedir. Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması ise oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres birçok hastalığın ve toksisitenin patogenezinde çok önemli roller oynamaktadır (41). Ratlarda deneysel olarak ACR ile indüklenen nefrotoksisite modeli çalışmalarında, ACR uygulanan ratlarda renal MDA düzeylerinde artış ve GSH, GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerinde önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir (42, 43). Literatürle uyumlu bir şekilde bizim çalışmamızda da, ACR uygulamasının renal MDA düzeylerinde artışa, GSH, GPx, SOD ve CAT aktivitelerinde ise önemli düzeyde azalmaya sebep olduğu belirlendi. Soudani N. ve ark. (44) deney hayvanlarında krom ile indükledikleri renal toksisitede Se (0,5 mg/kg) uygulamasının, renal MDA düzeylerindeki artışı ve SOD, GPx ve CAT aktivitelerindeki azalmayı önleyerek kromun sebep olduğu oksidatif stresi baskıladığı belirlemişlerdir. Bir diğer araştırmada, ratlarda kadminyum (Cd) uygulamasına bağlı nefrotoksisitede Se (0,1 mg/kg, 30 gün) uygulamasının, renal MDA düzeylerindeki artışı ve SOD, GSH, GPx ve CAT aktivitelerindeki azalmaları önemli düzeyde önleyerek antioksidan etki oluşturduğu tespit edilmiştir (45). Araştırmamızda literatürle benzer şekilde, Se uygulamasının ACR'nin indüklediği renal oksidatif stresi baskılayarak antioksidan etkinlik gösterdiği belirlendi.

Proinflamatuvar stokinler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 inflamatuvar süreçte, endotelial hücrelerde adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükleyerek, inflamatuvar hücreleri uyarak ve dolaşımdaki lökositlerin endotele yapışmasına sebep olarak inflamasyonun akut cevabının oluşmasına sebep olurlar (46). Proinflamatuvar bir

sitokin olan IL-33 (47), nekrotik hücrelerden salınır ve immün hücreler üzerindeki STR2R reseptörlerine bağlanarak sitokinlerin sekresyonunu artırarak inflamasyonu uyarır (48). Yapılan bir araştırmada, farelerde ACR ile indüklenen nörotoksisitede TNF- α ve IL-1 β düzeylerinde kontrole göre önemli düzeyde artış meydana geldiği ve ACR'nin inflamasyonu indüklediği belirlenmiştir (49). ACR toksisitesinde ROS seviyelerinin artması proinflamatuvar sitokin düzeylerinin artışını uyarmaktadır. Çalışmamızda ACR'nin oksidatif stresi uyardığı ve renal ROS üretimini de indüklediği görüldü. Ghorbel ve ark. (50) ACR uygulanan ratlarda karaciğer TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde kontrole göre anlamlı düzeyde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Kandemir ve ark. (34) böbrekte parasetamol toksisitesinde IL-33 düzeylerinin kontrole göre toksikasyon grubunda arttığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da ACR uygulanan ratlarda toksisite grubunda TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-33 düzeylerinin istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde kontrolden yüksek olduğu ve bu sonuçların literatürle uyumlu olduğu belirlendi. Yapılan bir çalışmada deneysel akut böbrek hasarı oluşturulmuş ratlarda Se uygulamasının antiinflamatuvar etki sağladığı belirlenmiştir (45). Sonuçlarımızın literatürle uyumlu olduğu, ACR'nin renal inflamasyonu uyardığı ve Se uygulamasının antiinflamatuvar etki sağladığı görüldü.

NF- κ B immün ve proinflamatuvar cevaplarda çok önemli role sahip bir transkripsiyon faktörüdür. NF- κ B inflamatuvar cevabı artırır, IL-6, TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini uyarır (51). ROS lar tarafından uyarılan protein kinazlar tarafından forforile edilen I κ B α 'ya sitoplazmada bağlanır. I κ B α 'dan NF- κ B salınması, NF- κ B'yi çekirdeğe yönlendirir ve NF- κ B inflamatuvar sitokinlerin promoter bölgesine bağlanır ve proinflamatuvar genlerin ekspresyonunu artırarak proinflamatuvar sitokin sentezini uyarmaktadır (52). Farklı ajanlar ile indüklenen nefrotoksisite modellerinde NF- κ B aktivitesinde artış meydana gelmektedir. Sahu ve ark. (53) cisplatin ile oluşturdukları nefrotoksisite modelinde toksikasyon grubunda NF- κ B aktivasyonunun kontrole göre önemli düzeyde arttığını belirlemişlerdir. Kalayarasan ve ark (54) gentamisin ile oluşturdukları nefrotoksisite modelinde ise

