



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2020; 34 (3): 185 - 189
http://www.fusabil.org

Meltem KIZIL^{1, a}
Mehmet ÇAY^{1, b}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-6457-6809

^b ORCID: 0000-0003-3896-0042

Benzo(a)piren Uygulanan Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri

Bu çalışmada, benzo(a)piren (BaP) uygulanan ratlarda E vitamini ve selenyumun biyokimyasal parametreler üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, 80 adet dişi Wistar Albino rattan dört eşit grup oluşturulmuştur. Bu gruplar; 1. Kontrol grubu, 2. BaP grubu, 3. BaP+E vitamini grubu ve 4. BaP+selenyum grubu olarak belirlenmiştir. BaP uygulanan ratlara 10.08 mg dozunda BaP deri altı yolla bir kez verilmiştir. E vitamini uygulanan ratlara aynı dozda BaP uygulamasına ilaveten 1 mg/kg dozunda E vitamini kas içi yolla gün aşırı; selenyum uygulanan ratlara ise yine aynı dozda BaP uygulamasının yanı sıra 0.8 mg/kg dozunda selenyum intraperitoneal yolla gün aşırı uygulanmıştır. E vitamini ve selenyum uygulamaları 12 hafta süre ile devam etmiştir. Kontrol grubuna ise Plasebo olarak intraperitoneal serum fizyolojik uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen plazma örneklerinde kan üre nitrojeni, kreatinin, total protein, albumin, total bilirubin, direk bilirubin, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein, çok düşük dansiteli lipoprotein, alanin amino transferaz ve aspartat amino transferaz düzeyleri belirlenmiş olup, gruplar arasında üre, total protein, total bilirubin, yüksek dansiteli lipoprotein ve alanin amino transferaz düzeyleri bakımından farklılıklar tespit edilmiştir. Sonuç olarak, BaP kaynaklı olarak oluşabildiği düşünülen böbrek ve karaciğer hasarına karşı E vitamini ve selenyumun koruyucu etkileri bu çalışmada belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Benzo(a)piren, E vitamini, selenyum, biyokimyasal parametreler

The Effects of Vitamin E and Selenium on Some Biochemical Parameters in Rats Exposed to Benzo(a)pyrene

In this study, the effects of vitamin E and selenium on biochemical parameters in rats treated with benzo(a)pyrene (BaP) were investigated. For this purpose, 80 female Wistar Albino rats were divided into four equal groups. These groups were; 1. Control group, 2. BaP group, 3. BaP+vitamin E group and 4. BaP+selenium group. BaP was administered subcutaneously once at a dose of 10.08 mg to rats treated with BaP. In addition to the same dose of BaP administration to rats administered vitamin E, 1 mg/kg dose of vitamin E was administered intramuscularly every other day. In addition to the same dose of BaP application, selenium at a dose of 0.8 mg/kg was administered intraperitoneally every other day. Vitamin E and selenium applications continued for 12 weeks. Intraperitoneal saline was administered to the control group as placebo. Blood urea nitrogen, creatinine, total protein, albumin, total bilirubin, direct bilirubin, cholesterol, high density lipoprotein, very low density lipoprotein, alanine amino transferase and aspartate amino transferase levels were determined in serum samples obtained as a result of the study, and urea, total protein, total bilirubin, high density lipoprotein and alanine amino transferase levels were different. In conclusion, the protective effects of vitamin E and selenium against kidney and liver damage that is thought to be caused by BaP were determined in this study.

Key Words: Benzo(a)pyrene, vitamin E, selenium, biochemical parameters

Geliş Tarihi : 01.10.2020
Kabul Tarihi : 03.11.2020

Giriş

Benzo(a)piren (3,4-benzopyrene, BaP), polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) sınıfında yer alan, çevresel ve endüstriyel kirlenmede önemli role sahip, toksik etkili bir maddedir. Bu madde immun sistemi baskılayıcı ve canlıların farklı dokularında güçlü kanser yapabilme yeteneğine sahiptir. BaP diyetle, çalışma ortamlarında, sigara dumanında ve çevrede yaygın olarak bulunur (1). BaP'a maruz kalma, özellikle bu maddeyle bulaşık gıda ve suların alınması veya kirli havada ve sigara dumanında bulunan partiküllerin inhalasyonu yoluyla olmaktadır (2, 3).

