Bülent YAVUZER

TIBBI FARMAKOLOJİ ANA BİLİM DALI

DOKTORA

2024



T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

CEREBROLYSİN'İN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN BEYİN HASARINA ETKİSİ: BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Bülent YAVUZER

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

TIBBI FARMAKOLOJİ
ANA BİLİM DALI

ERZİNCAN
Haziran 2024
Her Hakkı Saklıdır.

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

CEREBROLYSİN'İN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN BEYİN HASARINA ETKİSİ: BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Bülent YAVUZER

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

TIBBI FARMAKOLOJİ
ANA BİLİM DALI

ERZİNCAN
Haziran 2024
Her Hakkı Saklıdır.

Bu tez BAP tarafından TDK -2023-926 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Cerebrolysinin sıçanlarda favipiravir ile indüklenen beyin hasarına etkisi: Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme” isimli “Doktora” tezim tarafımca intihal tespit programı ile incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik ihlali ve intihal olarak nitelendirilebilecek herhangi bir durum olmadığını taahhüt ederim.

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir biçimde elde edildiğini; aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 27/06/2024

(İmza)

Bülent YAVUZER

ÖZET

Doktora Tezi

CEREBROLYSİN'İN SIÇANLARDA FAVİPİRAVİR İLE İNDÜKLENEN BEYİN HASARINA ETKİSİ: BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Bülent YAVUZER

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

Amaç: Sıçanlarda favipiravirin olası beyin oksidatif hasarına karşı cerebrolysinin koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Deney hayvanları dört gruba ayrılmıştır: sağlıklı (SG), tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin (CER), tek başına 400 mg/kg favipiravir (FAV) ve 2.5 mL/kg cerebrolysin+400 mg/kg favipiravir (CFAV). Favipiravir günde iki kez oral, cerebrolysin ise günde bir kez intraperitoneal yoldan bir hafta boyunca verilmiştir. Bu sürenin sonunda tüm hayvanlar sakrifiye edilmiş ve beyin dokuları biyokimyasal ve histopatolojik inceleme için toplanmıştır.

Bulgular: Biyokimyasal bulgularımız, favipiravirin beyin dokusunda oksidan bir parametre olan malondialdehit (MDA) düzeylerinin artışına ($p<0.001$), total glutatyon (tGSH; $p<0.001$), süperoksit dismutaz (SOD; $p<0.001$) ve katalaz (CAT; $p<0.001$) gibi antioksidan düzeylerinin ise azalmasına yol açtığını göstermiştir. Histopatolojik olarak ise favipiravir beyin dokusunda belirgin hemoraji, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve neovaskülarizasyona yol açmıştır. Cerebrolysin tedavisi, beyin dokusunda favipiravirin neden olduğu MDA ($p<0.001$) düzeylerindeki artışı, tGSH ($p<0.001$), SOD ($p<0.001$) ve CAT ($p<0.001$) düzeylerindeki düşüşü istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde baskılamıştır. Ayrıca, cerebrolysin hayvanların beyin dokusundaki histopatolojik hasarı büyük ölçüde hafifletmiştir.

Sonuç: Biyokimyasal ve histopatolojik kanıtlarımız, favipiravirin sıçanların beyin dokusunda oksidan/antioksidan dengesini oksidanlar lehine değiştirdiğini ve ciddi oksidatif hasara neden olduğunu göstermektedir. Bulgularımız, cerebrolysinin favipiravir ile indüklenmiş oksidatif beyin hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini işaret etmektedir.

2024, 108 sayfa

Anahtar Kelimeler: Beyin hasarı, Cerebrolysin, Favipiravir, Nörotoksisite, Oksidatif stres, Sıçan.

ABSTRACT

PhD Thesis

EFFECT OF CEREBROLYSIN ON FAVIPIRAVIR-INDUCED BRAIN DAMAGE IN RATS: BIOCHEMİCAL AND HİSTOPATHOLOGICAL EVALUATION

Bülent YAVUZER

Erzincan Binali Yıldırım University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmacology

Supervisor: Professor Doctor Halis SULEYMAN

Aim: To investigate the protective effect of cerebrolysin against possible favipiravir-induced brain oxidative damage in rats biochemically and histopathologically.

Materials and Methods: The experimental animals were divided into four groups: healthy (SG), 2.5 mL/kg cerebrolysin alone (CER), 400 mg/kg favipiravir alone (FAV) and 2.5 mL/kg cerebrolysin+400 mg/kg favipiravir (CFAV). Favipiravir was given orally twice a day, and cerebrolysin was given intraperitoneally once a day, for one week. At the end of this period, all animals were sacrificed and brain tissue was collected for biochemical and histopathological examination.

Results: Our biochemical findings showed that favipiravir caused an increase in malondialdehyde (MDA) levels ($p<0.001$), an oxidant parameter, and a decrease in antioxidant levels such as total glutathione (tGSH; $p<0.001$), superoxide dismutase (SOD; ($p<0.001$) and catalase (CAT; $p<0.001$) in brain tissue. Histopathologically, favipiravir caused significant hemorrhage, inflammatory cell infiltration and neovascularization in brain tissue. Cerebrolysin treatment statistically significantly suppressed the favipiravir-induced increase in MDA ($p<0.001$) and decrease in tGSH ($p<0.001$), SOD ($p<0.001$) and CAT ($p<0.001$) levels in brain tissue. Furthermore, cerebrolysin greatly attenuated the histopathological damage in the brain tissue of the animals.

Conclusion: Our biochemical and histopathologic evidence suggests that favipiravir alters the oxidant/antioxidant balance in favor of oxidants and causes severe oxidative damage in rat brain tissue. Our findings suggest that cerebrolysin may be useful in the treatment of favipiravir-induced oxidative brain damage.

2024, 108 pages

Keywords: Brain damage, Cerebrolysin, Favipiravir, Neurotoxicity, Oxidative stress, Rat

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca benden hiçbir desteği esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle her zaman yol gösteren, sadece tıbba değil bilime duyduğum tutkuyu bir kez daha artıran kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN'a,

Eğitimim süresince verdikleri emek ve desteklerinden dolayı başta Prof. Dr. Durdu ALTUNER olmak üzere Tıbbi Farmakoloji bölüm hocalarım Doç. Dr. Bahadır SÜLEYMAN'a, Doç. Dr. Renad MAMMADOV'a, Doç. Dr. Aslı ÖZBEK BİLGİN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÇELİK AYDIN'a,

Bu süreçte desteğini hep yanımda hissettiğim Prof. Dr. Taha Abdulkadir ÇOBAN'a,

Hep yanımda olan akademik mentörüm Dr. Öğr. Üyesi Bülent DABANLIOĞLU 'na,

Desteğini hiç eksik etmeyen Prof. Dr. Ufuk KUYRUKLUYILDIZ'a

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşan Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SÜLEYMAN'a,

TDK-2023-926 Proje numaralı doktora tezime destek veren Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi (BAP) birimine,

Hayvanların temini ve deney uygulamaları sürecinde yardımlarından dolayı Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve sevgili Ömer ERTEN'e,

Var olmamda en büyük paya sahip olan anneme ve babama,
Her zaman yanımda olan kardeşlerim Esra ve Burak Orçun 'a,
Bana yaşama heyecanı veren kızlarım Zehra Nazlı ve Melike Betül'e ve oğullarım Yiğit Şamil ve İbrahim Selim'e,

Her daim yanımda olan, cesaretimi ve motivasyonumu artıran, iyi ki varsın dediğim eşim Canan'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bülent YAVUZER
Haziran, 2024

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Kabul ve Onay ..... **i**
Bilimsel Etiğe Uygunluk ..... **ii**
ÖZET ..... **iii**
ABSTRACT ..... **iv**
TEŞEKKÜR ..... **v**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **ix**
TABLOLAR LİSTESİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **3**
2.1. Favipiravir 3
2.1.1. Favipiravir ve Analoglarının Kimyasal Yapısı 3
2.1.2. Keşif 4
2.1.3. Arka Plan 4
2.1.4. Farmakokinetik Özellikleri 5
2.1.5. Etki Mekanizması 7
2.1.6. Antiviral Etkileri ve Etki Spektrumu 7
2.1.7. Beyin ve Sinir Sistemi Üzerine Olan Etkileri 8
2.1.8. Diğer Organlar Üzerine Olan Etkileri 10
2.1.9. Erkek ve Kadın Fertilitesi Üzerine Olan Etkileri 12
2.1.10. İstenmeyen İlaç Etkileri 13
2.1.11. Güvenlik Profili ile İlgili Yapılan Çalışmalar 14
2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres 16
2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu 16
2.2.2. Serbest Radikallerin Yapısı 17
2.2.3. Reaktif Oksijen Türleri 19
2.2.4. Serbest Radikallerin Hücresel Hedefleri 23
2.2.5. Oksidatif Stres 29
2.3. Antioksidan Savunma 29
2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması 30

2.3.2. Endojen Antioksidanlar 30
2.3.3. Eksojen Antioksidanlar 39
2.4. Beyin 40
2.4.1. Beyin Yapısı ve Gelişimi 40
2.4.2. Beyin Anatomisi 40
2.4.3. Hücresel Yapı 42
2.4.4. Beyin Fizyolojisi 44
2.4.5. Nöronların Sinaptik Yapısı ve Sinyalleşme 45
2.4.6. Nörotransmiterler 45
2.4.7. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS) 46
2.4.8. Beyin Bariyerleri 48
2.5. Cerebrolysin 51
2.5.1. Yapısı 51
2.5.2. Farmakolojik Özellikleri 51
2.5.3. Etki Mekanizması 52
2.5.4. Beyin Üzerindeki Etkileri 53
2.5.5. İstenmeyen İlaç Etkileri 57
3. MATERYAL VE METOT 59
3.1. Deney Hayvanları 59
3.2. Deney Tasarımı 59
3.3. Etik İlkeler ve Onay 60
3.4. Kullanılan İlaçlar 60
3.5. Deney Grupları 60
3.6. Deneysel Prosedür 60
3.7. Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Kitler 61
3.8. Biyokimyasal Analizler 63
3.8.1. Doku Numunelerinin Hazırlanması 63
3.8.2. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi 63
3.8.3. tGSH Seviyelerinin Belirlenmesi 63
3.8.4. SOD Aktivitesinin Belirlenmesi 64
3.8.5. CAT Aktivitesinin Belirlenmesi 64
3.9. Histopatolojik Değerlendirme 65
3.10. İstatistiksel Analizler 65

4. BULGULAR.....67
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....67
4.1.1. MDA Analiz Sonuçları.....69
4.1.2. tGSH Analiz Sonuçları.....70
4.1.3. SOD Analiz Sonuçları.....71
4.1.4. CAT Analiz Sonuçları.....72
4.2. Histopatolojik Bulgular.....73
5. TARTIŞMA.....78
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....85
KAYNAKLAR.....86
Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu.....107
Ek-2. Bilimsel Araştırma Projeleri Onay Formu.....108
ÖZGEÇMİŞ.....109

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Favipiravir ve Analoglarının Kimyasal Yapıları.....3
Şekil 2.2. Favipiravirin Aktif Formu Olan Favipiravir-RTP'nin Oluşumu.....6
Şekil 2.3. Oksijenden Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu.....19
Şekil 2.4. Sonic Hedgehog (SHH) Sinyal Yolu.....……..53
Şekil 4.1. Hayvanların Beyin Dokularındaki MDA Düzeyleri…….....69
Şekil 4.2. Hayvanların Beyin Dokularındaki tGSH Düzeyleri.....70
Şekil 4.3. Hayvanların Beyin Dokularındaki SOD Aktiviteleri 71
Şekil 4.4. Hayvanların Beyin Dokularındaki CAT Aktiviteleri 72
Şekil 4.5. SG Grubuna Ait Beyin Dokusunun Normal Histolojik Görünümü 74
Şekil 4.6. CER Grubuna Ait Beyin Dokusunun Normal Histolojik Görünümü.....75
Şekil 4.7. FAV Grubuna Ait Beyin Dokusunun Histopatolojik Görünümü.....76
Şekil 4.8. CFAV Tedavi Grubuna Ait Beyin Dokusunun Histopatolojik Görünümü..77

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Sınıflandırması 18

Tablo 2.2. Reaktif Nitrojen Türlerinin Sınıflandırması 18

Tablo 3.1. Kullanılan Cihazlar ve Firmaların Listesi…….....61

Tablo 3.2. Kullanılan Kimyasallar, Kitler ve Firmaların Listesi 62

Tablo 4.1. Cerebrolysin ve Favipiravirin Sıçan Beyin Dokusundaki Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Olan Etkisi……..…….67

Tablo 4.2. Cerebrolysin ve Favipiravirin Sıçan Beyin Dokusundaki Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkisi; p Değerlerinin Karşılaştırılması ..68

Tablo 4.3. Sıçan Beyin Dokularından Elde Edilen Histopatolojik Derecelendirme Verilerinin Analizi 73

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
SEM	Ortalamanın Standart Hatası
°C	Santigrat Derece

Kısaltmalar

$^1O_2$	Singlet Oksijen
8-OHdG	8-hidroksi-2′-deoksiguanozin
8-oksoG	7,8-dihidro-8-okso-guanozin
ALS	Amniyotrofik Lateral Skleroz
ATP	Adenozin Trifosfat
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BRCP	Meme Kanseri Direnç Proteini
CAT	Katalaz
CC50	%50 Sitotoksik Konsantrasyon
CER	Tek Başına 2.5 mL/kg Cerebrolysin Uygulanan Grup
CFAV	2.5 mL/kg Cerebrolysin + 400 mg/kg Favipiravir Uygulanan Grup
CGRP	Kalsitonin Geni İle İlişkili Peptid
Cl	Klor
Cmax	İlacın Kanda Ulaştığı Maksimum Konsantrasyon
CNTF	Siliyer Nörotrofik Faktör
CoQ10	Koenzim Q10
COVID-19	SARS-Cov2'ye Bağlı Koronavirüs Hastalığı
Cu	Bakır
Cys	Sistein
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EC50	%50 Etkili Konsantrasyon
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorbent Testi
Fe	Demir
Fe^{2+}	Ferröz Demir
Fe^{3+}	Ferrik Demir
$FADH_2$	İndirgenmiş Flavin Adenindinükleotid
FAV	Tek Başına 400 Mg/Kg Favipiravir Uygulanan Grup
$FMNH_2$	İndirgenmiş Flavin Mononükleotid
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz
GABA	Gama-Aminobütirik Asit

G-T	Guanin-Timin
GCS	γ-glutamil-Sistein Sentetaz
GDNF	Glial Hücre Hattı Kaynaklı Nörotrofik Faktör
GPx	Glutatyon Peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
GSH	Glutatyon
GSSG	Okside Glutatyon
H^+	Hidrojen
H_2O	Su
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H&E	Hematoksilen-Eozin
HGPRT	Hipoksantinguanin Fosforibozil Transferaz
HOCL	Hipokloröz Asit
HRP	Horseradish Peroksidaz
hSOD1	İnsan Süperoksit Dismutaz 1
hSOD2	İnsan Süperoksit Dismutaz 2
hSOD3	İnsan Süperoksit Dismutaz 3
IL-1β	İnterlökin 1 Beta
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
ISS	İnterstisyel Sıvı
KAB	Kan-Araknoid Bariyeri
KBB	Kan-Beyin Bariyeri
KBOSB	Kan-Beyin Omurilik Sıvısı Bariyeri
LPO	Lipit Peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
Mn	Manganez
mRNA	Mesajcı RNA
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NADH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
NMS	Nöroleptik Malign Sendrom
NO	Nitrik Oksit

NVÜ	Nörovasküler Ünite
O_2	Moleküler Oksijen
O_2-•	Süperoksit Radikali
O_3	Ozon
OH•	Hidroksil Radikali
$ONOO^-$	Peroksinitrit
ONOOH	Peroksinitrik Asit
OD	Optik Dansite
OAT-1	Organik Anyon Taşıyıcı 1
OAT-3	Organik Anyon Taşıyıcı 3
PACAP	Hipofiz Adenilat Siklaz Aktive Edici Polipeptit
$PaCO_2$	Parsiyel Karbondioksit Basıncı
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
PMDA	İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu
RdRp	RNA Bağımlı RNA Polimeraz
RMP	4-Ribofuranosil-5′-Monofosfat
RNA	Ribonükleik Asit
RNT	Reaktif Azot Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RTP	4-Ribofuranosil-5'-Trifosfat
RT-PCR	Ters Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SARS-CoV2	Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs 2
Se	Selenyum
SG	Sağlıklı Kontrol Grubu
SHH	Sonic Hedgehog
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
tGSH	Total Glutatyon
Tmax	Kandaki İlaç Konsantrasyonu Maksimuma Ulaşıncaya Kadar Geçen Süre
TMB	3,3',5,5'-Tetra Metil Benzidin
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TrxR	Tiyoredoksin Redüktaz
T-705	Favipiravir

T-705-RTP	Favipiravir-4-Ribofuranosil-5'-Trifosfat
T-1105	3-Hidroksipirazin-2-Karboksamid
T-1106	3,4-Dihidro-3-Okso-4-B-D-Ribofuranozil-2-Pirazin Karboksamid
UA	Ürik Asit
UV	Ultraviyole
URAT-1	Ürat Taşıyıcı 1
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XOR	Ksantin Oksidoredüktaz
Zn	Çinko