gentamisin uygulanan ratlarda NF- κ B düzeyinde kontrole göre anlamlı artış olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da ACR uygulanan ratların renal NF- κ B aktivasyonunun kontrole göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi. Ayrıca literatürle (55) uyumlu bir şekilde, Se uygulamasının (özellikle yüksek dozu) NF- κ B aktivasyonunu baskıladığını belirledik.

MAPK yolağı hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptozis ve inflamasyon gibi farklı hücresel aktiviteleri düzenlemektedir (56). Apoptozis ve hücre ölümü JNK ve p38 yolaklarının aktivasyonu ile ilişkilidir ve bu iki yolak birçok hücresel stres ile aktive olur (57-59). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara ACR'nin renal oksidatif stresi indüklediği, artan oksidatif stresin ise renal MAPK1 seviyesinde artışa neden olduğu görüldü. Se uygulamasının hem oksidatif stresi hem de MAPK1 ekspresyonunu önlediği belirlendi.

Yapılan çalışmalar ile ACR karsinogenitesinde COX-2'nin potansiyel etkili olduğu belirlenmiştir. NF- κ B'nin COX-2 ekspresyonunun düzenlenmesinde anahtar transkripsiyon faktördür. ACR uygulamasının NF- κ B ekspresyonunu artırdığı ve buna bağlı olarak da COX-2 ekspresyonunda artış meydana geldiğini hem literatür (60) hem de bizim sonuçlarımız göstermektedir. ACR uygulanan ratlarda serabral korteks (61), karaciğer ve böbrek dokularında (62) COX-2 seviyelerinde kontrole göre önemli düzeyde artış sebep olduğu tespit edilmiş olup, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların literatür ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmamızda Se'nin, ACR toksikasyonuna bağlı COX-2 düzeylerindeki artışı baskılaması literatürle (63, 64) benzer etkiyi oluşturduğu olduğu görüldü.

Böbreklerde KIM-1 düzeyi akut böbrek hasarı durumlarında ciddi düzeyde artar (65). Bazı kimyasal bileşiklerle oluşturulan böbrek toksisitesi modellerinde KIM-1 seviyelerinin kontrole gruplarına göre ciddi düzeyde arttığı belirlenmiştir (66,67). Bizim çalışmamızda da ACR'nin böbrek hasarına sebep olduğu ve KIM-1 düzeylerinin toksikasyon grubunda önemli düzeyde arttığı belirlendi. Ayrıca Se'nin antioksidan ve

antiinflamatuvar etki sağlayarak KIM-1 seviyelerindeki artışı önemli düzeyde önlediği görüldü.

Kaspaz 3, apoptozisin erken evrelerinde aktive olan anahtar bir proteazdır (68). ACR uygulanan ratların siatik sinirleri ve medulla spinalislerinde Kaspaz 3 ekspresyonu ciddi düzeyde artmaktadır (69). Bir başka araştırmada ACR ile indüklenen hepatotoksisitede karaciğer Kaspaz 3 ekspresyonunun anlamlı seviyede arttığı belirlenmiştir (70). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre ACR'nin renal Kaspaz-3 ekspresyonunu ciddi düzeyde artırarak apoptozisi uyardığı, SE'nin özellikle yüksek dozunun bu artışı baskıladığı tespit edildi.