Ratlarda BaP'in ağız yoluyla alınmasından kısa süre sonra (1-3 saat) dokulara yayılma başlamaktadır ve bu yayılma en fazla karaciğerde, daha az oranda ise akciğer, böbrek ve beyin dokusunda olmaktadır. Ayrıca BaP'in kan beyin engelini kolayca geçtiği ifade edilmektedir (4-7). BaP, membran lipitleriyle reaksiyona girerek, ya süperoksit radikal seviyesindeki artışın ya da serbest radikal temizleyicilerinin ortadan kaldırılmasının bir sonucu olarak lipid peroksidasyonunda artışa neden olur (5, 8, 9). BaP'in biyolojik sistemlerde serbest radikaller oluşturmak suretiyle normal hücrenin işleyişini bozduğu ve akciğer kanseri başta olmak üzere çok sayıda kanser türüne neden olduğu belirtilmektedir (5, 10, 11). Yeni doğan farelerin yaşamlarının ilk 15 gününde karın zarlarına ve deri altlarına BaP ve diğer PAH'lar enjekte edildiğinde altı ay içerisinde akciğer ve karaciğer tümörleri görülmüştür (12, 13).

Yazışma Adresi Correspondence

Meltem KIZIL
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Fizyoloji Anabilim Dalı,
Elazığ – TÜRKİYE

mkizil@firat.edu.tr

BaP'in tümör oluşturma etkisi E vitamini ve selenyum (Se) gibi antioksidanlar tarafından inhibe edilebilir. Antioksidanların bu etkilerini hidrokarbonların in vivo olarak kanserojen epoksitlere ve/veya diğer elektrofilik ürünlere dönüşümünü engelleyerek gösterdikleri belirtilmektedir (14).

E vitamininin en önemli fonksiyonu, biyolojik sistemlerde zincir kırıcı bir antioksidan olarak serbest radikal reaksiyonlarının yayılmasını önlemesi ve hücreleri lipid peroksidasyonuna (LPO) karşı korumasıdır (5, 15-17). Serbest radikallerin oluşturduğu LPO nedeniyle hücrelerin biyomoleküllerinde inhibisyon ve fonksiyon bozuklukları oluşur. Bunun sonucunda DNA hasarı gerçekteşir. E vitamininin, genotoksik etkili serbest radikallerle reaksiyona girerek, serbest radikalleri temizlediği ve böylece hücre membranını stabilize ettiği belirtilmiştir. E vitamini, hücrede gerçekteşen 35 oksidasyon-redüksiyon olaylarında etkilidir. Etkisini, tümör gelişimine neden olan aktif kanserojen maddelerin DNA'ya bağlanmasını ve kromozomlarda oluşturduğu kötü etkileri inhibe ederek gösterir (18). E vitamini Se metabolizmasında da önemli rol oynar. Se, E vitamininin lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. E vitamini ise Se'un organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak Se ihtiyacını azaltır (19, 20).