1. GİRİŞ

Favipiravir (T-705; 6-floro-3-hidroksipirazin-2-karboksamid), ribonükleik asit (RNA) virüslerinin RNA'ya bağımlı RNA polimerazını (RdRp) seçici ve güçlü bir şekilde inhibe eden antiviral bir ilaçtır (Furuta ve ark., 2017). Favipiravirin antiviral etkisi onun 4-ribofuranosil-5′-trifosfat (favipiravir-RTP) metabolitinden kaynaklanmaktadır (Agrawal ve ark., 2020). Favipiravir-RTP, favipiravirin hücrelerde fosforibosilasyon ve fosforilasyona uğraması sonucu oluşur (Furuta ve ark., 2013). Favipiravir-RTP, RdRp enzimi için bir substrat görevi görür ve RdRp enzimini daha güçlü inhibe eder böylece viral RNA zincirinin uzamasını ve protein sentezini önler (Agrawal ve ark., 2020). Bu ilaç, 2014 yılında Japon Fujifilm Toyama Chemical İlaç şirketi tarafından geliştirilmiş ve influenza virüsü ile enfekte hastalarda terapötik kullanım için piyasaya sürülmüştür (Hashemian ve ark., 2021). Favipiravir, mevcut anti-grip ilaçlarına dirençli suşlar da dâhil olmak üzere, influenza virüslerinin çeşitli tiplerine karşı etkili bulunmuştur; ayrıca ölümcül hemorajik ateşe neden olduğu bilinen arenavirüsler, bunyavirüsler ve filovirüsler gibi diğer RNA virüslerine karşı antiviral aktivitesi gösterilmiştir (Furuta ve ark., 2017). Favipiravir Ebola virüsü ve şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs-2 (SARS-CoV2) enfeksiyonunun tedavisinde de kullanılmaktadır (Lagocka ve ark., 2021). Favipiravir, yeni koronavirüs COVID-19 hastalığına karşı kullanım için test edilen bir araştırma antiviral ilacı olarak da bilinir (Cai ve ark., 2020). Favipiravirin Ebola ve SARS-CoV-2'ye karşı antiviral etkisi yüksek dozlarda görüldüğü için SARS-CoV-2'ye bağlı koronavirüs hastalığı (COVID-19) enfeksiyonunda da yüksek dozlarda kullanımı önerilmiştir (Beigel ve ark., 2020). Ancak favipiravir yüksek dozlarda toksik etkilere yol açmaktadır (Chiu ve ark., 2022). Yine de tatmin edecek düzeyde yeterli veri olmaması, COVID-19 hastalarında favipiravir kullanımının güvenilirliği konusunda şüphe yaratmaktadır (Pilkington ve ark., 2020). Şimdiye dek favipiravir kullanılan hastalarda nefrotoksisite, serum ürik asit (UA) ve transaminaz düzeylerinde artış, beyaz küre ve nötrofil düzeylerinde azalma, bulantı, kusma, karın ağrısı, ciltte kızarıklık, kaşıntı, deliryum, halüsinasyon, konvülsiyon ve Merkezi sinir sistemi ile ilgili yan etkilerin görüldüğü bildirilmiştir (Chen ve ark., 2020; Dogan ve ark., 2021).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda favipiravir ile ilişkili toksik etkinin oksidatif stresten kaynaklandığı rapor edilmiştir (Kara ve ark., 2023).

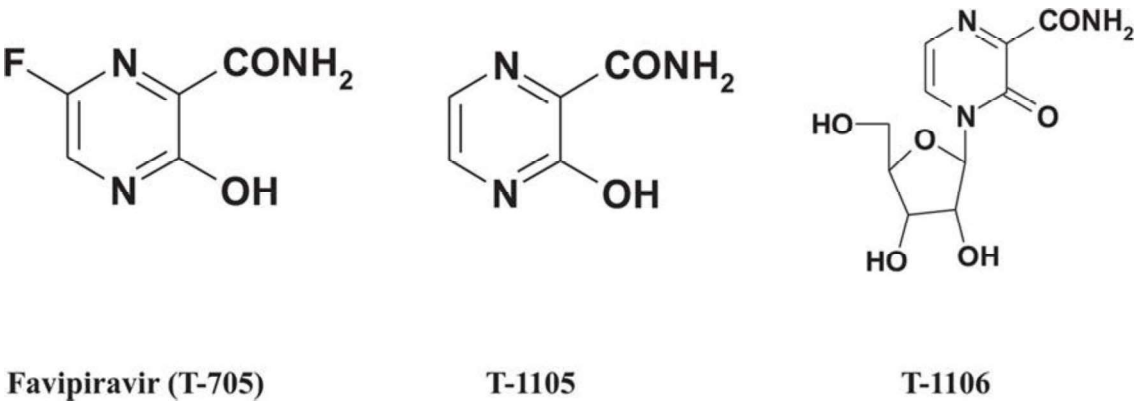
Bu çalışmamızda favipiravirin olası beyin hasarına karşı etkisini araştırmayı planladığımız cerebrolysin, %85 oranında serbest aminoasit ve %15 küçük peptit karışımı bir beyin hidrolizatıdır (Schwab ve ark., 1997). Cerebrolysinin, sinir hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretim artışını inhibe ederek beyin dokusunu oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (Sugita ve ark., 1993). Ayrıca, cerebrolysinin ROT süpürücü etkisinin antioksidan enzimlerin aktivitelerini indükleme ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Dong ve ark., 2016). Literatürden edinilen bu bilgiler, cerebrolysinin beyin dokusunu favipiravir'in olası oksidatif hasarına karşı korumada yararlı olabileceğine işaret etmektedir. Literatürlerde cerebrolysinin favipiravir'in olası beyin toksisitesine karşı etkisini araştıran çalışmalara rastlanmadı. Bu nedenle çalışmamızın amacı, sıçanlarda favipiravir'in olası beyin oksidatif hasarına karşı cerebrolysin'in koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Favipiravir

2.1.1. Favipiravir ve Analoglarının Kimyasal Yapısı

Favipiravir (T-705; 6-floro-3-hidroksipirazin-2-karboksamid; CAS Registry No: 259793-96-9) 1,4-pirazin-3-karboksamidin sentetik bir analoğudur (Konstantinova ve ark., 2022). Kimyasal formülünün C5H4FN3O2 ve moleküler ağırlığının ise 157.10 gram/mol gram mol^{-1} olduğu belirlenmiştir (Nithila ve ark., 2022). Sadece hücresel enzimler ile aktif formuna dönüştürülebilen antiviral bir ön ilaçtır (Furuta ve ark., 2017). Favipiravirin Toyama Chemical Co. Ltd. şirketi tarafından keşfedilmiş T-1105 (3-hidroksipirazin-2-karboksamid; CAS Registry Number: 55321-99-8) ve T-1106 (3,4-dihidro-3-okso-4-b-D-ribofuranozil-2-pirazin karboksamid; CAS Registry Number: 356782-84-8) olarak adlandırılan iki adet analoğu da bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Furuta ve ark., 2013).



Şekil 2.1. Favipiravir ve Analoglarının Kimyasal Yapıları

2.1.2. Keşif

Favipiravir olarak bilinen T-705 hakkında ilk çalışma 2002 yılında yapılmış olup Furuta ve arkadaşları, T-705 in influenza virüslerine karşı seçici inhibitör aktivitesi nedeniyle iyi bir anti-influenza virüsü ajanı adayı olabileceğini öne sürmüşlerdir (Furuta ve ark., 2002). Toyama Chemical Co. Ltd. tarafından grip virüsüne karşı antiviral aktivite açısından bir kimyasal kütüphanenin taranması yoluyla, bir pirazin karboksamid türevi (6-floro-3-hidroksi-2-pirazinkarboksamid) içindeki bir pirazin analoğunun kimyasal modifikasyonu yoluyla keşfedilmiştir (Furuta ve ark., 2017; Joshi ve ark., 2021).

2.1.3. Arka Plan

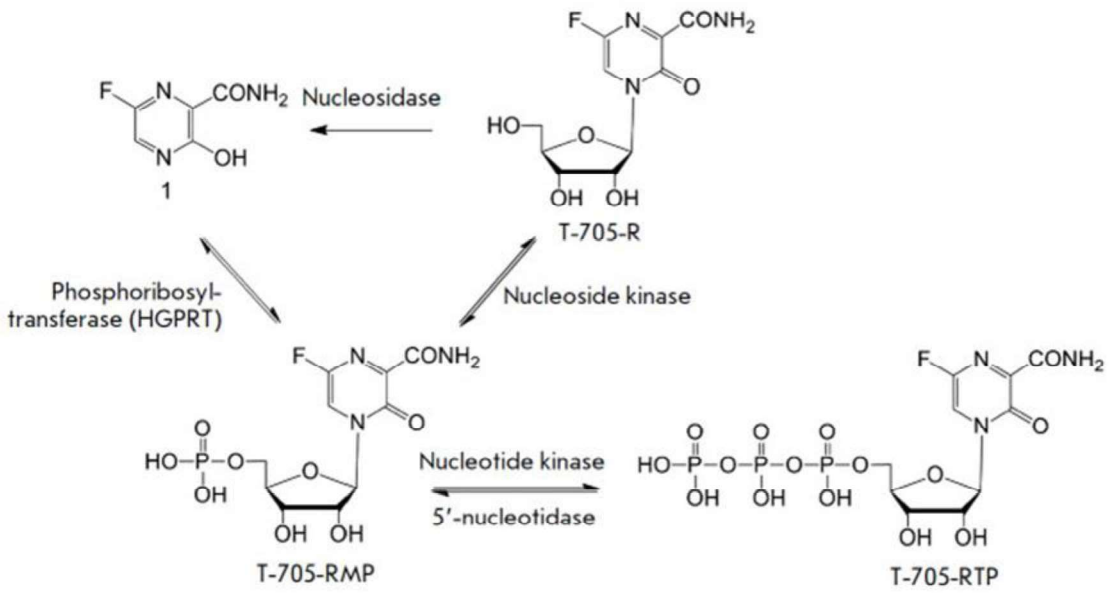
2014 yılında Batı Afrika'daki ölümcül Ebola virüsü salgını sırasında Ebola virüsü için standart bir tedavi mevcut olmadığından bir tedavi olarak öne çıkmıştır (Oestereich ve ark., 2014). Favipiravirin hem in-vitro hem de hayvan modellerinde ölümcül Ebola virüsü enfeksiyonunun profilaksisi ve tedavisinde etkili bulunduğu bununla birlikte Ebola virüsü enfeksiyonuna karşı ilk lisanslı tedavi olabileceği rapor edilmiştir (Oestereich ve ark., 2014; Smither ve ark., 2014). Favipiravir, 24 Mart 2014 tarihinde Japonya'da influenza pandemisine hazırlık amacıyla stoklama için (Hashemian ve ark., 2021; Takashita ve ark., 2016), Şubat 2020'de ise Çin'de yeni grip tedavisi için onaylanmıştır (Joshi ve ark., 2021). Yapılan birçok çalışmada favipiravirin, sosyal açıdan önemli ve özellikle tehlikeli patojenler de dâhil olmak üzere çok çeşitli ve ilişkisiz RNA virüslerine karşı seçici aktivite sergilediği ancak deoksiribonükleik asit (DNA) virüslerine karşı etkin olmadığı rapor edilmiştir (Konstantinova ve ark., 2022). Etkili olduğu virüsler olarak Ortomiksovirüsler (influenza virüsleri A, B ve C), flavivirüsler (sarıhumma, Batı Nil ve Zika virüsleri), togavirüsler (Doğu, Batı ve Venezuela at ensefaliti virüsleri, Chikungunya virüsü), arenavirüsler (Lassa ateşi ve Junin virüsleri), filovirüsler (Ebola virüsü), paramiksovirüsler (solunum sinsityal virüsü ve insan metapneumovirüsü), rhabdovirüsler (kuduz virüsü) sayılmaktadır (Konstantinova ve ark., 2022). COVID-19'a neden olan patojen SARS-CoV-2, ilk olarak Aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkmış ve öncesinde benzeri görülmemiş bir hızla dünya çapında yayılmıştır (Chen ve ark., 2021). Bunun üzerine Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 11 Mart 2020 tarihinde COVID-19 salgınını küresel pandemi olarak ilan etmiş (Cucinotta ve Vanelli, 2020) ve araştırmacılar bu hastalığın

ilerlemesini önleyecek veya durduracak ilaç veya aşı geliştirmeye yönelmiştir. Daha önce başka endikasyonlar için kullanılan veya geliştirilmekte olan birçok ilaç ve kimyasal, in vitro çalışmalardaki etkilerine dayanılarak, klinikte tedavi amaçlı kullanılmaya başlanmıştır. Japonya'da influenza A için 2014 yılından beri kullanılmakta olan favipiravir ilk olarak pandeminin ilk ortaya çıktığı merkez olan Wuhan'da kullanılmış, hastalığın dünyaya yayılmaya başlamasıyla birlikte İtalya, Japonya, Rusya, Ukrayna, Özbekistan, Moldova ve Kazakistan, Bangladeş, Mısır, Hindistan gibi ülkelerin yanı sıra ülkemizde de kullanılmıştır (Kara ve ark., 2021). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığınca COVID-19 Tedavi Rehberinde tek başına ya da hidroksiklorokinle birlikte favipiravir tedavisi önerilmiştir (Demiray ve ark., 2022).

2.1.4. Farmakokinetik Özellikleri

Favipiravir'in farmakokinetik özellikleri ilk olarak Japon sağlıklı gönüllülerde, tek uygulama için 30 mg ila 2400 mg arasında değişen dozlar ve tekrarlanan uygulama içinse günlük 800 mg ila 1200 mg arasında değişen dozlarda, çeşitli doz artırma denemelerinde karakterize edilmiştir (Madelain ve ark., 2016). Favipiravirin karmaşık, doğrusal olmayan, zamana, doza ve ağırlığa bağlı farmakokinetik özellikleri bulunmaktadır (Lagocka ve ark., 2021).

Bir ön ilaç olan favipiravir hücre içine girdikten sonra ilk önce pürin nükleotid kurtarma yolunun hipoksantinguanin fosforibozil transferazı (HGPRT) ile favipiravir-4-ribofuranosil-5′-monofosfata (Favipiravir-RMP) sonrasında ise hücresel kinazlar tarafından aktif formu olan favipiravir-4-ribofuranosil-5'-trifosfata (Favipiravir-RTP) metabolize edilmektedir (Şekil 2.2) (Geraghty ve ark., 2021; Konstantinova ve ark., 2022).



Şekil 2.2. Favipiravirin Aktif Formu Olan Favipiravir-RTP'nin Oluşumu

Favipiravir çok iyi bir biyoyararlanıma (yaklaşık %94), %54 proteinlere bağlanma oranına ve düşük bir dağılım hacmine (10-20 L) sahiptir. Tek dozdan sonra iki saat içinde ilacın kanda ulaştığı maksimum konsantrasyon (Cmaks)'a ulaşmaktadır. Çoklu dozlardan sonra ise hem kandaki ilaç konsantrasyonu maksimuma ulaşıncaya kadar geçen süre (Tmax) hem de yarılanma ömrü artar. Favipiravirin kısa bir yarılanma ömrü (2.5-5 saat) vardır ve bu da hidroksillenmiş formda hızlı renal eliminasyonuna neden olur. Eliminasyonuna aldehit oksidaz ve daha az olarak da ksantin oksidaz aracılık etmektedir. Sitokrom P450 sistemi tarafından metabolize edilmez ancak bileşenlerinden birini (CYP2C8) inhibe eder bu nedenle CYP2C8 sistemi tarafından metabolize edilen ilaçlarla birlikte uygulandığında dikkatli kullanılmalıdır (Agrawal ve ark., 2020).

Favipiravirin insanlarda kullanımına ilişkin en büyük sınırlamalardan biri, hastalarda gözlenen ilaç konsantrasyonunda beklenmeyen bir düşüş de dahil olmak üzere, beklenenden daha düşük plazma konsantrasyonlarıdır. Bu düşüşün, favipiravirin, aldehit oksidazın aracılık ettiği hidroksillenmiş formunun hızlı renal eliminasyonundan kaynaklanan kısa bir yarı ömre sahip olması nedeniyle ortaya çıkabileceği öne sürülmüştür. Başka bir deyişle, favipiravirin büyük bir kısmı, antiviral formuna biyoaktive edilme şansı bulamadan elimine edilmektedir (Geraghty ve ark., 2021).

2.1.5. Etki Mekanizması

Favipiravir, amido grubunun dönmesi üzerine adenin veya guanin'e benzeyen, bir pirazinamid türevi nükleobaz analoğu olarak etki göstermektedir (Geraghty ve ark., 2021). Favipiravir-RTP, RNA virüslerinin RdRp enzimini hem seçici hem de güçlü bir şekilde inhibe etmekte böylece viral genomun transkripsiyon ve replikasyonunu tamamen baskılayarak etkisini göstermektedir (Furuta ve ark., 2017). Ayrıca favipiravir hataya açık viral RdRp enzimi tarafından bir pürin analoğu işlevi görerek guanozin ve adenozinin yerine viral RNA zincirine eklenmekte, bunun sonucunda zincirin uzamasını ve tamamlanmasını durdurmakta ve viral mutageneze yol açmaktadır (Joshi ve ark., 2021; Shiraki ve Daikoku, 2020). Bu mutagenez de korona virüs onarım mekanizmalarından kaçabilmektedir (Joshi ve ark., 2021). Çeşitli RNA virüsü türlerinde RdRp mevcudiyeti favipiravirin daha geniş bir antiviral aktivite spektrumuna olanak tanımaktadır (Joshi ve ark., 2021). Favipiravir insanda DNA ve hücresel RNA sentezini önemli ölçüde etkilememektedir; bu durum ise hücresel DNA polimerazlar (α, β ve γ) ve DNA'ya bağımlı RNA polimeraz II üzerinde baskılayıcı etkisinin olmayışı ile açıklanmaktadır (Konstantinova ve ark., 2022). Önceki çalışmalar ise favipiravirin insanda mitokondriyal toksisiteye neden olmadığını göstermiştir (Jin ve ark., 2017).