Yapılan araştırmalarda ACR uygulamasının Bowman kapsülünde genişlemeye, tübüler dilatasyona, lökosit infiltrasyonuna ve tübüller arasında ve glomerulus fragmentleri dışında vasküler konjesyona sebep olduğu belirlenmiştir (43, 71). Bizim sonuçlarımıza göre ACR'nin böbrekte tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon ve nekroza, interstisyel ve glomeruler damarlarda şiddetli düzeyde hiperemiye sebep olduğu ve Se'nin yüksek dozunun bu patolojileri önemli düzeyde önlediği, yalnız Se uygulamasının ise böbrek dokusunda herhangi bir patolojiye sebep olmadığı tespit edildi. Yapılan araştırmalarda ACR uygulamasının renal 8 OHdG (72) ve Bax (69) ekspresyonları önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir. Sonuçlarımızın literatürle uyumlu olduğu ve ACR'nin renal 8OHdG ve Bax ekspresyonunu önemli düzeyde artırdığı ve ACR ile birlikte Se'nin yüksek dozun uygulandığı grupta 8OHdG ve Bax ekspresyonunun hafif düzeyde olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak bu araştırmada, ratlarda ACR uygulamasının oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarını uyarak nefrotoksisiteye sebep olduğu, Se'nin özellikle yüksek dozunun antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve genoprotektif etki sağlayarak nefrotoksisiteyi baskıladığı belirlendi. Elde edilen bulgulardan araştırma makalesi hazırlanarak literatüre kazandırılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Besaratinia A, Pfeifer GP, 2007. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. *Carcinogenesis*, 28 (3), 519–528.
2. Jamshidi K, Zahedi A, 2015. Acrylamide-induced acute nephrotoxicity in Rats. *Int J Sci Res Sci Technol*, 1(5), 286-293.
3. Yerlikaya FH, Toker A, Yener Y, 2013. Effects of acrylamide treatment on oxidant and antioxidant levels in rats. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 19(4): 607-612.
4. Kjuus H, Hansteen IL, Ryberg D, Goffeng LO, Øvrebø S, Skaug V, 2005. Chromosome aberrations in tunnel workers exposed to acrylamide and Nmethylolacrylamide. *Scandinavian journal of work, environment & health*. 31(4), 300-306.
5. Schettgen T, Weiss T, Drexler H, Angerer J, 2003. A first approach to estimate the internal exposure to acrylamide in smoking and non-smoking adults from Germany. *International journal of hygiene and environmental health*. 206(1), 9-14.
6. Rydberg P, Eriksson S, Tareke E, Karlsson P, Ehrenberg L, Törnqvist M, 2003. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(24), 7012-7018.
7. Kirsi A, Vesa K, Pekka K, Pivi M, Dan S, Seppo H, Kirsi V, 2008. Transplacental transfer of acrylamide and glycidamide are comparable to that of antipyrine in perfused human placenta. *Toxicology Letters*. 182, 50–56.
8. Becalski A, et al., 2003. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(3), 802–808.
9. Dortaj, H., Anvari, M., Yadegari, M., Hosseini Sharifabad, M., & Abbasi Sarcheshmeh, A. (2017). Stereological Survey of the Effect of Vitamin C on Neonatal Rat Kidney Tissue Treated With Acrylamide. *Modern Medical Laboratory Journal*, 1(2), 42-49.

10. Bortolomeazzi R, Munari M, Anese M, Verardo G, 2012. Rapid mixed mode solid phase extraction method for the determination of acrylamide in roasted coffee by HPLC–MS/MS. *Food Chem.* 135, 2687–2693.
11. Brunton NP, Gormley R, Butler F, et al., 2007. A survey of acrylamide precursors in Irish ware potatoes and acrylamide levels in French fries. *Food Sci Technol.* 40, 1601–1609.
12. Schettgen T, Kütting B, Hornig M, Beckmann M, Weiss T, Drexler H, et al., 2004. Transplacental exposure of neonates to acrylamide a pilot study. *International archives of occupational and environmental health.* 77(3), 213–216.
13. Park J, et al., 2002. Acrylamide-induced cellular transformation. *Toxicological Sciences*, 65(2), 177–183.
14. Santhanasabapathy R, et al., 2015. Farnesol quells oxidative stress, reactive gliosis and inflammation during acrylamide-induced neurotoxicity: behavioral and biochemical evidence. *Neuroscience*, 308, 212–227.
15. Eman B, Abd El-Mottaleb M, Rashed YM, 2008. Some studies on acrylamide intoxication in male albino rats. *Egyptain Journal of Comparative Pathology and Clinical Pathology*, 21(4), 222–245.
16. Totani N, Yawata M, Ojiri Y, Fujioka Y, 2007. Effects of trace acrylamide intake in Wistar rats. *J OleoSci.* 56, 501–516.
17. Mansour MK, Ibrahim EM, El-Kholy MM, El-Madawy SA, 2008. Antioxidant and histopathological effect of catechin and neem leaves extract in acrylamide toxicity of rats. *Egypt J Comp and Clinic Pathol.* 21: 290–313.
18. Abdel-Daim MM, Abd Eldaim MA, Hassan AG, 2014. *Trigonella foenum-graecum* ameliorates acrylamide-induced toxicity in rats: Roles of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and DNA damage. *Biochemistry and Cell Biology.* 93(3), 192–198.