Se, insan ve hayvanların normal gelişimini sürdürebilmeleri için gerekli olan, esansiyel iz elementlerden biridir. Vücudun en önemli antioksidan enzimi olan glutatyon peroksidazın (GSH-Px) bir komponentidir. Se biyolojik bir siklusla topraktan bitkilere, hayvanlara, insanlara geçer. Organizmada eser miktarda bulunduğu için dışardan alınması gerekmektedir (21). Emilen Se plazma proteinlerine bağlanarak taşınır ve ulaştığı dokuların yapısına girer. Plazma proteinlerine bağlanarak kemik, saçları içine alan tüm vücut dokularına özellikle de böbrek, karaciğer, kalp, pankreas dokularına ayrıca süt proteinlerine, alyuvar ve akyuvarlara taşınmaktadır (21, 22). Se, GSH-Px'in bir komponenti olması nedeniyle, lipidlerin oksidasyonu sonucunda oluşan peroksitlerin yıkılmasında önemli rol oynar. Böylece, hücre zarlarının bütünlüğünün sağlanması ve korunmasında etkin fizyolojik bir görev üstlenir (22-24). Sıçanlarda Se eksikliği sonucu karaciğer nekrozu, testislerde dejenerasyon, gelişmede yavaşlama, böbreklerde tubüler dejenerasyonlar şekillenmektedir. Se yetersizliği nedeniyle, özellikle genç hayvanlarda meydana gelen bozukluklardan biri de beyaz kas hastalığıdır (25). Se birçok biyolojik işlemde rol oynamasının yanı sıra (26), pankreasın bütünlüğünü koruyarak yağ sindiriminin düzenli olmasını sağlar. E vitamininin kan plazmasında tutulmasına yardımcı olur. Serbest radikalleri suya dönüştürerek E vitamininin kullanımını azaltır. Se'un bu etkileri E vitamini ihtiyaçlarını olumlu yönde etkilemektedir (27-29). Özellikle de E vitamini ve Se serbest radikallerin elimine edilmesinde önemli görevler üstlenmektedir (30-32). Ayrıca yeterli düzeydeki Se, hücre proliferasyonunu ve benzer etki mekanizmasıyla protein sentezinin azalmasını önlemektedir (33).

Bu projede benzo(a)piren uygulanan ratlarda E vitamini ve Se biyokimyasal parametreler üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar üzerinde uygulanan tüm prosedürler, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış etik kurul izin belgesi (Onay Numarası B.30.2.FIR.0.06.00.00/03/477) ile ve ilgili yasalara ve kullanım standartlarınca belirlenen kurallara bağlı olarak gerçekteştirilmiştir.

Bu çalışmada ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 10-12 haftalık 80 adet dişi Wistar albino rat kullanıldı. Araştırmada kullanılan dişi Wistar albino ratlar her grupta 20 adet rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Ratlar çalışmaya başlamadan bir ay önce alınarak ortama adaptasyonları sağlandı. Araştırmada her birine beş adet rat konulabilen özel kafesler kullanıldı. Ratlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Kontrol grubu hariç diğer gruplarda bulunan ratlara tricapyrylin içinde çözdürülerek 10.08 mg dozunda BaP deri altı yolla tek doz uygulandı. Bu gruplar aşağıda belirtilmiştir.

1. Grup (Kontrol Grubu): Plasebo olarak periton içi yolla serum fizyolojik uygulandı.

2. Grup (BaP Grubu): Tek doz BaP (10.08 mg, deri altı) uygulandı.

3. Grup (BaP+E vitamini grubu): Tek doz BaP (10.08 mg, deri altı) enjeksiyonuna ilaveten ratlara gün aşırı E vitamini (100 mg/kg, periton içi) uygulandı.

4. Grup (BaP+Selenyum grubu): Tek doz BaP (10.08 mg, deri altı) uygulamasına ilaveten ratlara gün aşırı Se (0.8 mg/kg, periton içi) verildi.

E vitamini ve Se uygulamaları 12 hafta süre ile devam etmiştir. Uygulama sonunda ratlardan kan örnekleri alınarak plazmaları çıkarılmış ve analiz edilinceye kadar -20 ° C'de saklanmıştır. Alınan plazma örneklerinde kan üre nitrojeni, kreatinin, total protein, albumin, total bilirubin, direk bilirubin, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein, çok düşük dansiteli lipoprotein, alanin amino transferaz ve aspartat amino transferaz düzeyleri düzeyleri ticari test kitleri kullanılarak biyokimya analizörü (Bio Clinica, Advia 1650, İrlanda) kullanılarak belirlenmiştir.

Bulguların değerlendirilmesinde SPSS istatistik paket programı (IBM SPSS Versiyon 22.0) kullanılmıştır. Bulgular için parametrik testlerin ön şartlarından olan varyansların homojenliğine "Levene" testi ile normallik varsayımına ise "Shapiro Wilk" testi ile bakılmıştır. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve grupların çoklu karşılaştırmalarında post-hoc analizi olarak "Tukey" testi kullanılmıştır. Bulgular gruplar için ortalama ve standart sapma olarak sunulmuş olup, istatistiksel anlamlılık düzeyi P<0.05 olarak kabul edilmiştir (34).