2.1.6. Antiviral Etkileri ve Etki Spektrumu

Viral mutasyon oranındaki küçük bir artış bile virüs replikasyonu üzerinde yıkıcı bir olumsuz etkiye sahip olabildiği için virüslerde öldürücü mutajenezi indükleyebilen bileşikler, geniş spektrumlu antiviral aktiviteler için eşsiz bir fırsat sunmaktadır. Yukarıda bahsedildiği gibi favipiravir geniş spektrumlu bir antiviral etkinliğe sahiptir ve zincir sonlandırmasının yanı sıra birden fazla virüsün ölümcül mutajenezini de indükleyebilmektedir (Geraghty ve ark., 2021). Favipiravirin ölümcül mutajenezi indükleyebilmesi onu aynı zamanda virüsidal bir ilaç haline getirmektedir (Agrawal ve ark., 2020). Favipiravir'in daha önce hem hücre kültüründe hem de hayvan modellerinde influenza virüsüne ve diğer bazı RNA virüslerine karşı güçlü bir antiviral etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Sleeman ve ark., 2010).

İnfluenza ve Ebola Virüs

Favipiravir 53 tip influenza virüsünü inhibe etmektedir. Bunlar İnfluenza A (H1N1), A (H3N2) ve influenza B mevsimsel suşları, influenza A (H1N1) pdm09 pandemik virüsü, insanlardan izole edilen ve yüksek patojeniteye sahip kuş gribi virüsü influenza A (H5N1), domuzdan izole edilmiş influenza A (H1N1) ve A (H1N2), influenza A (H2N2), A (H4N2) ve A (H7N2)'dir. Favipiravir, M2 proton kanal blokerleri (amantadin ve rimantadin) ve nöraminidaz inhibitörleri (oseltamivir ve zanamivir) dahil olmak üzere virüsün ilaca dirençli suşlarına karşı da aktiftir (Agrawal ve ark., 2020; Sleeman ve ark., 2010).

Diğer RNA Virüsleri

Arenavirüs, bunyavirüs, filovirüs, Batı Nil virüsü, sarı humma virüsü, ayak-ve-ağız hastalığına yol açan Aphthovirus, viral hemorajik ateş ve ensefalite neden olan ajanlar dahil olmak üzere Lassa virüsün hücre kültürü ve fare modellerinde, favipiravirin terapötik etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Agrawal ve ark., 2020).

2.1.7. Beyin ve Sinir Sistemi Üzerine Olan Etkileri

Favipiravirin vücuttaki dokulara dağılımı incelendiğinde dağılım gösterdiği akciğerler, böbrekler, dalak ve beyin favipiravir'in ana hedefi gibi görünmektedir (Wang ve Chen, 2020). Rong ve arkadaşları ise fareler ve maymunlarda pozitron emisyon tomografisi (PET) ile yaptıkları radyoaktivite çalışmasında favipiravirin düşük beyin penetrasyonu sergilediğini ve heterojen bir dağılım gözlendiğini, en yüksek radyoaktivite düzeyinin ise prefrontal kortekste bulunduğunu, bunu hipokampus, beyincik ve ponsun izlediğini bildirmişlerdir (Rong ve ark., 2023). Favipiravirin düşük beyin alımının ilacın lipofilikliğinin ve pasif geçirgenliğinin düşük olmasına bağlanabileceğini de öne sürmüşlerdir (Rong ve ark., 2023).

Literatüre bakıldığında ise favipiravirin beyin ve sinir sistemi üzerine olan etkileri konusunda sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda yapılmış birkaç klinik ve preklinik çalışma mevcuttur.

İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (PMDA), 30, 125 ve 500 mg/kg dozlarında favipiravir uygulanan farelerin klinik durum veya davranışlarında bir anormallik oluşmadığını, 2000 mg/kg dozunda ise merkezi sinir sistemi (MSS) depresyonunu düşündüren belirtiler gösterdiğini (lokomotor aktivitede azalma, anormal yürüyüş, sarkık duruş, tımarlanmada azalma, atlama davranışının ortaya çıkması, azalmış pasiflik, azalmış oryantasyon, aşırı duyarlı dokunma tepkisi, azalmış kavrama gücü, azalmış çekiş gücü, azalmış boynu doğrultma refleksi) ve favipiravirin sıçanlar ile maymunlarda intraserebral geçişinin bulunduğu dikkate alındığında, favipiravirin merkezi sinir sistemi üzerindeki etkilerinin göz ardı edilemeyeceğini not etmiştir (Pmda. Evaluation and Licensing Division ve Safety Bureau Ministry of Health, 2014).

Soh ve arkadaşları ise yayınlamış oldukları vaka raporunda yoğun bakımda favipiravir ile tedavi edilen iki COVID-19 hastasında nöroleptik malign sendrom (NMS) gelişimini favipiravir kullanımı ile ilişkilendirmiş ancak bunun altında yatan mekanizmayı aydınlatamamışlardır (Soh ve ark., 2020).

Yapılan başka bir klinik çalışmada ise başlangıçta 1600 mg ardından her sekiz saatte bir 600 mg favipiravir uygulanan 190 hastada favipiravirin olumsuz ilaç etkileri değerlendirilmiş, 15 kişide bazı nörolojik semptomların (tükenmişlik, baş ağrısı, letarji, denge kaybı, düşük ruh hali, parestezi, sersemlik) geliştiği kaydedilmiştir (Solaymani-Dodaran ve ark., 2021).

Chen ve arkadaşları favipiravir ile ilgili yapmış oldukları bir klinik çalışmada hastalarda psikiyatrik reaksiyonlar görüldüğünü rapor etmişlerdir (Chen ve ark., 2020). Başka bir çalışmada ise favipiravirin nadiren ilaca bağlı nöropsikolojik komplikasyonları tetikleyebildiği bildirilmiştir (Ghasemiyeh ve ark., 2020).

Her ne kadar favipiravir kullanımı ile ilişkilendirilmiş nöro-psikolojik olumsuz ilaç etkilerinin patofizyolojik mekanizmaları tam olarak bilinmiyor olsa da araştırılmaya değer gibi görünmektedir.

Kaya ve arkadaşları, favipiravirin tek başına ve C vitamini ile birlikte kullanımının yaşlı sıçanların beyin dokusu üzerindeki oksidatif, inflamatuar ve apoptotik etkilerini incelemişlerdir. 30 adet sağlıklı ve yaşlı (72 hafta) sprague Dawley tipi sıçanla yapılan

bu araştırmada, hayvanlar beş gruba ayrılarak düşük (20 mg/kg) ve yüksek (100 mg/kg) doz favipiravir gavajla oral yoldan 14 gün süreyle uygulanmıştır. 15. günde ötenazi ile sakrifiye edilen hayvanların alınan beyin dokuları hem biyokimyasal ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Biyokimyasal incelemede, favipiravirin hem düşük hem de yüksek dozları, yaşlı sıçanların beyin dokusunda sağlıklı kontrol grubuna kıyasla tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) seviyelerinde önemli bir artışa neden olmuştur. Ek olarak favipiravir glutatyon (GSH) seviyelerinde ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinde azalmaya neden olmuş, bu azalmanın düşük doz favipiravir uygulamasında hafif, yüksek doz favipiravir uygulamasında ise daha belirgin olduğu kaydedilmiştir. Düşük doz favipiravir, katalaz (CAT) aktivitesinde anlamlı olmasa da bir azalmaya yüksek doz favipiravir uygulaması ise anlamlı bir değişime yol açmamıştır. Ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) incelemesinde beyin dokularındaki Bax, Bcl-2, kaspaz-3, kaspaz-9, indüklenebilir Nitrik Oksit sentaz (iNOS), interlökin-1 beta (IL-1β) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) 'nın rölatif mesajcı RNA (mRNA) ekspresyon seviyeleri araştırılmış, düşük doz favipiravir, kontrol grubuna kıyasla Bcl-2, kaspaz-3, kaspaz-9, iNOS ve interlökin-1β mRNA seviyelerinde hafif ila orta düzeyde yukarı regülasyona ve Bax'ta ise aşağı regülasyona neden olmuştur, TNF-α seviyelerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Yüksek doz favipiravir uygulaması ise kontrol grubuna kıyasla Bcl-2 hariç tüm parametreler için mRNA seviyelerinde hafif ila orta düzeyde yukarı regülasyona yol açmış, Bcl-2 mRNA düzeyinde ise aşağı regülasyon gözlenmiştir. Histopatolojik incelemede ise hem düşük doz hem de yüksek doz favipiravirin sıçanların beyin dokularında vasküler hiperemi, fokal glial hücre infiltrasyon alanları, nöronal dejenerasyon, vakuolizasyon alanları ve fokal gliozis gözlendiği kaydedilmiştir. Bu veriler ışığında favipiravirin uygulanan doza bağlı olarak, beyin dokusunda oksidatif, inflamatuar ve apoptotik süreçleri aktive ettiğini ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu savunmuşlardır (Kaya ve ark., 2023).

2.1.8. Diğer Organlar Üzerine Olan Etkileri

Favipiravirin COVID-19 tedavisinde yüksek dozda kullanılması çeşitli organlarda toksisitelerin görülme sıklığında artışa yol açmış ve bu toksik etkileri ortaya koymaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır.

Elma ve arkadaşları, oluşturdukları hayvan modelinde yüksek doz sistemik favipiravir uygulamasının akciğer dokusu üzerindeki etkisini araştırmış, akciğer dokusunda oksidan düzeylerini artırdığını ve antioksidan düzeylerini azalttığını bununla birlikte histopatolojik olarak da interstisyel alanlarda ciddi mononükleer hücre infiltrasyonlarının ve belirgin lenfoid hiperplazinin varlığını ortaya koymuşlardır (Elma ve ark., 2024). Bu sonuçlara paralel olarak yakın tarihli yapılan başka bir çalışmada ise akciğerlerde oluşan hasarın sadece oksidatif stres parametreleri ile sınırlı kalmadığı beraberinde apoptotik belirteçlerin ekspresyonunun ve proinflamatuar belirteçlerin de arttığı gösterilmiştir (Erbas ve ark., 2024).

Yakın zamanda yapılan bir preklinik çalışma ise yüksek doz favipiravirin karaciğer dokusunda oksidatif stres ve proinflamatuar parametreleri yükselttiğini, kan serumunda ise karaciğer enzimlerinde artışa yol açtığını, histopatolojik olarak da karaciğer dokusunda ciddi ödem, lenfosit infiltrasyonu ve hidropik dejenerasyon gözlendiğini rapor etmiştir (Bilici ve ark., 2023).

Yapılan bir çalışmada ise favipiravir uygulamasının, sıçan kardiyomiyoblast ve insan cilt fibroblastik hücre hatlarında oksidatif stresi indüklediği ve DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir (Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022).

Seydi ve arkadaşları, favipiravirin böbrekte proksimal tübül hücrelerinde sitotoksik olduğunu ve böbrek dokusunda ROT üretimini artırdığını bildirmişlerdir (Seydi ve ark., 2023). Kara ve arkadaşları ise favipiravir uygulamasının böbreklerde apoptotik hücre ölümünü tetiklediğini ve histopatolojik olarak oksidatif ve inflamatuar hasara yol açtığını göstermişlerdir (Kara ve ark., 2023). Bir vaka raporunda ise iki hastada favipiravirin akut böbrek hasarına yol açtığı ve favipiravirin kesilmesinin ardından serum kreatinin seviyelerinin beş gün içinde başlangıç değerlerine döndüğü bildirilmiştir (Chiu ve ark., 2022; Nasa ve ark., 2021).

Ozcan ve arkadaşları ise favipiravirin yüksek dozda oksidatif stresi ve inflamasyonu artırarak sıçan konjonktiva ve sklerasında hasara neden olabileceğini saptamıştır (Ozcan ve ark., 2024).

Bilir ve arkadaşlarıysa favipiravirin fetal kemik gelişimi ve embriyonik gelişim üzerindeki gelişimsel toksisitesinin belirlenmesini amaçlayan bir hayvan çalışması yapmış, favipiravir uygulanan gebe sıçanlarda favipiravirin doz artışına bağlı olarak fetüslerin ön ve arka ekstremite kemiklerinin ossifikasyonunda, fetusların boy ve ağırlıklarında azalma olduğunu belirlemişlerdir. Bu veriler ışığında favipiravirin kemik metabolizmasını ve kemik oluşum-emilim aşamalarını bozduğunu öne sürmüşlerdir (Bilir ve ark., 2022).

Ayrıca literatürde favipiravir kullanımının kemik iliği ve kan hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyen ve miyeloid hücre serisini etkilemediğini, eritrosit, trombosit, monosit ve lenfosit serilerini ise baskılayarak bu hücrelerde belirgin bir azalmaya neden olduğunu rapor eden çalışmalar mevcuttur (Atcali ve ark., 2022).

2.1.9. Erkek ve Kadın Fertilitesi Üzerine Olan Etkileri

Favipiravirin testisler üzerindeki etkisi kafa karıştırıcı olmaya devam etmektedir. Literatürde favipiravirin testis toksisitesi olduğu kaydedilmektedir (Ghasemnejad-Berenji ve Pashapour, 2021). İlacın testis fonksiyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir güvenlik çalışması (US105) gerçekleştirildiğini ve sperm sayısı veya motilitesi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin gösterilemediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (Pilkington ve ark., 2020). Yine de favipiravirin, spermde dağıldığı ve erkek doğurganlığını etkilediği için erkeklerde dikkatli bir şekilde kullanılması önerilmektedir (Hasmono ve ark., 2022). Favipiravir'in erkek üreme fonksiyonu üzerindeki etkisinin geri dönüşümlü olduğu, 60 mg/kg/gün dozlarında sperm motilite oranında azalma, sperm canlılığında azalma ve morfolojik kusur insidansında artış olduğu kaydedilmektedir (Hasmono ve ark., 2022). Gül ve arkadaşları ise yaptıkları klinik çalışmada favipiravir tedavisinin uzun dönemde spermatogenez ve serum androjen düzeylerini etkilemediğini savunmuşlardır (Gul ve ark., 2021).

Favipiravir tedavisinin özellikle üreme çağındaki kadınlarda dikkatle kullanılması önerilmiştir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada favipiravirin hem düşük hemde yüksek dozlarda yumurtalık dokusunda ciddi oksidatif hasara neden olduğu, düşük doz favipiravir uygulanan hayvanların bir kısmında infertilite geliştiği, kısırlık gelişmeyen diğer hayvanlarda ise annelik döneminde gecikmenin gözlendiği, yüksek doz favipiravir

ile tedavi edilen hayvanlarınsa tamamında kısırlık geliştiği rapor edilmiştir (Balci ve ark., 2022).

2.1.10. İstenmeyen İlaç Etkileri

Favipiravirin Ebola ve SARS-CoV'a karşı antiviral etkisi yüksek dozda uygulama ile görüldüğünden, COVID-19 enfeksiyonunda da yüksek dozlarda kullanılması önerilmiştir (Balci ve ark., 2022). Favipiravirin SARS-CoV-2'ye karşı antiviral etkinliğinin ancak çok yüksek bir dozla elde edilebileceğini gösteren in vivo preklinik kanıtlar da bulunmaktadır (Kaptein ve ark., 2020). Yüksek dozlarda geniş %50 sitotoksik konsantrasyon (CC50) / %50 etkili konsantrasyon (EC50) oranıyla gösterilen geniş bir terapötik güvenlik marjına sahip olduğu da öne sürülmüştür (Joshi ve ark., 2021). Antiviral etkinliğini artırmak için yüksek dozlarda kullanımı önerilen favipiravir her ne kadar yüksek güvenlik profili olan bir ilaç olarak kabul ediliyor olsa da ilaçla ilgili birçok yan etki bildirilmiştir. Favipiravir kullanımı sonrasında en sık gözlenen yan etkiler; ishal, serum UA düzeyinde artış, serum transaminazlarının (aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz) düzeylerinde artış, nefrotoksisite, nötrofil ve beyaz küre düzeyinde azalmadır (Demiray ve ark., 2022). Daha nadir olarak ise bulantı, kusma, karın ağrısı, ciltte kızarıklık, kaşıntı, deliryum ve halüsinasyon gibi psikiyatrik semptomlar, konvülsiyon gibi nörolojik semptomlar da görülebilmektedir (Demiray ve ark., 2022). Favipiravir ayrıca duodenal ülser ve karın rahatsızlığı gibi gastrointestinal bozukluklara da yol açabilmektedir (Sood ve ark., 2021). Göz kapaklarında ve üst dudakta şişlik, göz kapaklarında kızarıklık ve anjiyoödem gibi cilt problemleri olan vakalarda rapor edilmiştir (Islamoglu ve ark., 2022). Yüksek dozda favipiravir ile tedavi edilen bir Ebola virüsü hastasında düzeltilmiş QT aralığının uzadığı öne sürülmüştür (Chinello ve ark., 2017). Favipiravir nadiren ilaçla ilişkili nöropsikolojik komplikasyonlara neden olabilmektedir (Borah ve ark., 2021).