19. Rajeh NA, Al-Dhaheiri NM, 2017. Antioxidant effect of vitamin E and 5aminosalicylic acid on acrylamide induced kidney injury in rats. *Saudi Med J.* 38(2), 132-137.
20. Ghorbel I, Elwej A, Fendri N, et al., 2016. Olive oil abrogates acrylamide induced nephrotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. *Ren Fail.* 39(1), 236-245.
21. Atef H, Attia GM, Rezk HM, El-Shafey M, 2017. Effect of vitamin E on biochemical and ultrastructural changes in acrylamide-induced renal toxicity in rats. *International Journal of Scientific Reports*, 3(5), 134-143.
22. Wan H, Zhu Y, Chen P, Wang Y, Hao P, Cheng Z, ... & Liu J, 2017. Effect of various selenium doses on chromium (IV)-induced nephrotoxicity in a male chicken model. *Chemosphere*, 174, 306-314.
23. Kamel KM, Fawzy HM, Metwally SA, El-Latif HAA, El-sayed ME, 2015. Protective effects of onion oil and selenium against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Egyptian Journal of Hospital Medicine.* 58, 18-25.
24. Gunes S, Sahinturk V, Uslu S, Ayhanci A, Kacar S, Uyar R, 2018. Protective effects of selenium on cyclophosphamide-induced oxidative stress and kidney injury. *Biological trace element research*, 185(1), 116-123.
25. Liu L, Yang B, Cheng Y, Lin H, 2015. Ameliorative effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in the chicken kidney. *Biological trace element research*, 167(2), 308-319.
26. Soudani, N., Troudi, A., Bouaziz, H., Ben Amara, I., Boudawara, T., Zeghal, N., 2011. Cardioprotective effects of selenium on chromium (VI)-induced toxicity in female rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 513-520.
27. Tyszka-Czochara, M., Pasko, P., Zagrodzki, P., Gajdzik, E., Wietecha-Posluszny, R., & Gorinstein, S. (2016). Selenium supplementation of amaranth sprouts influences betacyanin content and improves anti-inflammatory properties via

NFκB in murine RAW 264.7 macrophages. *Biological trace element research*, 169(2), 320-330.

28. El-Ghazaly, M. A., Fadel, N., Rashed, E., El-Batal, A., & Kenawy, S. A. (2016). Anti-inflammatory effect of selenium nanoparticles on the inflammation induced in irradiated rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 95(2), 101-110.
29. Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y., Suh, G. J., & Shin, H. K. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11(1), 36.
30. Demirci, K., Nazıroğlu, M., Övey, İ. S., & Balaban, H. (2017). Selenium attenuates apoptosis, inflammation and oxidative stress in the blood and brain of aged rats with scopolamine-induced dementia. *Metabolic brain disease*, 32(2), 321-329.
31. Jin, X., Xu, Z., Zhao, X., Chen, M., & Xu, S. (2017). The antagonistic effect of selenium on lead-induced apoptosis via mitochondrial dynamics pathway in the chicken kidney. *Chemosphere*, 180, 259-266.
32. Balaban, H., Nazıroğlu, M., Demirci, K., & Övey, İ. S. (2017). The protective role of selenium on scopolamine-induced memory impairment, oxidative stress, and apoptosis in aged rats: the involvement of TRPM2 and TRPV1 channels. *Molecular neurobiology*, 54(4), 2852-2868.
33. Uthra, C., Shrivastava, S., Jaswal, A., Sinha, N., Reshi, M. S., & Shukla, S. (2017). Therapeutic potential of quercetin against acrylamide induced toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86, 705-714.
34. Kandemir, F. M., Kucukler, S., Eldutar, E., Caglayan, C., & Gülçin, I. (2017). Chrysin protects rat kidney from paracetamol-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis, and autophagy: A Multi-biomarker approach. *Scientia pharmaceutica*, 85(1), 4.