Tablo 1. Kontrol ve çalışma gruplarında saptanan biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri, standart sapmaları ve istatistiksel önem dereceleri

Parametreler	Gruplar				P değeri
	Kontrol	BAP	BAP+E	BAP+Se	
Üre (mg/dL)	45.10±6.62 ^b	63.90±5.24 ^a	46.10±7.28 ^b	52.50±8.71 ^b	0.001
Kreatinin (mg/dL)	0.61±0.03	0.64±0.05	0.63±0.05	0.62±0.05	0.439
Total protein (g/dL)	7.32±0.42 ^a	6.73±0.41 ^b	7.06±0.48 ^{ab}	6.96±0.15 ^{ab}	0.015
Albümin (g/dL)	3.52±0.48	3.20±0.30	3.51±0.27	3.49±0.27	0.123
Total bilirubin (mg/dL)	0.93±0.37 ^b	1.40±0.51 ^a	1.17±0.17 ^{ab}	1.16±0.12 ^{ab}	0.030
Direk bilirubin (mg/dL)	0.52±0.23	0.69±0.50	0.65±0.10	0.58±0.10	0.579
Kolesterol (mg/dL)	74.00±9.09	65.30±10.07	65.50±14.4	71.10±7.72	0.196
HDL (mg/dL)	35.60±4.90	27.90±6.24	32.40±7.53	33.30±7.38	0.085
VLDL (mg/dL)	20.50±6.70 ^a	17.20±7.77 ^a	9.90±4.36 ^b	17.50±3.17 ^a	0.002
ALT (U/L)	49.00±13.86 ^b	66.20±17.36 ^a	48.90±9.86 ^b	58.70±10.75 ^{ab}	0.015
AST (U/L)	272.70±73.00	325.50±83.40	242.90±82.40	247.80±54.32	0.067

Üre: Kan üre nitrojeni; HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein; VLDL: Düşük dansiteli lipoprotein; ALT: Alanin aminotransferaz; AST: Aspartat aminotransferaz.

Değerler ortalama değer ve standart sapma olarak sunulmuştur.

a, b, c: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiksel önem vardır (One-way ANOVA ve *post hoc* Tukey test P<0.05).

Bulgular

Çalışmada uygulama yapılan tüm gruplardaki ratlara ait biyokimyasal verilerin ortalama değerleri, standart sapmaları ve istatistiksel önem dereceleri Tablo 1'de toplu olarak sunulmuştur.

Bu tablo incelendiğinde kontrol grubu ile uygulama grupları arasında kreatinin, albumin, direk bilirubin, kolesterol, yüksek dansiteli lipoprotein ve aspartat amino transferaz düzeyleri bakımından fark olmadığı anlaşılmaktadır. Yine yukarıda bahsedilen değerlerden albümin, kolesterol ve yüksek dansiteli lipoprotein düzeylerinin BaP grubunda diğer gruplara nazaran düşük, kreatinin, direk bilirubin ve AST düzeylerinin ise daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Üre düzeyleri bakımından BAP grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu (P<0.001); total protein ve total bilirubin düzeyleri bakımından kontrol grubu ile BAP grubu arasında istatistiksel önem olduğu (P<0.05); çok düşük dansiteli lipoproteinler (P<0.01) bakımından BAP+E grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı olduğu; alanin aminotransferaz düzeyi bakımından ise BAP grubunun kontrol ve BAP+E grubundan istatistiksel olarak farklı olduğu (P<0.05) anlaşılmaktadır.