En sık görülen yan etkilerden biri kanda UA yüksekliğidir. Favipiravir, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz tarafından inaktif bir metabolite dönüştürülürek idrarla atılmaktadır. UA dengesi, böbrekte proksimal tübüllerdeki yeniden emilim ve tübüler sekresyon ile düzenlenir. Favipiravir ve inaktif metaboliti, böbrekte UA atılımında rol oynayan organik anyon taşıyıcı 1 ve 3'ün (OAT1 ve OAT3) orta derecede inhibitörleri olarak görev yaparlar ayrıca inaktif metabolit, böbrek proksimal tübüllerinde ürat taşıyıcı 1

(URAT1) yoluyla UA geri alımını arttırır. Sonuç olarak favipiravir hem idrarla UA atılımını azaltarak hem de UA geri emilimini artırarak kandaki UA seviyelerini yükseltmektedir (Mishima ve ark., 2020). Hiperürisemiyle ilgili olarak yapılan iki çalışmada favipiravir tedavisinin başlamasından itibaren sırasıyla 15 ve 5 gün sonra UA düzeylerinde artış tespit edildiği, 5. günde artış görülmüş olan çalışmada çoğu hastanın UA düzeylerinin 28. günde normale döndüğü ifade edilmektedir (Hung ve ark., 2022). Favipiravirin hiperürisemik etkisiyle akut gut artritini tetikleyebildiği de bildirilmiştir (Hase ve ark., 2020).

2.1.11. Güvenlik Profili ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Bildirilen yan etkileri güvenlik profili konusunda endişelere yol açsa da favipiravirin çoğunlukla iyi bir genel güvenlik profiline sahip olduğu düşünülmektedir (Chiu ve ark., 2022). Favipiravirin Amerika Birleşik Devletleri'nde iki Faz II çalışması, Japonya'da influenza tedavisi için Faz III klinik değerlendirmesi tamamlanmıştır (Furuta ve ark., 2013). Son dönemlerde ise favipiravirin güvenlik profili ile ilgili yapılmış çok sayıda randomize klinik çalışma ve vaka raporu paylaşılmıştır (Chiu ve ark., 2022).

Teratojenite

Favipiravirin teratojenik olduğu kabul edilmektedir, bu nedenle, hamilelik doğrulanırsa veya şüphelenilirse kadınlarda favipiravir uygulamasından kaçınılması gerektiği not edilmiştir (Ghasemnejad-Berenji ve Pashapour, 2021). Yapılan preklinik çalışmalarda dört hayvan türünde teratojenik ve embriyotoksik olduğuna dair güçlü kanıtlar birikmiştir (Nagata ve ark., 2015; Pilkington ve ark., 2020). Önerilen insan tedavi rejimlerine eşdeğer dozlar hayvan modellerinde test edilmiş gecikmiş gelişim veya ilk trimesterde embriyonik ölümler gösterilmiştir (Pilkington ve ark., 2020). Teratojenite ve embriyotoksisite riski nedeniyle, ilacın üretimi ve klinik uygulaması için katı düzenlemeler içeren kısıtlayıcı bir satış onayı verilmiştir (Hashemian ve ark., 2021). Her ne kadar klinik öncesi çalışmalarda favipiravirin teratojenik ve embriyotoksik olduğu düşünülse de hamile veya emziren kadınları kapsayan yeterince insan çalışması bulunmamaktadır (Pilkington ve ark., 2020). Favipiravire maruz kalan 29 gebeliğin 5'inin elektif olarak sonlandırıldığı, 24'ünün ise canlı doğumla sonuçlandığı bir klinik araştırmada herhangi bir düşük ya da ölü doğum olmadığı, biri ikiz olmak üzere 25 canlı

doğum gerçekleştiği bildirilmiştir (Tirmikçioğlu, 2021). Aynı araştırmada üç çocuğun prematüre doğduğu ve bir bebekte patent foramen ovalenin var olduğu, tüm bebeklerin doğum ağırlıkları, boyları ve baş çevrelerinin normal sınırlarda olduğu rapor edilmiştir (Tirmikçioğlu, 2021). Son zamanlarda yapılmış olan başka bir klinik çalışmada ise dokuz gebeliğin sonuçları retrospektif olarak değerlendirilmiş, bir adet spontan düşük, iki adet elektif kürtaj, bir adet erken canlı doğum ve beş adet term canlı doğum tespit edildiği ve vakaların hiçbirinin konjenital malformasyonla sonuçlanmadığı rapor edilmiştir (Ertem ve ark., 2023). Aynı araştırmada favipiravirin majör bir teratojen olma ihtimalinin doğru olmayabileceği savunulmuştur (Ertem ve ark., 2023). Yapılmış başka bir retrospektif klinik çalışmada ise 22 gebe değerlendirilmiş, sınırlı veriler dikkate alındığında favipiravirin önemli bir teratojen gibi görünmediği sonucuna varıldığı öne sürülmüştür (Ozen ve ark., 2024).

Laktasyon

Hayvan çalışmalarına göre favipiravir tedavisi sırasında emzirme kontrendike olarak kabul edilmektedir (Naseri ve ark., 2021). Favipiravirin anne sütüne geçişi ile ilgili yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte emziren kadınlar ve hiperürisemi öyküsü olan hastaların favipiravir kullanmaktan kaçınmaları gerektiği savunulmuştur (Hung ve ark., 2022; Tirmikçioğlu, 2021). Yayınlanan bir vaka raporunda, bir annenin favipiravir kullanırken günde iki kez emzirmeye devam etmeyi tercih ettiği ve bebekte herhangi bir sorunla karşılaşılmadığı bildirilmiştir (Karabayir ve ark., 2021). Aynı çalışmada annenin tedavisi tamamlandıktan sonra bebeğin hematolojik ve biyokimyasal testlerinde herhangi bir anormalliğe rastlanmadığı, altı ay boyunca takip edilen, anne sütü ve tamamlayıcı beslenmeyle beslenen bebekte herhangi bir belirti gelişmediği de rapor edilmiştir (Karabayir ve ark., 2021). Favipiravir, karaciğer enzim anormalliklerine, gastrointestinal semptomlara ve serum UA yükselmelerine neden olduğu için emziren bir annede kullanılıyorsa emzirilen bebekte bu parametrelerin izlenmesi önerilmiştir (Chaves ve ark., 2020; Favipiravir, 2006).

2.2. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

2.2.1. Serbest Radikallerin Oluşumu

Atmosferdeki oksijen, insanların yaşamını sürdürmesini sağlayan aerobik solunum için çok önemli bir moleküldür (Nakai ve Tsuruta, 2021). Hücre tarafından tüketilen oksijenin yaklaşık %95'i enerji olarak tüketilmekte ve nihai olarak suya dönüşmektedir (Nakai ve Tsuruta, 2021). Tüketilen bu oksijenin yaklaşık %85-90 'ını ise enerji sağlamak için aerobik solunumun ve oksijen metabolizmasının gerçekleştiği ana organel olan mitokondri tüketmektedir (Nakai ve Tsuruta, 2021; Slimen ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2022). Oksijenin geri kalan %5'lik kısmı aktif oksijen veya ROT olarak da adlandırılan ve son derece reaktif olan metabolitler olan serbest radikalleri üretmektedir (Nakai ve Tsuruta, 2021). Bununla birlikte her ne kadar hücredeki serbest radikallerin ana kaynağı mitokondri olsa da serbest radikaller sadece mitokondride değil birçok endojen ve eksojen kaynak tarafından da üretilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Zhang ve ark., 2022). Mitokondriye benzer şekilde oksijen tüketiminin yüksek olduğu peroksizom ve endoplazmik retikulum gibi farklı hücresel organellerle birlikte çekirdek, sitoplazma ve lizozomlarda endojen serbest radikallerin kaynağıdır (Phaniendra ve ark., 2015; Zaric ve ark., 2023). Serbest radikalleri üreten diğer endojen kaynaklar arasındaysa prostaglandin sentezi, adrenalinin oto-oksidasyonu, fagositik hücreler, azalmış riboflavin, indirgenmiş flavin mononükleotid ($FMNH_2$), indirgenmiş flavin adenindinükleotid ($FADH_2$), sitokrom P-450, bağışıklık hücresi aktivasyonu, inflamasyon, zihinsel stres, aşırı egzersiz, enfeksiyon, kanser, yaşlanma, iskemi bulunmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015). Eksojen kaynaklar olarak ise hava ve su kirliliği, alkol, sigara dumanı, geçiş metalleri (kadmiyum, cıva, kurşun, arsenik), ağır metaller (demir, bakır, kobalt, krom), endüstriyel çözücüler, pestisitler, yüksek sıcaklık, ultraviyole (UV) ışık, pişirilmiş gıdalar (tütsülenmiş füme et, kullanılmış sıvı yağ, katı yağ), ilaçlar (halotan, parasetamol, bleomisin, doksorubisin, metronidazol, etanol) ve karbon tetraklorür sayılmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015). Endojen ve ekzojen serbest radikallerin oluşumu engellenemez ve hem hücresel solunum hemde eksojen oksidanların tesiri ile vücutta sürekli olarak üretimi devam eder (Aslankoç ve ark., 2019).

Serbest radikaller, normal fizyolojik bir süreçte mitokondriyal elektron taşınması, sinyal iletimi, nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, gen ekspresyonu, nötrofillerin ve makrofajların antimikrobiyal aktivitesi gibi normal metabolik aktiviteler sırasında kesintisiz üretilmektedir (Oğuz ve Erel, 2023; Slimen ve ark., 2014). Normal fizyolojik metabolizmayla devamlı olarak üretilmeleri ile birlikte üretim hızları bazı inflamasyon veya hastalık şartlarında artmaktadır (Altıner ve ark., 2018). Başlangıçta serbest radikallerin yalnızca canlı organizmalara zarar veren ajanlar olduğu kabul edilse de son yıllardaki araştırmalar sağlık ve hastalık durumlarında yeni rollerini ortaya çıkarmış ve olumlu roller oynadığı da gösterilmiştir (Brieger ve ark., 2012; Lushchak, 2014). Serbest radikallerin oluşumu, hücrelerin fizyolojik sınırlar dahilinde düzgün işleyişi, korunması ve hayatta kalması için temel ve yararlı bir olay olarak kabul edilmektedir (Hajam ve ark., 2022). Biyolojik etkinin özgüllüğü ise serbest radikal üretiminin miktarı, süresi ve lokalizasyonuna göre şekillenmektedir. Yüksek serbest radikal konsantrasyonlarına uzun süre maruz kalmak proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerde önemli reaksiyonları başlatıp spesifik olmayan hasara yol açabilirken, düşük ila orta düzeydeki ROT konsantrasyonları etkilerini hücre sinyalleme basamaklarının düzenlenmesi yoluyla göstermektedir. Bununla birlikte serbest radikaller düşük düzeylerde birçok hayati fizyolojik süreçte de yer almaktadır. Büyüme faktörü uyarımına yanıt ve inflamatuar yanıtların kontrolü gibi çeşitli sinyal kaskadlarında rol oynamakta ve farklılaşma, proliferasyon, büyüme, apoptoz, hücre iskeleti düzenlemesi, göç ve kasılma dahil olmak üzere birçok hücresel sürecin düzenlenmesine katılmaktadırlar (Brieger ve ark., 2012).

2.2.2. Serbest Radikallerin Yapısı

Serbest radikaller dış orbitalinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran, yüksek enerjili, oldukça reaktif, kısa ömürlü, organik ve inorganik, atomlar, iyonlar veya moleküller olarak tanımlanmaktadır (Di Meo ve Venditti, 2020; Karabulut ve Gülay, 2016; Zaric ve ark., 2023). Serbest radikaller eşlenmemiş elektrona sahip olmaları nedeniyle kararsız davranırlar ve diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler. Elektronlarını çiftler halinde bulunduran, eşlenmemiş elektronu bulunmayan atomlar veya moleküller ise kararlı davranırlar ve diğer maddeler ile radikallerden daha

zayıf bir şekilde reaksiyona girerler ve non-radikaller olarak adlandırılırlar (Karabulut ve Gülay, 2016).

Oksijen, karbon, nitrojen ve kükürt merkezli olmak üzere temelde dört tip serbest radikal bulunmaktadır (Zaric ve ark., 2023). Kimya ve biyolojide merkezinde bulunan moleküle göre pek çok serbest radikalin varlığından bahsedilse de bunların en önemlileri reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif azot türleri (RNT) olarak adlandırılır (Ardağ, 2008). Oksijen/nitrojen 'in serbest radikal ve non-radikal reaktif türleri topluca reaktif oksijen/nitrojen türleri olarak bilinir (Jomova ve ark., 2023). Tablo 2.1 ve 2.2'de ROT ve RNT sınıflandırması sunulmuştur (Karabulut ve Gülay, 2016).

Tablo 2.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Sınıflandırması

Radikaller		**Non-radikaller**	
Süperoksit	$O_2^{\cdot -}$	Hidrojen	H_2O_2
Hidroksil	$OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit	HOCl
Peroksil	$ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit	HOBr
Alkoksil	$RO^{\cdot}$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidro peroksil	$HO_2^{\cdot}$	Ozon	O_3
Lipit peroksil	$LOO^{\cdot}$		

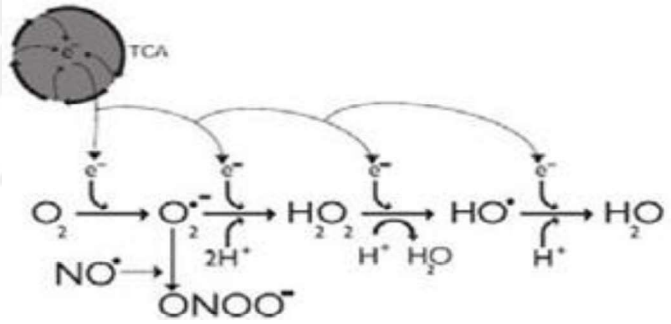
Tablo 2.2. Reaktif Nitrojen Türlerinin Sınıflandırması

Radikaller		**Non-radikaller**	
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\cdot}$	Nitrosil Katyonu	NO^+
		Nitroksil Anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksid	N_2O_3
		Peroksinitrit	$ONOO^-$
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

Fotosentez ve aerobik solunumun benzer şekilde oksijen tüketmesi sebebiyle oksijen radikalleri, biyolojik sistemlerde en yaygın tipte bulunan serbest radikallerdir (Zaric ve ark., 2023).

2.2.3. Reaktif Oksijen Türleri

Moleküler oksijen, oldukça reaktif serbest radikal özelliğinden dolayı dual bir yapıya sahiptir. Hücresel enerji üretmek için metabolik substratları oksitleme yeteneğine sahiptir, ancak aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin üretimi için bir substrat olarak da davranabilmektedir (Mori ve ark., 2022). Oksijen bir elektron alarak indirgenir ise süperoksit radikalini (O_2-•) ni oluşturur. İki elektron alarak indirgenmesi ise hidrojen peroksiti (H_2O_2) ortaya çıkarmaktadır Üç elektronun alınmasıyla ise yüksek reaktif bir molekül olan hidroksil radikalini (OH•) meydana getirmektedir. Eğer dördüncü elektronu alır ise ortaya su çıkmaktadır (Buyukuslu ve Yigitbasi, 2015) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Oksijenden Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu

Süperoksit Radikali (O_2-•)

Süperoksit radikali hem radikal hem de -1 yüklü bir anyon olarak kabul edilir (Andres ve ark., 2023). Süperoksit, bir oksijen molekülünün enzimatik veya non-enzimatik reaksiyonlar yoluyla bir elektron almasıyla oluşan birincil bir radikaldir ve 17 elektronlu iki oksijen atomundan ve negatif elektrik yükünden teşekkül eder (Andres ve ark., 2023). O_2-• iki ana kaynaktan üretilebilir: mitokondriyal solunum zinciri ve fagositik (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eozinofiller) nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz). Bu nedenle solunumun bir yan ürünüdür ve bağışıklık sisteminin önemli bir bileşenidir (Hayyan ve ark., 2016). Ayrıca lenfositler ve fibroblastlar dahil olmak üzere fagositler dışındaki çeşitli hücre tipleri tarafından da in

vivo olarak üretildiğine dair kanıtlar birikmiştir (Halliwell, 1994). Mitokondri iç zarında bulunan solunum zinciri içinde kompleks I (indirgenmiş nikotinamid adenindinükleotit [NADH]: ubikinon oksidoredüktaz) ve III (ubikinol: sitokrom c oksidoredüktaz; sitokrom bc_1 kompleksi) genellikle sırasıyla mitokondriyal matrikse ve zarlar arası boşluğa salınan süperoksit anyonlarının ana üreticileri olarak kabul edilmektedir (Drose ve Brandt, 2012). Ek olarak hidrokinonlar, flavinler, tiyoller gibi indirgeyici özelliğe sahip biyomoleküller, oksijene tek elektron verip, $O_2^{-\bullet}$ oluşturabileceği gibi başta dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, enzimlerin katalitik etkisi sırasında da $O_2^{-\bullet}$ oluşabilir (Akagün, 2009). $O_2^{-\bullet}$, nispeten küçük bir anyondur, suda oldukça çözünür, yükü nedeniyle düşük membran geçirgenliğine sahiptir, anyon kanallarından geçer ancak bu verimsizdir ve süperoksit radikali, üretildiği fizyolojik bölmede büyük ölçüde reaksiyona girer (Andres ve ark., 2023).