35. Mahgoub, E., Kumaraswamy, S. M., Kader, K. H., Venkataraman, B., Ojha, S., Adeghate, E., & Rajesh, M. (2017). Genipin attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by counteracting oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 1083-1097.
36. Morel G, Ban M, Bonnet P, Zissu D, Brondeau MT. Effect of β -naphthoflavone and phenobarbital on the nephrotoxicity of chlorotrifluoroethylene and 1, 1-dichloro-2, 2-difluoroethylene in the rat. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 2005, 25: 153-165.
37. El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. *Food and Chemical Toxicology*, 2004, 42: 1563-1571.
38. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology*, 2005, 212: 116-123.
39. Uzun FG, Kalender Y. Protective effect of vitamins c and e on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. *Gazi University Journal of Science*, 2011, 24: 193-201.
40. Gelen V, Sengul E, Yildirim S, Atila G. The protective effects of naringin against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21: 404-410.
41. Kara A, Gedikli, S, Sengul, E, Gelen, V, Ozkanlar, S. *Oxidative Stress and Autophagy*. 1st ed. London, InTechOpen, Free Radicals and Diseases, 2016, 69-86.
42. Elhelaly, A. E., AlBasher, G., Alfarraj, S., Almeer, R., Bahbah, E. I., Fouda, M. M., ... & Abdel-Daim, M. M. (2019). Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-12.

43. Ghorbel, I., Elwej, A., Fendri, N., Mnif, H., Jamoussi, K., Boudawara, T., ... & Zeghal, N. (2017). Olive oil abrogates acrylamide induced nephrotoxicity by modulating biochemical and histological changes in rats. *Renal failure*, 39(1), 236-245.
44. Soudani, N., Sefi, M., Amara, I. B., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2010). Protective effects of selenium (Se) on chromium (VI) induced nephrotoxicity in adult rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(4), 671-678.
45. El-Boshy, M. E., Risha, E. F., Abdelhamid, F. M., Mubarak, M. S., & Hadda, T. B. (2015). Protective effects of selenium against cadmium induced hematological disturbances, immunosuppressive, oxidative stress and hepatorenal damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 29, 104-110.
46. Ikram N, Khalid H, Samina T. Review article cytokines. *Int J Pathol* 2004; 1: 47–58.
47. Moussion C, Ortega N, Girard J-P. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel 'alarmin'? *PloS one*, 2008, 3: e3331.
48. Lamkanfi M, Dixit VM. IL-33 raises alarm. *Immunity*, 2009, 31: 5-7.
49. Santhanasabapathy, R., Vasudevan, S., Anupriya, K., Pabitha, R., & Sudhandiran, G. (2015). Farnesol quells oxidative stress, reactive gliosis and inflammation during acrylamide-induced neurotoxicity: behavioral and biochemical evidence. *Neuroscience*, 308, 212-227.
50. Ghorbel, I., Maktouf, S., Kallel, C., Chaabouni, S. E., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2015). Disruption of erythrocyte antioxidant defense system, hematological parameters, induction of pro-inflammatory cytokines and DNA damage in liver of co-exposed rats to aluminium and acrylamide. *Chemico-biological interactions*, 236, 31-40.
51. Kopp EB, Ghosh S. NF- κ B and rel proteins in innate immunity. *Adv Immunol*. 1995; 58 1-27

52. Zhu Z, Tang W, Ray A, Wu Y, Einarsson O, Landry ML, Gwaltney Jr J, Elias JA. Rhinovirus stimulation of interleukin-6 in vivo and in vitro: evidence for nuclear factor κ B-dependent transcriptional activation. *J Clin Invest*. 1996; 97:421-430.
53. Sahu, B. D., Kalvala, A. K., Koneru, M., Kumar, J. M., Kuncha, M., Rachamalla, S. S., & Sistla, R. (2014). Ameliorative effect of fisetin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats via modulation of NF- κ B activation and antioxidant defence. *PloS one*, 9(9), e105070.
54. Kalayarasan, S., Prabhu, P. N., Sriram, N., Manikandan, R., Arumugam, M., & Sudhandiran, G. (2009). Diallyl sulfide enhances antioxidants and inhibits inflammation through the activation of Nrf2 against gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 606(1-3), 162-171.
55. Bi, C. L., Wang, H., Wang, Y. J., Sun, J., Dong, J. S., Meng, X., & Li, J. J. (2016). Selenium inhibits *Staphylococcus aureus*-induced inflammation by suppressing the activation of the NF- κ B and MAPK signalling pathways in RAW264. 7 macrophages. *European journal of pharmacology*, 780, 159-165.
56. Kim, E. K., & Choi, E. J. (2015). Compromised MAPK signaling in human diseases: an update. *Archives of toxicology*, 89(6), 867-882.
57. Ho, P. J., Chou, C. K., & Yeh, S. F. (2012). Role of JNK and p38 MAPK in Taiwanin A-induced cell death. *Life sciences*, 91(25-26), 1358-1365.
58. Liu, J., Chang, F., Li, F., Fu, H., Wang, J., Zhang, S., ... & Yin, D. (2015). Palmitate promotes autophagy and apoptosis through ROS-dependent JNK and p38 MAPK. *Biochemical and biophysical research communications*, 463(3), 262-267.
59. Sui, X., Kong, N., Ye, L., Han, W., Zhou, J., Zhang, Q., ... & Pan, H. (2014). p38 and JNK MAPK pathways control the balance of apoptosis and autophagy in response to chemotherapeutic agents. *Cancer letters*, 344(2), 174-179.