Tartışma

Böbrekler, karaciğer ve akciğerler BaP metabolizmasında rol oynarlar. Böbrekler (ve de karaciğer), ksenobiyotikler tarafından seçici olarak

hedeflenen ve zarar gören organlardır. Böbrekler fazla miktarda kan akımına maruz kaldıkları için, ksenobiyotiklere maruz kalma durumunda birim zaman başına fazla miktarda bu maddeye maruz kalırlar. Aynı zamanda böbrekler ksenobiyotik metabolize edici enzimleri (sitokrom P450s) fazla miktarda içerir. Bu enzimler tarafından metabolize edilen bileşikler böbrek hücreleri ile etkileşime girebilir ve böbreklere zarar verebilirler. Polisiklik aromatik hidrokarbonlara (PAH), özellikle BaP'a, kronik maruz kalma, DNA hasarına neden olabilecek yüksek bir mutagenез oranı ile ilişkilidir (35-37).

BaP radikallerinin redoks döngüsüne maruz kalma potansiyeli, süperoksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin üretimini uyarak böbreklerde oksidatif hasara neden olabilir (38). Çalışma sonuçları incelendiğinde her ne kadar istatistiksel önem derecesi saptanmamış olsa da, BaP uygulanan gruplarda kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna nazaran yüksek saptandığı görülmektedir. BaP grubundaki serum kreatinin konsantrasyonlarındaki bu artışın, böbreklerin BaP'ın reaktif metabolitlerine maruz kalması nedeniyle dereceli olarak fonksiyonlarının bozulmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu bulgu BaP uygulanan farelerde serum kreatinin düzeylerinde artış olduğunu bildiren yayınlarla da (38, 39) uyumlu bulunmuştur.

Böbrek fonksiyon bozukluğunu ve/veya hastalığını işaret eden klirens oranını aştığında kanda üre düzeyleri

artar (40). Mevcut çalışmanın sonuçları incelendiğinde kontrol grubuna nazaran BaP uygulanan diğer gruplarda kan re (BUN) düzeylerinin daha yüksek olduğu ve özellikle en yüksek düzeyin sadece BaP uygulanan grupta olduğu dikkati çekmektedir. Serum re konsantrasyonundaki artış, BaP uygulamasına bağlı olarak kanda reaktif oksijen türlerinin ortaya çıkması ile proteinlerin ve enzimlerin zarar görmesi nedeniyle gerçekleşmiş olabilir. Ayrıca bu olayda azalan böbrek fonksiyonları da etkili olmuş olabilir. Yapılan bir çalışmada da benzer şekilde BaP uygulanan sıçanların kan serumlarında üre düzeylerinde artış belirlenmiştir (39).

Bu çalışmada karaciğer fonksiyonlarının bir göstergesi olarak belirlenen total protein ve albümin düzeyleri bakımından kontrol grubundaki değerlerin diğer gruplara nazaran yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Her ne kadar albümin düzeyleri bakımından istatistiksel önem belirlenmemiş olsa da, bu durumun nedeni olarak uygulanan BaP'in karaciğer fonksiyonlarına vermiş olduğu hasar düşünülmektedir. Benzer şekilde total bilirubin düzeylerinin ve özellikle de direk bilirubin düzeylerinin kontrol hayvanlarına nazaran BaP uygulanan gruplarda yüksek saptanması, uygulamaya bağlı olarak karaciğer hücre fonksiyonlarındaki azalmanın göstergesi olarak kabul edilebilir. Bu öngörüyü destekleyen diğer bir bulgu da, ALT ve AST gibi enzimlerin kontrol hayvanlarına

nazaran BaP uygulanan gruplardaki düzeylerinin artmış olmasıdır. Çünkü ALT ve özellikle AST' deki yükselme, kronik hepatosellüler disfonksiyonu göstermekte olup, fareler üzerinde yapılan bir çalışmada (41), BaP uygulamasına bağlı olarak karaciğer enzimlerinde artış belirlenmiştir.

Kontrol grubundaki ratlarda kolesterol, HDL ve VLDL değerleri diğer gruplara nazaran yüksek saptanmıştır. Diğer gruplarda düzeylerin düşük olmasının nedeni olarak ta yine BaP uygulanan gruplarda muhtemelen oluşan karaciğer hasarı düşünülmüştür. Bu duruma özellikle yetersiz VLDL üretiminin neden olduğu düşünülmektedir, çünkü VLDL sentezinin azalması, bu maddeden köken alan LDL ve kolesterol düzeylerinin de azalmasına neden olmaktadır.