Ömrü milisaniyelerle ifade edilmekte, nispeten kararsız bir molekül olduğu için oldukça güçlü bir oksidan gibi davranmaktadır. Bu durumda hidrojen peroksite indirgenir ve aynı zamanda bir indirgeyici olarak da işlev görebilir ve oksijene dönüşebilir (Andres ve ark., 2023).

$$O_2^{-\bullet} + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

Süperoksitin indirgenmesi

$$O_2^{-\bullet} \rightarrow O_2 + e^-$$

Süperoksitin oksidasyonu

$O_2^{-\bullet}$ yüksek derecede reaktif olan bir radikal olarak kabul edilmez ve direkt olarak zarar vermez bununla birlikte hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle büyük önem atfedilmektedir (Aslankoç ve ark., 2019).

$O_2^{-\bullet}$ fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ile birleşmesi sonucu reaktif oksijen türü olan peroksinitriti ($ONOO^-$) meydana getirmektedir (Buyukuslu ve Yigitbasi, 2015).

$$O_2^{-\bullet} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$$

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, bir oksijen-oksijen bağı içeren kararsız ve yavaş ayrışan bir peroksit molekülüdür. Hidrojen peroksitin ana kaynağı SOD katalizli süperoksit radikal dismutasyon reaksiyonudur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinmektedir. (Jomova ve ark., 2023).

$$2H^+ + 2\ O_2\text{-}^{\bullet} \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Aynı zamanda ksantin oksidaz, ürat oksidaz, glukoz oksidaz, D-aminoasit oksidaz ve diğer enzimler gibi oksidazların katalize ettiği reaksiyonlarda oksijenin iki elektronlu indirgenmesiyle de oluşturulabilir (Jomova ve ark., 2023; Özcan ve ark., 2015). Hidrojen peroksitin yükü olmadığı için biyolojik membranlardan geçebilmektedir. Hidrojen peroksit güçlü bir oksidandır ancak biyomoleküllerle reaksiyonunun kinetiği oldukça yavaş olduğu için hücrelerde nispeten yüksek konsantrasyonlarda birikebilir (Andres ve ark., 2023). Hidrojen peroksit, büyüme faktörünün neden olduğu sinyal iletiminde, tiyol redoks homeostazisinin korunmasında ve mitokondriyal fonksiyonda önemli bir rol oynamaktadır (Jomova ve ark., 2023).

Ferröz demir (Fe^{2+}) veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve $O_2\text{-}^{\bullet}$ 'in varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) en güçlü radikal olan hidroksil radikalini (OH•) oluşturmaktadır (Özcan ve ark., 2015).

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH\text{-} + OH\bullet$$

Fenton reaksiyonu

$$O_2\text{-}^{\bullet} + H_2O_2 \rightarrow OH\text{-} + OH\bullet + O_2$$

Haber-Weiss reaksiyonu

Hidrojen peroksit, Fenton Reaksiyonu ve Haber-Weiss Reaksiyonu ile OH• radikalini oluşturması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türlerinden biri olarak sayılmaktadır (Halliwell ve ark., 2000). H_2O_2, $O_2\text{-}^{\bullet}$ 'nden farklı olarak lipofiliktir

ve oluştuğu yerden uzakta bulunan ve Fe^{2+} içeren hücresel membranlarda da hasar oluşturabilmektedir (Özcan ve ark., 2015). Düşük konsantrasyonda hücreye nispeten az zarar verebilirken, daha yüksek seviyelerde gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz gibi hücresel enerji üreten enzimlerin inaktive olmasına yol açar. H_2O_2 'nin DNA üzerinde doğrudan etkisi yoktur ancak geçiş metali iyonlarının varlığında OH• üreterek DNA'ya zarar verebilir. H_2O_2'yi ortadan kaldırabilen başlıca antioksidan enzimler arasında CAT, glutatyon peroksidaz (GPx) ve peroksiredoksinler yer almaktadır (Phaniendra ve ark., 2015).

Hidroksil Radikali (OH•)

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde oluşan, yaklaşık 10^{-8}-10^{-9} saniye gibi kısa yarı ömrü olan en reaktif radikallerden biridir (Jomova ve ark., 2023). Çok kısa bir yarı ömre sahip olsa da yüksek reaktivitesiyle bulunduğu hücre bölümünden uzağa gitmeden, oluştuğu yerde hemen reaksiyona girerek hücresel elemanlara büyük zarar vermektedir (Akagün, 2009). Biyolojik sistemlerde, hidroksil radikalleri, yüksek enerjili ışınlama kullanılarak suyun homolitik bölünmesiyle, daha büyük olasılıkla hidrojen peroksitin redoks metali katalizli ayrışmasıyla (Fenton reaksiyonu), süperoksit varlığında da Haber-Weiss reaksiyonuyla, ozona (O_3) elektron transferiyle, H_2O_2 'in fotoliziyle, radikal reaksiyonu sonucu oluşan organik radikal ile H_2O_2 tepkimeye girerek OH• oluşmaktadır (Akagün, 2009; Jomova ve ark., 2023). OH• nadiren bağışıklık sisteminin bir yan ürünü olarak oluşabilmekte patojenlere maruz kalındığında mikroglia ve makrofajlar da bu radikali meydana getirebilmektedir (Jomova ve ark., 2023). OH• 'nin biyomoleküller ile çok güçlü reaksiyona girebilme yeteneği onu diğer ROT 'lara kıyasla biyolojik sistemler için daha fazla zararlı hale getirmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016). DNA, proteinler ve membranlar dahil tüm önemli biyomoleküllere zarar verir (Jomova ve ark., 2023).

Singlet Oksijen ($^1O_2$)

Singlet Oksijen, moleküler oksijenin elektronik olarak yüksek uyarılmış, yarı kararlı halidir ve oldukça reaktif, toksik, ROT özeliği sergiler (Phaniendra ve ark., 2015). $^1O_2$ 'in ortama bağlı olarak yaklaşık 10^{-6} saniye gibi kısa bir yarı ömrünün bir sonucu olarak en yakın ortamdaki moleküllerle etkileşime girebilmektedir (Jajic ve ark., 2015; Valko

ve ark., 2004). $^1O_2$, ışık aracılı reaksiyonlar (Tip 2 fotokimyasal süreçler), enzimatik (peroksidaz-, lipoksijenaz- ve siklooksijenaz- ve hem aracılı reaksiyonlar), hücresel (örneğin aktive lökositlerden) ve kimyasal süreçler (örneğin H_2O_2'nin hipokloröz asit [HOCl] ile reaksiyonu, ozon aracılı reaksiyonlar, sınırlı ölçüde ONOO-/ peroksinitrik asit (ONOOH) reaksiyonları, peroksil radikallerinin sonlanma reaksiyonları) dahil olmak üzere birçok kimyasal ve fiziksel süreçle oluşur (Davies, 2016). Nötrofillerin ve eozinofillerin aktivasyonu ile de in vivo olarak üretildiği gösterilmiştir (Phaniendra ve ark., 2015).

$$H_2O_2 + HOCl \rightarrow Cl^- + H_2O + {}^1O_2$$

Singlet oksijen çeşitli hücresel bileşenlerle reaksiyona girebilir, ancak tercihen çoklu doymamış yağ asitlerinin konjuge çift bağlarıyla etkileşime girer (Jomova ve ark., 2023). DNA hasarına ve doku hasarına neden olabilen oldukça güçlü bir oksitleyici ajandır (Phaniendra ve ark., 2015).

2.2.4. Serbest Radikallerin Hücresel Hedefleri

Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Olan Etkileri

Bazı ROT/RNT ’ler tek başına polisakkaritlerin omurga parçalanmasına neden olarak daha küçük parçalar meydana getirebilirler ve veriler karbonhidrat zincirlerinin oksidatif bölünmesinin biyolojik olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. ROT/RNT 'nin polisakkaritlerin monosakkarit bileşimini de değiştirebildiği ve muhtemelen orijinal makromolekülün özelliklerinden önemli ölçüde farklı özelliklere sahip polimer parçaları oluşturabildiği görülmektedir. Özellikle, ROT/RNT tarafından parçalanmamış polisakkaritin yapısındaki önemli değişimin, glikozidik bağların yüksek özgüllüğe sahip enzimler tarafından parçalanmasını yavaşlattığı gösterilmiştir (Duan ve Kasper, 2011).

Serbest radikaller, monosakkaritleri oto-oksidasyona uğratarak hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehid ortaya çıkarabilmektedir. Okzoaldehidlerin ise, proteinlere, DNA’ya ve RNA’ya bağlanmak suretiyle anti-mitotik aktivite sergileyebildiği sonucunda kanser ve yaşlanmada etkili olduğu savunulmaktadır (Akagün, 2009; Çelik, 2020).

•OH, karbon atomlarından birinden rastgele bir hidrojen atomunu çıkarıp karbonhidratlarla reaksiyona girmesi karbon merkezli bir radikal üretimine yol açmakta bu durumda hyaluronik asit gibi önemli moleküllerde zincir kırılmaları ile sonuçlanabilmektedir. Eklemleri çevreleyen sinovyal sıvıda, inflamasyonda nötrofillerin birikmesi ve aktivasyonu ile önemli miktarda oksiradikal üretilmesi ise romatoid artritle ilişkilendirilmiştir (Devasagayam ve ark., 2004).

Serbest Radikallerin Proteinler ve Enzimler Üzerine Olan Etkileri

Proteinler ve enzimler, nükleer ve mitokondriyal DNA tarafından kodlanan, hücrelerde yapılan işin büyük kısmını yaparak vücutta kritik işlevleri yerine getiren büyük ve karmaşık moleküllerdir. Vücudun doku ve organlarının yapısı, işlevi ve düzenlenmesi için gereklidirler. Serbest radikallerin bir diğer kritik yönü de proteinlerin yapısal bütünlüğünde tetiklediği hasar olup, çeşitli enzimlerin katalitik aktivitesinin kaybına ve metabolik yolların düzenlenmesinde duraklamaya neden olmaktadır. Serbest radikaller proteinler üzerindeki etkilerini, amino asit kalıntılarını okside ederek, peptit bağlarının bölünmesine yol açarak ve proteinler arasında agregasyona sebep olarak ortaya çıkarırlar. Serbest radikal aracılı protein hasarının doğası ise amino asit bileşimine bağlıdır (Juan ve ark., 2021). Yapısında sistein (Cys), metiyonin, triptofan, fenilalanin, tirozin, histidin, arginin, lizin, prolin, treonin aminoasitlerini içeren proteinler serbest radikaller için ana hedef gibi durmaktadır (Berlett ve Stadtman, 1997). Yapısında çift bağ ya da kükürt bulunan aminoasitleri içeren proteinler, serbest radikallerle kolay etkileşerek kükürt veya karbon merkezli radikaller oluşturmaktadırlar (Akagün, 2009). Proteinlerdeki tiyol gruplarının okside olması enzim fonksiyonunda kayıplarla birlikte membranlardaki iyonların ve metabolitlerin transport sisteminde de sekteye yol açmakta ve kontraktiliteyi bozabilmektedir (Çelik, 2020).

Proteinlerin serbest radikaller ile oksidasyonu, özellikle geçiş metal iyonlarıyla etkileşime girdiklerinde ek radikaller oluşturabilen protein hidroperoksitler gibi reaktif ürünlerin yanı sıra bir dizi kararlı ürün de oluşturabilirler. İşlevsel olarak inaktif olan oksitlenmiş proteinlerin çoğu hızla uzaklaştırılsa da bazıları zamanla kademeli olarak birikebilir ve böylece yaşlanmanın yanı sıra çeşitli hastalıklarla ilişkili hasara katkıda bulunabilirler. Perokside lipit ve proteinlerin bir toplamı olan lipofusin, yaşlı hücrelerin

lizozomlarında ve Alzheimer hastalarının beyin hücrelerinde birikmektedir (Devasagayam ve ark., 2004).

ROT 'lar, proteinlerde bulunan farklı amino asitleri oksitleyerek ve protein-protein çapraz bağlarının oluşmasına neden olarak proteinlerin denatüre olmasına ve işlevini yitirmesine, enzim aktivitesinin kaybolmasına, reseptörlerin ve taşıma proteinlerinin işlevini yitirmesine neden olmaktadır. Proteinlerin oksidasyonu O_2-•, OH•, peroksil, alkoksil, hidroperoksil gibi radikal türlerin yanı sıra H_2O_2, O_3, HOCl, $^1O_2$, OONO- gibi radikal olmayan türler tarafından da indüklenebilir (Phaniendra ve ark., 2015).

Serbest radikaller ayrıca immünoglobülin G ve albumin gibi çok sayıda kükürt içeren proteinlerin yapısını bozarak fonksiyonlarını gerçekleştiremez hale getirirler. Hem proteinleri de bu radikallerden ciddi boyutta etkilenmekte, oksihemoglobinin $O_2^{\cdot-}$ veya H_2O_2 ile etkileşimi sonucu methemoglobin oluşmaktadır (Akagün, 2009).

ROT kaynaklı oksidatif hasar lizin, prolin, treonin ve arginin gibi amino asit kalıntılarının karbonil türevlerini ortaya çıkarmakta, proteinlerdeki karbonil gruplarının varlığı ise ROT aracılı protein oksidasyonunun belirteci olarak kabul edilmektedir. Protein oksidasyonunun diğer spesifik belirteçleri ise OH• için bir belirteç olan O-tirozin ve RNT için bir belirteç olan 3-nitrotirozindir. Alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı, musküler distrofi, romatoid artrit, diyabet, progeria, ateroskleroz, Werner sendromu ve yaşlanma gibi bir dizi patolojik durumda protein karbonil seviyelerinde artış görülmektedir (Phaniendra ve ark., 2015).

Serbest Radikallerin Membran Lipitleri Üzerine Olan Etkileri

Lipitler, hücrelerin yapısını koruyan ve işlevini kontrol eden hücre membranlarının temel bileşenleridir (Rochette ve ark., 2022). Moleküler oksijenin çözünürlüğü nedeniyle membranlarda ROT üretimi çok yüksektir. Hücresel membranlar veya organel membranları, yüksek oranda içerdikleri çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle, lipit peroksidasyonu (LPO) olarak isimlendirilen ROT hasarına karşı özellikle çok hassastırlar. LPO, süperoksit radikali, hidroksil radikali, oksil radikalleri ve peroksil radikalleri gibi serbest radikal türlerinin, lipitlerden elektronları uzaklaştırdığı ve daha sonra başka reaksiyonlara girebilecek reaktif ara ürünler ürettiği bir olaydır (Konukoğlu,

2007; Su ve ark., 2019). Oksijenden türetilen serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleri ile ilişkisi sonucu oluşan LPO'nda üretilen çok sayıda aşırı reaktif elektrofilik aldehit mevcut olmakla beraber bunlar içinde malonaldehit ve hidroksinonenal önemlidir. Çünkü bunlar, proteinlerin ve DNA bazlarının -NH_2'si ile reaksiyona girerek mutasyonlara neden olabilecek eklentiler oluşturabilmektedirler (Juan ve ark., 2021).

Lipit peroksidasyonu üç farklı yol ile ortaya çıkmaktadır. Birincisi serbest radikal aracılı oksidasyon, ikincisi serbest radikalden bağımsız non-enzimatik oksidasyon ve üçüncüsü ise enzimatik oksidasyon (Gurol ve Aslan, 2013). Non-enzimatik LPO, herhangi bir serbest radikalin çoklu doymamış yağ asidindeki metilen karbonundan hidrojen atomunu uzaklaştırmasıyla enzimatik LPO ise siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerinin reaksiyonları sonucunda hidroperoksitler ve endoperoksitlerin oluşumuyla karakterizedir (Konukoğlu, 2007). Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif hasarı zincirleme bir reaksiyondur ve geri dönüşü olmayan membran hasarıyla neticelenmektedir (Çelik, 2020). Oksidatif hasarın şiddeti membrandaki lipit/protein oranına, fosfolipitlerin miktarına, yağ asitlerinin bileşimi ile doymamışlık derecesine ve membranın akışkanlığına bağlıdır (Konukoğlu, 2007). Membran lipitlerinin perokside olmasıyla hücre membranlarının yapısında oluşan hasar, membran transport sistemlerinde bozulmayla sonuçlanmaktadır. Bunu iyonların dengesinde bozulma ile hücre içi kalsiyum artışı ve buna bağlı proteazların aktivasyonu takip eder. Hücre içi organellerde de oluşan LPO'na bağlı membran hasarını ise çeşitli litik enzimlerin salgılanması ve buna bağlı hasar artışları izlemektedir (Konukoğlu, 2007).

Lipit peroksidasyonu, fosfolipitlere doğrudan zarar vermekle birlikte programlanmış hücre ölümünü indükleyen hücre ölümü sinyali olarak da işlev görebilir. Oksitlenmiş fosfolipitler birçok inflamatuar hastalıkta da önemli bir rol oynayabilir ve sıklıkla proinflamatuar değişikliklere aracılık edebilir. ROTlar ile indüklenen LPO, apoptoz, otofaji ve ferroptoz dahil olmak üzere hücre ölümünde kritik bir rol oynamaktadırlar (Su ve ark., 2019).