60. Lim, T. G., Lee, B. K., Kwon, J. Y., Jung, S. K., & Lee, K. W. (2011). Acrylamide up-regulates cyclooxygenase-2 expression through the MEK/ERK signaling pathway in mouse epidermal cells. *Food and chemical toxicology*, 49(6), 1249-1254.
61. He, Y., Tan, D., Mi, Y., Zhou, Q., & Ji, S. (2017). Epigallocatechin-3-gallate attenuates cerebral cortex damage and promotes brain regeneration in acrylamide-treated rats. *Food & function*, 8(6), 2275-2282.
62. Wang, D., Qi, J., Pan, X., Yan, D., & Yan, H. (2016). The antagonistic effect and mechanism of renal toxicity. *Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi= Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi= Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases*, 34(1), 13-17.
63. Hamid, M., Abdulrahim, Y., Liu, D., Qian, G., Khan, A., & Huang, K. (2018). The Hepatoprotective Effect of Selenium-Enriched Yeast and Gum Arabic Combination on Carbon Tetrachloride-Induced Chronic Liver Injury in Rats. *Journal of food science*, 83(2), 525-534.
64. Khalil, W., & Booles, H. (2011). Protective role of selenium against over-expression of cancer-related apoptotic genes induced by o-cresol in rats. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 62(2), 121-129.
65. Bonventre, J. V., & Yang, L. (2010). Kidney injury molecule-1. *Current opinion in critical care*, 16(6), 556-561.
66. Yang, C., Guo, Y., Huang, T. S., Zhao, J., Huang, X. J., Tang, H. X., ... & Liu, H. F. (2018). Asiatic acid protects against cisplatin-induced acute kidney injury via anti-apoptosis and anti-inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 1354-1362.
67. Quirós, Y., Blanco-Gozalo, V., Sanchez-Gallego, J. I., López-Hernandez, F. J., Ruiz, J., de Obanos, M. P. P., & López-Novoa, J. M. (2016). Cardiotrophin-1 therapy prevents gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacological research*, 107, 137-146.

68. Yang GS, Wang W, Wang YM, Chen ZD, Wang S, Fang JJ. Effect of cocaine on germ cell apoptosis in rats at different ages. *Asian J Androl* 2006;8(5):569-75.
69. Li, S. X., Cui, N., Zhang, C. L., Zhao, X. L., Yu, S. F., & Xie, K. Q. (2006). Effect of subchronic exposure to acrylamide induced on the expression of bcl-2, bax and caspase-3 in the rat nervous system. *Toxicology*, 217(1), 46-53.
70. Seydi, E., Rajabi, M., Salimi, A., & Pourahmad, J. (2015). Involvement of mitochondrial-mediated caspase-3 activation and lysosomal labilization in acrylamide-induced liver toxicity. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 97(5), 563-575.
71. Ghorbel, I., Maktouf, S., Fendri, N., Jamoussi, K., Ellouze Chaabouni, S., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2016). Co-exposure to aluminum and acrylamide disturbs expression of metallothionein, proinflammatory cytokines and induces genotoxicity: Biochemical and histopathological changes in the kidney of adult rats. *Environmental toxicology*, 31(9), 1044-1058.
72. Alturfan, A. A., Tozan-Beceran, A., Şehirli, A. Ö., Demiralp, E., Şener, G., & Omurtag, G. Z. (2012). Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Molecular biology reports*, 39(4), 4589-4596.