Sonuç olarak, düzeyleri belirlenen parametreler yönünden özellikle BaP yanında E vitamini ve Se uygulanan gruplarda karaciğer ve böbreklere ait parametrelerin gerek üretim gerekse salgılanma fonksiyonlarının daha az oranda etkilendiği ve bu durumun başlıca E vitamini ve Se'un serbest radikal oluşumu ve bunların eliminasyonu üzerine olan pozitif etkilerinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Dolayısı ile bu alışma, BaP kaynaklı oksidatif hasara ve buna bağlı olarak oluşan böbrek ve karaciğer hasarına karşı E vitamini ve Se'un koruyucu etkisini de göstermektedir.

Kaynaklar

1. Sandeep A, Amar PK, Kanchan T. A comprehensive review of benzo alpha pyrene (B[A]P) toxicology. *Res J Pharma Biol Chem Sci* 2018; 9: 1049-1058.
2. Das UN. Effect of anti-oxidants, free radical quenchers and siklo oksigenase inhibitor on benzo(a)pyrene-induced suppression of human lymphocyte mitogenesis in vitro. *Med Sci Monit* 2002; 8: 205-207.
3. Philips DH. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutat Res* 1999; 443: 139-147.
4. Das M, Mukhtar H, Seth P. Distribution of benzo(a)pyrene in discrete regions of the rat brain. *Bull Environ Contam Toxicol* 1985; 35: 500-504.
5. Evangelou A, Kalpouzou G, Karkabounas S, et al. Dose-related preventive and therapeutic effects of antioxidants-anticarcinogens on experimentally induced malignant tumors in Wistar rats. *Cancer Letters* 1997; 115: 105-111.
6. Chongying Q, Shuqun C, Yinyin X, et al. Effects of subchronic benzo(a)pyrene exposure on neurotransmitter receptor gene expression in the rats hippocampus related with spatial learning and memory change. *Toxicology* 2011; 289: 83-90.
7. Lipsa D, Bhupesh P, Manorama P. Adolescence benzo[a]pyrene treatment induces learning and memory impairment and anxiolytic like behavioral response altering neuronal morphology of hippocampus in adult male Wistar rats. *Toxicol Rep* 2019; 16: 1104-1113.
8. Badary OA, AbdEl-Gavad HM, Taha RA, Ali AA, Hamada FMA. Effects of benzo(a)pyrene on tissue activities of metabolising enzymes and antioxidant system in normal and protein-malnourished rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 86-91.
9. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer Lett* 1998; 132: 219-227.
10. Boutin AC, Shirali P, Garon G, et al. Peripheral markers (clara cell protein and α -glutathione S-transferase) and lipidperoxidation (malondialdehyde) assesment in sprague-dawley rats instilled with haematite and benzo(a)pyrene. *J Appl Toxicol* 1998; 18: 39-45.
11. Kim HS, Kwack SJ, Lee BM. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes, and benzo(a)pyrene – quinones in the blood of rats treated with benzo(a)pyrene. *Chem-Biol Interact* 2000; 127: 139-150.
12. Platt KL, Pfeiffer E, Petrovic P, et al. Comparative tumorigenicity of picene and dibenz[a,h]anthracene in the mouse. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1721-1726.
13. Busby WF, Stevens EK, Martin CN, Chow FL, Garner RC. Comparative lung tumorigenicity of parent and mononitro-polynuclear aromatic hydrocarbons in the BLU: Ha newborn mouse assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 99: 555-563.
14. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res* 2010; 44: 479-496.
15. Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. Vitamin E: Protective role of a janus molecule. *FASEB J* 2001; 15: 2314-2325.
16. Hidiroglou N, Cave N, Atwall AS, Farnworth ER, McDowell LR. Comparative vitamin E requirements and metabolism in livestock. *Ann Rech Vet* 1992; 23: 337-359.

17. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-Induced cancer. *Chem-Biol Interact* 2006; 160: 1-40.
18. Politis I. Reevaluation of vitamin E supplementation of dairy cows: bioavailability, animal health and milk quality. *Animal* 2012; 6: 1427-1434.
19. Scholz RW, Minicucci LA, Reddy CC. Effects of vitamin E and selenium on antioxidant defense in rat heart. *Biochem Mol Biol Int* 1997; 42: 997-1006.
20. Melinda AB. Selenium and vitamin E status: Impact on viral pathogenicity. *J Nutr* 2007; 137: 1338-1340.
21. Karakılıç AK, Aksakal M. Selenyumun bazı fizyolojik işlevleri, metabolizması ve E vitamini ile arasındaki ilişkileri. *Gaziantep Üniv Tıp Fak Derg* 1993; 4: 283-291.
22. Youcef M, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* 2013; 18: 3292-3311.
23. Reka T, Janos C. The role of selenium in nutrition – A review. *Acta Universitatis Sapientiae Alimentaria* 2018; 11: 128-144.
24. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. *Ann NY Acad Sci* 1992; 669: 7-15.
25. Rita S, Nancy LM. A review of dietary selenium intake and selenium status in Europe and the Middle East. *Nutrients* 2015; 7: 1494-1537.
26. Nazıroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy AO. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 2004; 195: 221-230.
27. Finch JM, Turner RJ. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Res Vet Sci* 1996; 60: 97-106.
28. El-Hammady AKI, Seham AI, El-Kasheif MA. Synergistic reactions between vitamin E and selenium in diets of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) and their effect on the growth and liver histological structure. *Egypt J Aquat Biol & Fish* 2007; 11: 53-81.
29. Wilson RL. Vitamin, selenium, zinc and copper interactions in free radical protection against ill-placed iron. *Proc Nutr Soc* 1987; 46: 27-34.
30. Wahiba A, Nesrine A, Fatiha B, et al. Modulatory role of selenium and vitamin E, natural antioxidants, against bisphenol a-induced oxidative stress in wistar albinos rats. *Toxicol Res* 2018; 34: 231-239.
31. Dreher D, Junot AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Cancer* 1996; 32: 30-38.
32. El Demerdash FM. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *J Trace Elements Med Biol* 2004; 18: 113-121.
33. Jia XA, Zhou LH, Wu, YN, et al. Relationship between selenium and protein synthesis in cells and subcellular fractions in rat liver. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1989; 3: 29-34.
34. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. 9. Baskı, Ankara: Hatipoğlu Yayınları, 2000.
35. Briede JJ, Godschalk RW, Emans MT, et al. In vitro and in vivo studies on oxygen free radical and DNA adduct formation in rat lung and liver during benzo[a]pyrene metabolism. *Free Radic Res* 2004; 38: 995-1002.
36. Shen J, Desai M, Agrawal M, et al. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and DNA repair capacity phenotype in sisters discordant for breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1614-1619.
37. Karami S, Boffetta P, Brennan P, et al. Renal Cancer Risk and Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Plastics. *J Occup Environ Med* 2011; 53: 218-223.
38. Ogbonna CU, Ujowundu CO, Okwu GN, et al. Biochemical and histological evaluation of benzo[a]pyrene induced nephrotoxicity and therapeutic potentials of Combretum zenkeri leaf extract. *African J Pharmacy and Pharmacol* 2016; 10: 873-882.
39. Cosan D, Basaran A, Degirmenci I, Gunes HV, Aral E. The effect of paclitaxel on rats following benzopyrene treatment. *Saudi Med J* 2008; 29: 657-661.
40. Reddy TS, Shama KP, Nirmala P, Shastry CS. Biochemical studies on hepato and nephroprotective effect of butterfly tree (*Bauhinia purpurea* Linn.) against acetaminophen-induced toxicity. *IJRAP* 2012; 3: 455-460.
41. Chun D, Fan D, Jianghong G, et al. Acute benzo[a]pyrene treatment causes different antioxidant response and DNA damage in liver, lung, brain, stomach and kidney. *Heliyon* 2018; e00898.