Ferropitoz, Fe'e bağlı lipit peroksit birikimi ile karakterize düzenlenmiş hücre ölümünün apoptotik olmayan yeni tanımlanmış bir şeklini tanımlamaktadır. Otofaji ve apoptozdan farklı olarak, ferropitozda azalmış veya kaybolmuş mitokondriyal krista, dış mitokondriyal zarın yırtılması ve yoğunlaştırılmış bir mitokondriyal zar olmak üzere

sitolojik değişikliklerle karakterize, Fe'e ve ROT'lara bağımlı bir hücre ölümü bulunmaktadır. Plazma zarı bütünlüğünün kaybolması, sitoplazmik şişme, sitoplazmik organellerin şişmesi ve orta derecede kromatin yoğunlaşması da mevcuttur (Ergün ve ark., 2022).

Serbest Radikallerin DNA Üzerine Olan Etkileri

Hem ROTlar hemde RNTler, nükleik asitlere oksidatif olarak zarar verebilmektedirler. Mitokondriyal DNA, ROTların üretildiği yere yakın konumda olduğundan ROT saldırısına karşı nükleer DNA'ya göre daha savunmasız bir haldedir (Phaniendra ve ark., 2015). Canlı organizmalarda oluşan DNA hasarı ise çeşitli mekanizmalarla onarılmaktadır. DNA'daki serbest radikal hasarı onarılamazsa, genetik istikrarsızlığa ve dolayısıyla karsinogenez gibi hastalık süreçlerine yol açabilirler (Dizdaroglu ve Jaruga, 2012).

Serbest radikaller aerobik canlı organizmalarda normal hücre içi metabolizma ve iyonlaştırıcı radyasyonlar, UV radyasyonu, redoks döngülü ilaçlar, kanserojen bileşikler, çevresel kirleticiler vb. gibi eksojen kaynaklar tarafından sürekli olarak oluşturulurlar. Oksijen metabolizması OH•, O_2-• ve radikal olmayan H_2O_2 üretir. Bunlar içinde OH• oldukça reaktiftir ve DNA ile yakın veya difüzyon kontrollü hızlarda reaksiyona girerek kimyasal modifikasyonlara neden olmaktadır (Dizdaroglu ve Jaruga, 2012). ROTlar, en önemlisi olan OH•, pürin ve pirimidin bazları, deoksiriboz şeker omurgası gibi DNA'nın tüm bileşenleriyle doğrudan reaksiyona girebilmekte ve DNA'da tek ve çift sarmallı kırılmalar dahil olmak üzere bir dizi değişime neden olmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015). Yüksek düzeyde reaktif olan OH• bu etkisini DNA bazlarındaki çift bağlara H atomunu eklemek suretiyle ya da timin yapısındaki metil gruplarından ve 2-deoksiribozun C-H bağlarından H atomu çıkarmak suretiyle gösterir (Özcan ve ark., 2015). OH• saldırısı ile oluşan pürin eklentileri arasında 8-hidroksi-2′-deoksiguanozin (8-OHdG), 8-hidroksideoksi adenosin, 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin bulunur. OH• radikali tarafından pirimidin saldırısı, timin glikol, urasil glikol, 5-hidroksideoksi üridin, 5-hidroksi deoksisitidin, hidantoin gibi farklı pirimidin eklentileri üretir. DNA bazlarının diğer serbest radikal kaynaklı eklentileri arasında 5-formil urasil, sitozin glikol, 5,6-dihidrotironin, 5-hidroksi-6-hidro-sitozin, 5-hidroksi-6-hidro urasil, urasil glikol ve alloksan bulunmaktadır. DNA'daki

şeker parçasının başlıca serbest radikal kaynaklı eklentileri arasında ise glikolik asit, 2-deoksitetrodialdoz, eritroz, 2-deoksipentonik asit lakton, 2-deoksipentoz-4-uloz bulunmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015).

DNA'da oluşan bu baz mutasyonlarının en çok bilinir olanı 8-OHdG'dir. OH•, guanin molekülünün 8. pozisyonuyla etkileşip oksidasyonuna yol açmakta ve DNA'da oluşan bu oksidatif hasarla ise 8-OHdG meydana gelmektedir. 8-OHdG ise oksidatif DNA hasarının miktarının belirlenmesinde plazma ve idrarda bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Özcan ve ark., 2015). 8-OHdG, mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmada önemli bir rol oynamaktadır. 8-OHdG mitokondriyal DNA'da nükleer DNA'ya göre daha yüksek seviyelerde bulunmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015).

Serbest radikallerin DNA üzerinde oluşturduğu bir diğer etki de oluşan baz radikallerin proteinlerin aromatik aminoasitleri ile kombine olarak DNA-protein çapraz bağları meydan getirmesidir. Neticede hücrelerin oksidanlara maruziyeti replikasyon ve transkripsiyon üzerine etkili olmakta bununla beraber DNA tamir mekanizmalarını engelleyerek DNA hasarını büyütmektedir (Özcan ve ark., 2015).

Öte yandan, RNTler ve RNTlerin en önemlisi olan $ONOO^-$, guanin ile etkileşime girerek sırasıyla 8-nitroguanin ve 8-oksodeoksiguanozin gibi nitratif ve oksidatif DNA lezyonlarına yol açmaktadır. Oluşan 8-nitroguanin kararsızdır ve spontan olarak uzaklaştırılabilir, bu da apurinik bir bölgenin oluşmasına neden olur. DNA sentezi sırasında adenin 8-nitroguanin ile eşleşerek Guanin-Timin (G-T) transversiyonlarına neden olabilir. 8-nitroguanin, karsinojenezde rol oynayan mutajenik bir DNA lezyonudur (Phaniendra ve ark., 2015).

Serbest Radikallerin RNA Üzerine Olan Etkileri

Esasında RNA, insanlarda DNA'dan daha fazla oksidatif hasara maruz kalmaktadır. RNA'nın oksidatif hasara DNA'dan daha yatkın olmasının sebebiyse RNA'nın tek sarmallı yapıda olması, oksitlenmiş RNA için aktif bir onarım mekanizmasının bulunmaması, RNA'nın proteinler tarafından DNA'ya göre daha az korunması ve dahası bu sitoplazmik RNA'ların ROT'ların üretildiği mitokondriye yakın olmasıdır. ROTlar vücutta üretilen farklı RNA'lara saldırabilmektedirler. 7,8-dihidro-8-okso-guanozin (8-

oksoG), en kapsamlı şekilde incelenen RNA hasar ürünüdür ve seviyeleri Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, ateroskleroz, hemokromastozis ve miyopatiler gibi çeşitli patolojik durumlarda yükselmektedir (Phaniendra ve ark., 2015).

2.2.5. Oksidatif Stres

Serbest radikaller çeşitli endojen ve eksojen süreçler yoluyla üretiliyor olsa da enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından nötralize edilirler (Hajam ve ark., 2022). Öte yandan serbest radikaller ile antioksidanların varlığı ve aktivitesi arasında bir dengesizliğin olduğu durum oksidatif stres olarak tanımlanmakta ve oksidatif streste bu denge, serbest radikallerin artması ve/veya antioksidan aktivitenin azalması nedeniyle bozulmaktadır (Czerska ve ark., 2015).

Beyin ve Oksidatif Stres

Beyin en aktif organlardan biri olması nedeniyle oksidatif strese çok duyarlıdır. Bu duyarlılık beynin vücuttaki oksijenin %20'si tüketmesinden, Fe, Cu gibi ROT üretimini katalizlemekte kullanılan aktif redoks metallerinin beyinde yoğun olarak bulunmasından, LPO için gerekli doymamış yağ asitlerinin beyinde çok yüksek miktarda bulunmasından, endojen antioksidan savunma mekanizmasında önemli bir görevi olan glutatyonun beyinde az oranda bulunmasından kaynaklanmaktadır (Aslan ve Karahalil, 2019).

2.3. Antioksidan Savunma

Canlı hücrelerde bulunan karbonhidrat, protein, lipit ve nükleik asitler gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu olaya da antioksidan savunma denilmektedir (Kasapçopur Özel ve Birdane, 2014). Antioksidan savunma, hücrelerde ve ekstraselüler sıvıda sitotoksik olan serbest radikalleri zararsız duruma getirmeye çalışmaktadır (Kasapçopur Özel ve Birdane, 2014). Antioksidanlar, antioksidan etkiyi ortaya çıkarma şekline göre dört gruba ayrılmaktadır (Mut-Salud ve ark., 2016; Neha ve ark., 2019):

1-Serbest radikalleri daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzim sistemleri

2-Serbest radikallerin oluşmasını önleyen ve oluşmuş olanın ise yayılmasını engelleyen antioksidan maddeler (kompartmantalize edenler)

3-Oksidatif zincir reaksiyonlarını önlemek için serbest radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler (scavengers)

4-Serbest radikallerin biyomoleküllere verdiği hasarın onarılmasını sağlayanlar

2.3.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve ekzojen, enzimatik ve non-enzimatik, birincil ve ikincil, suda ve yağda çözünür, doğal ve sentetik olmak üzere çeşitli şekillerde sınıflandırılmıştır (Pisoschi ve Pop, 2015). Bununla birlikte endojen ve eksojen, enzimatik ve non-enzimatik, olarak yapılan sınıflandırmalar en yaygın inceleme şekilleridir. Antioksidanlar kökenlerine göre endojen ve eksojen antioksidanlar olarak iki gruba ayrılmaktadırlar (Neha ve ark., 2019).

2.3.2. Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki alt başlıkta incelenebilir. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır (Çavdar ve ark., 1997). Bu nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan minör olarak enzimler, majör olarak E ve C vitamini, transferin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, β-karoten, UA, glukoz, Cys, trakeobronşial mukus ve α-1 antitripsin sorumludur (Çavdar ve ark., 1997).

Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, bir O2-•'nin O_2 molekülüne yükseltgenip, diğer bir süperoksit radikalinin ise daha az reaktif bir molekül olan H_2O_2'e indirgendiği reaksiyonu katalize eden bir endojen enzimatik antioksidandır (Aslankoç ve ark., 2019). SOD, süperoksit radikallerini H_2O_2'ye ayrıştıran tek enzimatik sistemdir (Kinnula ve Crapo, 2003).

$$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} O_2 + H_2O_2$$

Süperoksit dismutaz enzimleri, aktiviteleri aracılığıyla çeşitli ROT ve RNT seviyelerini kontrol eder, böylece hem bu moleküllerin potansiyel toksisitesini sınırlandırır hemde sinyallemeyi düzenleyerek sinyal fonksiyonları tarafından düzenlenen hücresel yaşamı kontrol eder (Wang ve ark., 2018). SOD bir metallo-enzim olup aktivitesi için metal bir kofaktöre ihtiyaç duymaktadır; bağlandığı metal iyonları demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu) ve manganez (Mn) olup iyonunun türüne göre enzimin çeşitli formları mevcuttur (Ighodaro ve Akinloye, 2019). İnsanlar, süperoksit dismutazın üç izoformuna sahiptir: Cu/ZnSOD (SOD1), mitokondriyal MnSOD (SOD2) ve hücre dışı Cu/ZnSOD (SOD3) (Eleutherio ve ark., 2021). İnsan SOD1'i (hSOD1), mitokondriyal zarlar arası boşluk, sitozol ve peroksizomdan kaynaklanan süperoksit seviyelerinin düzenlenmesinden sorumludur (Eleutherio ve ark., 2021). Ayrıca immünositokimyasal yöntemler kullanılarak SOD1 in çekirdekler ve lizozomlarda da bulunduğu rapor edilmiştir (Culotta ve ark., 2006). Antioksidan bir enzim olmasının yanı sıra, SOD1 proteininin oksidatif strese maruz kaldıktan sonra nükleer gen transkripsiyonunun aktivasyonu, RNA metabolizmasının düzenlenmesi ve solunumu baskılamak için glikoz algılama yolunun modülasyonu dâhil olmak üzere bazı yeni işlevleri olduğu da bildirilmiştir (Eleutherio ve ark., 2021). SOD1 genindeki mutasyonlar Down sendromu ve Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) ile ilişkilendirilmiştir (Zelko ve ark., 2002). İnsan SOD2 (hSOD2) mitokondriyal matriks içinde yer almaktadır (Flynn ve Melov, 2013). SOD2 hücre farklılaşmasında, tumorogenezisde ve pulmoner toksisite ile uyarılan hipokside majör rol oynar (Aslankoç ve ark., 2019). Ayrıca, SOD2 gen mutasyonları nadir görülen ailesel motor nöron hastalıkları, idiopatik kardiyomiyopati ve erken yaşlanma ile ilişkilendirilebilir (Aslankoç ve ark., 2019). İnsan SOD3 (hSOD3) ise tipik olarak vasküler düz kas hücrelerinde yapılır ve hücre dışı matriks ve endotelyal yüzey bileşenlerine bağlandığı hücre dışı ortama salgılanır (Culotta ve ark., 2006). hSOD3, süperoksit radikalinin LDL'yi okside etmesini ve nitrik oksit ile zararlı peroksinitrit oluşturmak üzere reaksiyona girmesini önlemektedir (Stralin ve ark., 1995). SOD3 seviyelerinin düzenlenmesi, ateroskleroz, koroner arter hastalıkları, hipertansiyon, diyabet ve iskemi/reperfüzyon hasarı gibi vasküler kaynaklı hastalıkların patogenezinde özellikle önemli rol oynayabilir (Aslankoç ve ark., 2019). Farelerde SOD3'ün,

hipokampus, striatum, suprakiazmatik çekirdek, glial hücreler, beyin omurilik sıvısı (BOS) 'nda bulunduğu ifade edilmektedir, bu nedenle, SOD3 ekspresyonu, öğrenme ve bellek, serebral iskemi, travmatik beyin hasarı gibi nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilebilir (Aslankoç ve ark., 2019). İnsanda, SOD1 ve SOD2 tüm dokularda bulunur, ancak SOD3 yalnızca birkaç dokuda kayda değer ölçüde ve SOD1 veya SOD2'den çok daha düşük bir konsantrasyonda bulunur, bununla birlikte, hücre dışı sıvılardaki ana SOD' dur (Hernandez-Saavedra ve ark., 2005).

Katalaz (CAT)

Katalaz, hemen hemen tüm aerobik organizmalarda bulunan, esas olarak memeli hücrelerinin peroksizomlarında bulunan en önemli antioksidan enzimlerden biridir (Nandi ve ark., 2019; Scibior ve Czeczot, 2006). Bu enzim vücudumuzda geniş bir alana dağılmış olup, memeli dokularında CAT aktivitesi karaciğer ve eritrositlerde en yüksek, böbrek ve yağ dokusunda nispeten yüksek, akciğer ve pankreasta orta düzeyde, kalp ve beyinde ise çok düşüktür (Goyal ve Basak, 2010; Nishikawa ve ark., 2009). CAT'ın H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak iki enzimatik aktivitesi vardır; H_2O_2 konsantrasyonu yüksekse CAT katalitik etki göstererek H_2O ve O_2 oluştur ve H_2O_2'yi uzaklaştırır (katalitik reaksiyon), bununla birlikte düşük bir H_2O_2 konsantrasyonunda ve uygun bir hidrojen donörünün (örneğin, etanol, metanol, fenol ve diğerleri) varlığında, CAT peroksidik olarak etki ederek H_2O_2'yi uzaklaştırır, ancak substratını oksitler (peroksidatik reaksiyon) (Scibior ve Czeczot, 2006).

$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$ (Katalitik Reaksiyon)

$H_2O_2 + H^+ + 2e \rightarrow 2\ H_2O$ (Peroksidatik Reaksiyon)

Katalaz sıçan kalbinde bulunan mitokondri istisna olmak üzere memeli hücrelerinin mitokondrilerinde bulunmamaktadır (Aslankoç ve ark., 2019). Mitokondriyal H_20_2 GPx tarafından ortadan kaldırılırken, önemli miktarda H_20_2 mitokondriden sitozole difüze olur ve sitozole girdikten sonra, H_20_2 detoksifikasyonunun çoğu sitozolik GPx'la veya difüzyon yolu ile geçtiği peroksizomlarda ise CAT tarafından metabolize edilir (Radi ve ark., 1991).

Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz, memeli hücrelerinin mitokondrisinde ve sitoplazmasında bulunan önemli bir hücresel antioksidan enzimdir (Handy ve Loscalzo, 2022; Puzanowska-Tarasiewicz ve ark., 2009). Mitokondride bulunan SOD2 enzimi tarafından oluşturulan H_20_2' nin bir kısmı, mitokondrial GPx tarafından ortadan kaldırılırken önemli miktarda H_20_2 mitokondriden sitozole difüze olur ve H_20_2 detoksifikasyonunun çoğu sitozolik GPx tarafından gerçekleştirilir (Radi ve ark., 1991).

$$H_2O_2 + 2\ GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2\ H_2O$$

Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak GSH'u kullanarak H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eder, böylece H_2O_2 'den $OH^{\cdot}$' nin oluşmasını engeller (Karabulut ve Gülay, 2016). İnsanlarda şu ana kadar tanımlanmış sekiz GPx (GPx1-8) alt tipi bulunmaktadır (Brigelius-Flohe ve Maiorino, 2013). Bunlardan yalnızca beş alt tipi (GPx1-4 ve 6) yapısında selenyum (Se) bulunan selenoproteinlerdir (Brigelius-Flohe ve Flohe, 2020). GPx5, 7 ve 8 ise yapısında Se barındırmamaktadır (Brigelius-Flohe ve Maiorino, 2013). Yapısında Se bulunan GPx'lar, H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkiliyken yapısında Se bulundurmayan GPx'lar ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet göstermektedirler (Karabulut ve Gülay, 2016). İlk tanımlanmış seleno-enzim olan GPx1 hemen hemen her dokuda mitokondri ve sitozolde bulunmaktadır. GPx1 sinir sisteminde inme hasarını, inflamasyonu ve nörodejenerasyonu azaltarak nöroprotektif etkiler, nitrik oksit, vasodilatasyon ve anjiojenezi artırarak ve kardiyomiyopatiyi azaltarak kardiovasküler protektif etkiler göstermektedir (Handy ve Loscalzo, 2022). GPx2, gastrointestinal sistemde, GPx3 ise başlıca böbrek olmak üzere çeşitli dokularda eksprese edilir ve glikoprotein olarak hücre dışı sıvılara salgılanır (Aslankoç ve ark., 2019). GPx4'ün apoptozun düzenlenmesinde ve GPx5 ile birlikte erkek doğurganlığında rolleri vardır bununla birlikte fosfolipit hidroperoksitleri azaltan tek GPx enzimi GPx4' dür (Aslankoç ve ark., 2019; Brigelius-Flohe ve Maiorino, 2013). GPx5 esas olarak epididim dokusunda eksprese edilir ve spermin oksidatif strese karşı korunmasında rol oynar (Pei ve ark., 2023). GPx6'ın ise insanda sadece koku

epitelinde ekspresyonu tanımlanmıştır (Brigelius-Flohe, 2006). GPx7 ve GPx8 enzimlerinin her ikisi de endoplazmik retikulumda bulunur ve endoplazmik retikulum proteinlerinin oksidatif katlanmasında rol oynayan gerekli enzimlerdir ve GPx8 ayrıca endoplazmik retikulumda Ca^{2+} 'nın düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Pei ve ark., 2023).

Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz, yapısında flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren flavoprotein bir enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016). Hücrelerin çoğunda en bol bulunan indirgeyici tiyollerden biridir ve indirgenmiş GSH'un tedarikinin sürdürülmesinden sorumludur (Couto ve ark., 2016). GSH disülfidin, sülfidril form GSH'a indirgenmesini katalize eder (Öztürk Kesebir, 2021). Bunu NADPH'nin bir elektronunu okside GSH'un disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH' ye dönüştürerek gerçekleştirir (Karabulut ve Gülay, 2016).

$$2\ GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2\ GSH + NADP^+$$

Glutatyon redüktazın hücrede, protein ve DNA biyosentezi, reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikallerin detoksifikasyonu gibi çeşitli önemli görevleri bulunmaktadır (Demir, 2019).

Glukoz-6-Fosfat Dehidrojenaz (G6PD)

Tüm memeli hücrelerinin sitoplazmasında bulunan G6PD nin aktivitesi, antioksidan sistemin yeterli işleyişi ve doğal bağışıklığın tepkisi için gereklidir (Perez-Torres ve ark., 2022). G6PD, pentoz-fosfat yolunun ikinci hız sınırlayıcı enzimidir ve NADP'nin NADPH'a indirgendiği ilk reaksiyonu kataliz eder (Özmen, 2009; Perez-Torres ve ark., 2022). GSH ve GR, GPx ve tioredoksin gibi diğer enzimlerin homeostazisinde kofaktör olarak yer alan NADPH nin üretilmesinden sorumludur (Wu ve ark., 2008). NADPH, nükleik asitler, proteinler ve membran lipitleri gibi pek çok molekül üzerinde serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresden hücreyi korumak amacıyla hayati bir öneme sahiptir (Özmen, 2009).

Non-Enzimatik Antioksidanlar

Glutatyon (GSH)

Glutatyon (γ- l -glutamil- l- sisteinil-glisin) glutamat, Cys ve glisinden oluşan bir tripeptit olup, hücrelerde sentezlenen en önemli düşük molekül ağırlıklı antioksidandır (Forman ve ark., 2009; Kaplowitz ve ark., 1985). GSH, iki sitozolik enzim olan γ-glutamil-sistein sentetaz (GCS) ve GSH sentetaz tarafından katalize edilen reaksiyonla tüm hücre tiplerinde sentezlenmekle beraber ana sentez yeri karaciğerdir (Wu ve ark., 2004). GSH, tiyol indirgenmiş (GSH) ve disülfit oksitlenmiş (GSSG) olmak üzere iki formda bulunur (Kaplowitz ve ark., 1985). Tiyol indirgenmiş GSH, toplam GSH'nin %98'inden fazlasını oluşturan baskın formdur (Lu, 2013). Hücresel GSH'nin büyük bir kısmı (%85-90) sitozolde bulunur, geri kalanı ise birçok organelde (mitokondri, nükleer matriks ve peroksizomlar dâhil) bulunmaktadır (Wu ve ark., 2004). GSH, antioksidan savunma, ksenobiyotiklerin ve/veya metabolitlerinin detoksifikasyonu, hücre döngüsünün ilerlemesi ve apoptozun düzenlenmesi, Cys'in depolanması, redoks potansiyelinin sürdürülmesi, bağışıklık fonksiyonunun modülasyonu ve fibrogenez dâhil olmak üzere birçok hayati fonksiyonda görev almaktadır (Liu ve Gaston Pravia, 2010; Lu, 2013). GSH, GPx'in katalitik etkisiyle lipit peroksitleri ve H_2O_2 'yi detoksifiye eder ya da $^1O_2$ ve OH• 'ni temizler (Karabulut ve Gülay, 2016).

Ürik Asit (UA)

Ürik asit çok önemli bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (Wang ve ark., 2020). Her ne kadar UA in deneysel çalışmalarla bir antioksidan olduğu kabul edilmiş olsa da vasküler endotel ve düz kas hücrelerinde inflamasyona ve hücre içi oksidatif strese neden olarak endotel disfonksiyonuna yol açtığına dair kanıtlar da bulunmaktadır (Saito ve ark., 2021). Sharaf ve arkadaşları UA in hücre dışında güçlü bir antioksidan olarak hareket ettiğini, hücre içindeyse NADPH oksidaz enzimini uyararak hücre içi oksidatif stresin artışına, mitokondriyal hasara ve adenozin trifosfat (ATP) tükenmesine yol açabilen bir pro-oksidan gibi davranabildiğini belirtmişlerdir (Sharaf El Din ve ark., 2017). UA, hem endojen ve ekzojen kaynaklıdır. Karaciğer, kas, ince barsaklar, böbrek ve vasküler endotel gibi dokular endojen olarak üretildiği kaynaklarıdır (Ayyildiz, 2016). UA, vücuttaki pürin nükleotidleri olan guanilik asit, inozinik asit, adenilik asit ve

adenozin trifosfat katabolizmasının son ürünüdür (Ayyildiz, 2016). Bu katabolizmada son metabolik adım olan hipoksantinin önce ksantine sonrasında ise UA'e dönüşümü, ksantin oksidoredüktaz (XOR) enzimi tarafından düzenlenir (Iliesiu ve ark., 2010). Hem hipoksantinin ksantine dönüşümünde hem de ksantinin UA e dönüşümünde ROT'lar üretilmektedir (Iliesiu ve ark., 2010). UA, antioksidan etkisini hidroksil, singlet oksijen, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrik asit gibi ROT'ları temizleyerek, geçiş metallerini şelatlayarak ve LPO'nu engelleyerek göstermektedir (Karabulut ve Gülay, 2016). Güçlü bir serbest radikal tutucu olmasının yanı sıra Fe ve Cu gibi metal iyonlarını zayıf reaktif formlara dönüştürerek şelatör görevi görebilen UA, insan biyolojik sıvılarındaki en önemli ve en bol bulunan antioksidanlardan biri olarak kabul edilmektedir (Kumar ve ark., 2015; Waring, 2002). Plazmadaki tüm serbest radikal temizleme kapasitesinin üçte ikisine kadar da katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Waring, 2002).

Melatonin

Melatonin, normal aydınlık/karanlık koşullar altında geceleri esas olarak epifiz (pineal gland) bezi tarafından serotoninden sentezlenen ve salgılanan bir metoksiindol (N asetil-5-metoksitriptamin)'dür (Claustrat ve Leston, 2015). İkincil üretim kaynakları ise retina, bağırsak, deri, trombositler, kemik iliği ve muhtemelen diğer yapılardır ancak bunların sistemik katkısı önemsiz olarak kabul edilmektedir (Claustrat ve Leston, 2015). Melatonin uyku/uyanıklık döngüsünü, diğer sirkadiyen ve mevsimsel ritimleri düzenlemenin yanı sıra bir immün sistemi uyarıcı ve sitoprotektif ajan olarak da görev yapmaktadır (Hardeland ve ark., 2006). Hem suda hem de lipit fazda çözünebildiğinden tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla geçip hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından korumaktadır (Atasoy, 2019). Melatoninin önemli fonksiyonunun son derece güçlü serbest bir radikal temizleyici olduğu düşünülmektedir ve hem reaktif oksijen türlerini hem de reaktif azot türlerini etkisiz hale getirebilir (Atasoy, 2019). Melatoninin aynı zamanda çok toksik olan hidroksil radikalini, peroksi nitrit anyonu ve peroksil radikalini yakaladığı bilinmektedir. Melatonin bazı yerlerde bir prooksidatif enzim olan nitrik oksit sentetazı da inhibe etmektedir. Ayrıca süperoksit dismutaz enzimi için mRNA düzeyini stimüle etmekte ve GPx, GR ve glukoz-6 fosfat dehidrojenazı aktive ettiği de bilinmektedir (Atasoy, 2019).

Bilirubin

Kandaki bilirubin düzeylerinin çoğunlukla dalaktaki retiküloendotelyal hücreler tarafından üretildiği düşünülmektedir bununla birlikte, bilirubini biliverdinden dönüştüren biliverdin redüktaz-A enzimi bulunmayan farelerde yapılan yeni çalışmalar, bilirubin üretiminin muhtemelen birçok dokudan meydana geldiğini ortaya koymuştur (Vitek ve ark., 2023). Her ne kadar moleküler biyoloji çalışmaları bilirubinin güçlü bir antioksidan görevi gördüğünü göstermiş olsa da bilirubin ikili davranışa sahip bir moleküldür: düşük ila orta derecede yüksek bilirubin seviyeleri güçlü bir antioksidan gibi davranırken paradoksal olarak yüksek bilirubin seviyeleri nörotoksisite ve oksidatif strese neden olmaktadır (Soto Conti, 2021).

Albumin

Kanda en çok dolaşan protein olan albümin, çeşitli ilaçları ve maddeleri bağlayan ve taşıyan, kanın önkotik basıncını ve dolaşım sisteminin fizyolojik fonksiyonunu koruyan ayrıca antioksidan, antiinflamatuar ve antitrombotik özellikleri de bulunan önemli bir proteindir (Manolis ve ark., 2022). Plazmadaki en önemli ve en etkili antioksidanlardan biridir (Karabulut ve Gülay, 2016). Albümin, reaktif oksijen ve nitrojen türleri için serbest radikal temizleyici olarak görev yapan Cys-34 kalıntısındaki serbest tiyol grubu ile ağırlıklı olarak indirgenmiş halde dolaşmaktadır (Bernardi ve ark., 2020). İndirgenmiş Cys-34 kalıntısı sayesinde albümin $OH^{\cdot}$ 'yi ve HOCl oksidanlarını süpürebilir (Karabulut ve Gülay, 2016). Ayrıca birçok ilacın aktivitesini modüle eder ve bir dizi metalik iyonu, toksik metabolitleri ve potansiyel olarak sistemik inflamasyonu, antioksidan ve endotel fonksiyonunu etkileyen inflamatuar aracıları bağlamaktadır (Bernardi ve ark., 2020). Albümin serbest Cu ve Fe'i nötralize ederek oksidatif stres hasarını da kısıtlamaktadır (Bernardi ve ark., 2020).

Koenzim Q10 (CoQ10)

Ubikinon olarak da bilinen CoQ10, tüm hücresel zarlar, mitokondri, mikrozomlar ve Golgi aparatında yaygın olarak bulunan ve çeşitli hücre işlevlerine sahip, lipitte çözünebilen, endojen olarak sentezlenen bir lipitte çözünebilir vitamin benzeri moleküldür (Frei ve ark., 1990; Hargreaves ve ark., 2020). Güçlü bir antioksidan, bir

membran stabilizatörü ve oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretiminde bir kofaktör olarak görev almaktadır (Nakajima ve ark., 2008). Elektron taşıma zincirinin önemli bir bileşeni olan CoQ10, kompleks 1 ve 2'den elektronları kabul eder ve bunları kompleks 3'e taşır; bu nedenle ATP sentezi büyük ölçüde CoQ10 konsantrasyonlarına bağlıdır (Qu ve ark., 2009). Hem mitokondriyal hem de mitokondri dışı (Golgi aparatı, lizozomlar, endoplazmik retikulum, peroksizomlar) hücresel membranları serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı korur (Hargreaves ve ark., 2020). CoQ10 doğrudan bir antioksidan görevi görmenin yanı sıra, aynı zamanda sırasıyla C ve E vitamini gibi antioksidanların yenilenmesinde de rol oynar (Hargreaves ve ark., 2020).

α-Lipoik Asit ve Dihidrolipoik Asit

α-Lipoik asit (1,2-ditiolan-3-pentanoik asit) ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit güçlü antioksidanlardır. α-Lipoik asit , hidroksil ve nitrik oksit radikallerini, HOCl, H_2O_2, peroksinitrit anyonu ve singlet oksijeni süpürmektedir. Dihidrolipoik asit ise lipoik asitin süpürdüğü radikallere ilaveten süperoksit ve peroksil radikallerini de süpürürken singlet oksijenin süpürülmesinde etkisizdir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Seruloplazmin

Seruloplazmin, beyin dahil bir sürü dokuda sentezlenen α2 serum glikoproteindir (Chauhan ve ark., 2004; Karabulut ve Gülay, 2016). Mavi protein olarak da bilinen seruloplazmin plazmada dolaşan önemli bir proteindir ve serum Cu'ının %90-95'ini bağlayıp taşıyabilen bir Cu taşıyıcısı olarak işlev görmektedir. Seruloplazminin bilinen işlevleri arasında Cu taşınması, Fe metabolizması, anjiyogenez ve koagülasyona katılım ile antioksidan savunma yer almaktadır. Bu proteinin aynı zamanda çeşitli patolojik durumlarda faydalı olabilecek antioksidan işlevlere sahip olduğu gösterilmiştir (Giurgea ve ark., 2005). Seruloplazmin ferroksidaz ve SOD gibi davranarak eritrosit zarlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini aktif oksijen türlerinin zararlarından korumaktadır (Chauhan ve ark., 2004; Karabulut ve Gülay, 2016). Bununla birlikte, seruloplazmin tamamen zararsız değildir çünkü bu proteinin yüksek seviyeleri ateroskleroz ile ilişkilidir. Bir antioksidan olarak kabul edilse de seruloplazmine bağlı olan Cu, lipoproteinlerin oksidasyonunu katalize edebilir. Ayrıca seruloplazminin

kendisi belirli durumlarda in vitro lipoprotein oksidasyonunu başlatabilmektedir (Giurgea ve ark., 2005).

Transferrin

Transferrin, serumda büyük konsantrasyonlarda diğer vücut sıvılarında ise düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Başlıca görevi Fe'in çoğalan hücrelere taşınmasıdır ve aynı zamanda önemli bir büyüme faktörüdür. Fe iyonu, Fenton reaksiyonuyla hidrojen peroksitin oldukça toksik hidroksil radikallerine dönüşümünü katalize ederek oksidatif strese katkıda bulunur. Transferrin, serbest Fe iyonunun konsantrasyonunu azaltarak bir antioksidan gibi davranmaktadır (Chauhan ve ark., 2004).

Selenyum (Se)

Selenyum, biyolojik olarak aktif selenoproteinlerin yapısına katılan, vücut tarafından üretilemediği için eksojen (içme suyu, toprak, besinler) olarak alınması gereken, insanlar için gerekli olan eser bir elementtir (Karaca, 2023). Vücutta, bağışıklık fonksiyonları ve antioksidan savunma gibi çok sayıda süreçte görev almaktadır (Kielczykowska ve ark., 2018). Se'un fizyolojik etkisi esas olarak selenoproteinlerin yapısına katılmasından kaynaklanmaktadır (Bjorklund ve ark., 2022). Araştırmalar, memeli organizmalarında yaklaşık yüz selenoprotein bulunduğunu ortaya koymuştur ve bunların en önemlileri antioksidan savunmada görevli olan enzimler GPx ve tiyoredoksin redüktazdır (Kielczykowska ve ark., 2018). Se'a bağımlı GPx'lar (GPX1-4 ve GPX6) ve tioredoksin redüktazlar (TrxR1-3) ise oksidatif stresi doğrudan bastırmaktadır (Bjorklund ve ark., 2022).

2.3.3. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar dış kaynaklardan alınan veya takviye olarak alınan moleküllerdir. Vitaminler (C ve E), eser elementler (Zn, Se), karotenoidler (β-karoten, likopen, lutein, zeaksantin), fenolik asitler (klorojenik asitler, gallik asit, kafeik asit), flavonoller (kuersetin, kaempferol, mirisetin), flavanoller (proantosiyanidinler ve kateşinler), antosiyanidinler (siyanidin ve pelagonidin), izoflavonlar (genistein, daidzein ve glycitein), flavanonlar (naringenin, eriodictyol ve hesperetin) ve flavonlar (luteolin ve apigenin) eksojen antioksidanlar olarak bilinmektedir (Bouayed ve Bohn, 2010).

Oksidasyon ve antioksidasyon arasındaki denge (redoks dengesi) sağlıklı bir biyolojik sistemin sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir. Hücresel redoks durumunda, çift yönlü etki sadece ROTlar ile ilgili değil, aynı zamanda antioksidanlarla da ilgilidir. Redoks homeostazını korumak veya yeniden tesis etmek için fizyolojik dozlarda eksojen antioksidanlar gereklidir. Bununla birlikte, yüksek dozda eksojen antioksidanlar redoks dengesini bozabilir (Bouayed ve Bohn, 2010).

2.4. Beyin

2.4.1. Beyin Yapısı ve Gelişimi

Beyin, sinir sisteminin merkezinde görev alan oldukça karmaşık yapıya sahip bir organdır. Beynin ağırlığı yenidoğan bebeklerde vücut ağırlığının yaklaşık %10'u kadardır (Epstein, 1973). Beynin büyümesi bebeklik ve erken çocukluk döneminde çok hızlıdır ve doğum öncesi beyin ve ilgili dokularda başlayan büyüme bebeklik ve erken çocukluk döneminde de sürdürülmektedir (Malina, 2004). Beyin ağırlığı doğumda erişkin beyin ağırlığının %25'i iken, iki yaşına gelindiğinde erişkinin %60'ına, beş yaşına gelindiğinde %90'ına, 10 yaşına gelindiğinde ise %95'ine ulaşır (Araç Keleş, 2008).

Dobbing ve Sands, beynin doğum öncesinde ve sonrasında gösterdiği hızlı büyümeyi "beyin büyüme atağı" olarak tanımlamışlardır. Büyüme atağı, hamileliğin ortalarında başlayan ve yaklaşık dört yaşına kadar devam eden hızlı bir büyüme dönemidir. Gebeliğin ortasından yaklaşık 18 aylık olana kadar olan dönemin ilk kısmı glial hücrelerin hızlı çoğalmasıyla, yaklaşık dört yaşına kadar süren sonraki kısmı ise miyelinizasyonla şekillenir (Dobbing ve Sands, 1973).

Erişkin insan beyninin ağırlığı ortalama 1350 gram kadardır (Keçik, 2008).

2.4.2. Beyin Anatomisi

Beyin anatomisinin detaylı olarak bilinmesi beyin bozukluklarının tedavisinde önem taşımaktadır. MSS, beyin ve omurilik (medulla spinalis) 'ten oluşmaktadır. Beyin ise anatomik olarak serebrum, beyin sapı ve beyincik (serebellum) olmak üzere üç parçadan meydana gelmektedir. Beyin sapı, serebrum ile omurilik arasında bulunmakta

ve medulla oblangata, pons ve orta beyin (mezensefalon) olmak üzere üç kısma ayrılmaktadır. Beyin sağ ve sol olmak üzere iki yarım küreye (hemisfer) bölünmüş ve iki yarım küre korpus kallozum ile birbirine bağlanmıştır (Thau ve ark., 2024).

Beyin, frontal, parietal, oksipital, temporal, insular, limbik ve santral olmak üzere yedi lobdan oluşmakta, lobların üzerindeyse girus denilen çıkıntılar ve sulkus denilen girintiler bulunmaktadır (Çalışkan ve Yavaş, 2020).

Beyin, en dış taraftan duramater, en içten beyin dokusuna yapışık ince bir zar olan piamater, ortada ise örümcek ağını andıran araknoidmater zarları ile çevrilmiştir. Duramater beyni en dıştan sarmakta olan sağlam ve fibröz yapıya sahip, yoğun ve damar barındıran bir zardır. Duramater sert bir tabakaya ve hiçbir şekilde esnemeyen bir yapıya sahiptir. Araknoidmater, duramater ve piamater arasında kalan, ince ve damar bulunmayan bir zardır. Araknoidmater her ne kadar damar bulunmayan bir zar olarak bilinse de piamatere uzanan santral sinir damarları mevcuttur. Beyni saran en alt tabakada kalan ve beyin iç bölgelerine en yakın zar piameterdir. Piamaterin en önemli özelliği, araknoidmater ile arasında kalan BOS'un bulunduğu zar olmasıdır. Bu zar, kendi içinde belirli uzantılarla duramater ve araknoidmater ile bağlantı kurmaktadır. Duramater ile periosteum tabakası ve ilgili ligamentler arasında epidural boşluk adı verilen bir aralık bulunmaktadır. Araknoidmater ile duramater arasında subdural boşluk denilen ve seröz bir sıvı ile kaplı bölüm bulunmaktadır. Ayrıca araknoidmater ve piamater arasında da beyin-omurilik sıvısı taşıyan subarakronoid boşluk bulunmaktadır (Snell, 2000).

Beynin ventriküler sistemi, beyni yastıklayan BOS ile dolu, birbirine bağlı bir dizi boşluktur. Serebral ventriküler sistem, iki lateral ventrikül (her serebral hemisferde bir adet), diensefalondaki üçüncü ventrikül ve arka beyindeki dördüncü ventrikül içeren dört ventrikülden oluşur. Altta omuriliğin merkezi kanalıyla devam eder. Ventrikül sistemi ve subaraknoid boşluk içinde BOS, ventriküler sistemde dolaştıktan sonra araknoid granülasyonlar yoluyla dolaşıma geri döner (Shenoy ve Lui, 2024).

2.4.3. Hücresel Yapı

Beyin ve omurilik (medulla spinalis) ‘den oluşan merkezi sinir sistemi, glia hücreleri ve nöronlar olmak üzere iki ana geniş hücre tipinden oluşmaktadır (Araç Keleş, 2008; Jessen, 2004). Glia hücrelerinin sayısı bölgesel farklılıklarla birlikte nöronlardan beş ila 10 kat daha fazla olsa da iki hücre tipi de sinir dokusunda benzer miktarda yer kaplamaktadır (Jessen, 2004; Wang ve ark., 2016). Glial hücreler genellikle sinir hücrelerinden daha küçüktür (Wang ve ark., 2016). Beyin hemisferlerinin en dış tabakasını oluşturan neokortekste kadın beyninde yaklaşık 19 milyar, erkek beyninde ise yaklaşık 23 milyar nöron bulunduğu tahmin edilmektedir (Pakkenberg ve Gundersen, 1997).

Glial hücreler makroglial ve mikroglial hücreler olarak iki gruba ayrılmaktadır (Akleylek, 2019). Makroglial hücre tipleri, merkezi sinir sisteminde bulunan astrositler, oligodendrositler ve ependim hücreleri, periferik sinir sisteminde bulunan Schwann hücreleri, enterik glial hücreler ve satellite hücreleridir (Jessen, 2004; Wang ve ark., 2016). Embriyodaki glial hücreler, sinir sisteminin geri kalanının gelişmesine izin veren ve nöronların hayatta kalmasını ve farklılaşmasını düzenleyen hücresel bir çerçeve oluştururken, yetişkinlerde glia'nın en iyi bilinen işlevi, aksonların çevresinde miyelin kılıfları oluşturarak sinir sistemi işlevi için gerekli olan sinyalleşmenin hızlı iletilmesine olanak sağlamak, nöronal ortamda uygun iyon ve nörotransmiter konsantrasyonlarını korumaktır ve giderek artan sayıda kanıt da glial hücrelerin, sinir sisteminin temel fonksiyonel birimi olan sinapsların oluşumu, bakımı ve fonksiyonunun temel düzenleyicileri olduğunu göstermektedir (Jessen, 2004). Astrositler, merkezi sinir sisteminde en çok bulunan hücrelerdir (insan beyninin yaklaşık %20-40'ı) (Mohammadi ve ark., 2022). Astrositlerin, MSS nin gelişimi ve sinaptik plastisitede, sinaptik iletimin kontrolünde, kan akışı, enerji ve metabolizmanın düzenlenmesinde, kan-beyin bariyerinin oluşumunda, sirkadiyen ritimlerin, lipit metabolizmasının ve lipoproteinlerin salgılanmasının düzenlenmesinde ve nörogenezde çeşitli roller oynadığı bilinmektedir (Guillamon-Vivancos ve ark., 2015). Astrositler nöronlarda akson miyelinizasyonuna da katılırlar ve nöronların hayatta kalmasında kritik rol oynarlar (Mohammadi ve ark., 2022). Oligodendrositler, MSS'de bulunan nöronal aksonları, bir miyelin kılıf ile çevreleyerek elektrik sinyallerinin daha etkili bir şekilde iletilmesine ve aksonun

yalıtımına olanak tanıyan miyelinizasyonun oluşumunu sağlamaktadırlar (Baumann ve Pham-Dinh, 2001). Merkezi sinir sisteminde miyelinizasyon ve aksonların beslenmesine destek görevleri olan bu hücreler ayrıca sinir sisteminde uyarıların iletiminde de önemli bir görev üstlenirler (Demirci, 2020). Ependimal hücreler omurilikteki santral kanal (canalis centralis) ve beyin ventriküllerini kaplayan nöroepitelyal çok silyalı hücrelerdir (Deng ve ark., 2023). Ependimal hücreler ile ilgili biriken kanıtlar, bu hücrelerin, BOS üretimini ve akışını, beyin metabolizmasını ve atıkların temizlenmesini kontrol ederek MSS nin gelişiminde ve normal fizyolojik süreçlerde anahtar rol oynadığını göstermektedir (Deng ve ark., 2023). Mikroglial hücreler merkezi sinir sisteminde yerleşik makrofajlardır ve beyin patolojisinin en duyarlı sensörleri olarak kabul edilirler (Kettenmann ve ark., 2011). Beyin lezyonlarına veya sinir sistemi işlev bozukluğuna ilişkin herhangi bir işaretin tespit edilmesi halinde mikroglial hücreler, onları "aktive edilmiş mikroglial hücreye" dönüştüren karmaşık, çok aşamalı bir aktivasyon sürecinden geçerek yaralanma bölgesine göç edebilir, çoğalabilir ve hücreleri ve hücresel bölmeleri fagositoza uğratabilirler (Kettenmann ve ark., 2011). Mikroglialar, beynin bağışıklık bekçileri olarak kilit rollerine ek olarak, nöronal homeostazın korunmasında da rol oynarlar (Marinelli ve ark., 2019).

Nöronlar ise beyindeki bilgilerin hızlı iletişiminden sorumlu olan hücrelerdir (Lovinger, 2008). Her ne kadar vücuttaki diğer hücrelere benzeseler de, onları diğer hücrelerden ayıran ve onlara sinir sistemindeki benzersiz rollerini yerine getirmelerini sağlayacak özellikler kazandıran şekillerde uzmanlaşmış hücrelerdir (Lovinger, 2008). Nöronlar, elektriksel ve kimyasal sinyallerin bir kombinasyonu yoluyla iletişim kurarlar (Lovinger, 2008). Diğer hücrelere çok benzeyen hücre gövdesine veya somaya ek olarak, nöronlar dendrit ve akson olarak bilinen özelleşmiş ince dallara da sahiptirler. Dendritler aracılığıyla diğer nöronlardan kimyasal girdi alır ve aksonlar aracılığıyla bilgiyi diğer hücrelere iletirler. Nöronlar aynı zamanda “uyarılabilir” hücrelerdir. Nöronal yüzey zarı, küçük yüklü atomların zarın bir tarafından diğer tarafına geçmesine izin veren, iyon kanalları olarak bilinen çok sayıda protein içerirler. Bu kanalların bazıları hücre zarındaki voltaj değiştiğinde açılır. Bu "voltaj kapılı" kanalların bir alt türü, nöronun, biyolojide hücre içi elektrik sinyali iletiminin en hızlı biçimi olan "aksiyon potansiyeli" olarak bilinen hızlı bir sinyal üretmesine olanak tanırlar (Lovinger, 2008).

2.4.4. Beyin Fizyolojisi

Beyin, istirahat halinde 100 gr. beyin dokusu için 3-5 mL/dakika oksijen tüketimi (Keçik, 2008) ve 5.6 gram/dakika glukoz tüketimi göstermektedir (Mergenthaler ve ark., 2013). Beyin dokusu toplam vücut ağırlığının %2'sini oluşturmasına rağmen, kalp debisinin %15'ini alıp, vücutta tüketilen tüm oksijenin %20'sini, glikozun ise %25'ini tüketmektedir (Demirci, 2020). Normal koşullarda, beyin için ana enerji kaynağı, glikoliz veya oksidatif fosforilasyondan ATP formunda enerji üretimi için kullanılan glikozdur ve oksidatif fosforilasyon enerji üretmede 15 kat daha verimlidir (Steiner, 2019). Normal koşullarda oksidatif fosforilasyon (Glukoz + 6 O_2 + 2 ADP +38 P_i → 6 CO_2 + 6 H_2O + 38 ATP) kullanılsa da oksijenin eksikliğinde (hipoksi, hipoperfüzyon) ise, anaerobik solunum gerçekleşmektedir (Glukoz + 2 ADP + 2 P_i → 2 laktat + 2 ATP) (Demirci, 2020). Bununla birlikte, insan beyninin özellikle yüksek enerji ihtiyaçları, yalnızca glikoz tüketimiyle desteklenmiyor gibi görünüyor. Yakın zamanda, yenidoğan vücut yağının karaciğer tarafından oksidasyonundan türetilen ketonların (β-hidroksibutirat, asetoasetat ve aseton), oksidatif fosforilasyon yoluyla gelişmekte olan beyin için önemli bir ek yakıt substratı sağlayabileceği öne sürülmüştür (Steiner, 2019). Beyin hücresi tiplerine odaklanıldığında, nöronlar toplam beyin enerjisi tüketiminin %70-80 'inden sorumluyken enerjinin geri kalan kısmı (%20-30) astrositler, oligodendrositler ve mikroglia gibi glial hücreler tarafından harcanmaktadır (Ardanaz ve ark., 2022). Beynin sergilediği yüksek enerji talebi, elektrik sinyali iletimine izin veren ve bu iletim tarafından zorlanan iyon gradyanlarının restorasyonu veya nörotransmiter alımı ve geri dönüşümü kadar önemli süreçler için gereklidir ki beyin fonksiyonunun sürdürülmesi, özellikle nöronal ağın işleyişine atfedilen toplam enerji ihtiyacının %80 'ini oluşturan milyarlarca aralıksız sinaptik iletim göz önüne alındığında, yüksek bir metabolik maliyet gerektirir (Ardanaz ve ark., 2022).

Sağlıklı bir insanda beyin perfüzyon basıncı 50-150 mm/Hg olup bu basınç sağlandığı sürece serebral kan akımının regülasyonu sağlanır (Demirci, 2020). Vasküler regülasyon, arteriyel karbondioksit oranına da duyarlıdır, 20-60 mm/Hg olan parsiyel karbondioksit basıncındaki ($PaCO_2$) her 1 mm/Hg değişim serebral kan akımını %2-3 oranında değiştirmektedir. Hiperkarbi, vazodilatasyon ve serebral kan akımında artışa

neden olur iken, hipokarbi ise vazokonstrüksiyon ve serebral kan akımında azalmaya neden olmaktadır (Demirci, 2020).

2.4.5. Nöronların Sinaptik Yapısı ve Sinyalleşme

Nöronlar, beyindeki bilgilerin hızlı iletişiminden sorumlu olan hücrelerdir. Diğer hücrelere çok benzeyen hücre gövdesine veya somaya ek olarak nöronlar, dendrit ve akson olarak bilinen özelleşmiş ince dallara da sahiptir. Nöronlar, dendritler aracılığıyla diğer nöronlardan kimyasal girdi alır ve aksonlar aracılığıyla bilgiyi diğer hücrelere iletirler (Lovinger, 2008).

Nöronların birbirleriyle bağlantı ve iletişim kurduğu yerlere sinaps adı verilmektedir. Her nöronun birkaç ila yüz binlerce arasında sinaptik bağlantısı bulunmakta olup bu bağlantılar kendisiyle, komşu nöronlarla veya beynin diğer bölgelerindeki nöronlarla olabilir. Bir sinaps, presinaptik ve postsinaptik terminallerden oluşmaktadır. Presinaptik terminal aksonun sonundadır ve elektrik sinyalinin (aksiyon potansiyeli) kimyasal sinyale (nörotransmiter salınımı) dönüştürüldüğü yerdir. Postsinaptik terminal membranı 50 nanometreden daha yakındır ve özel reseptörler içermektedir. Nörotransmiter hızla mikro saniyeler içinde sinaptik yarık boyunca yayılır ve spesifik reseptörlere bağlanır. Kimyasal ve elektriksel olmak üzere iki ana sinaps türü vardır. Kimyasal sinapslar sinyali iletmek için nörotransmiterleri kullanırlarken, elektriksel sinapslar konneksinler olarak bilinen proteinlerin oluşturduğu, akımın bir nörondan diğerine doğrudan geçişini sağlayan ve nörotransmiterlere bağlı olmayan kanallara sahiptir (Caire ve ark., 2024).

2.4.6. Nörotransmiterler

Nörotransmiterler, nöronların vücutta birbirleriyle iletişim kurmasını sağlayan endojen kimyasallardır. Beyinde asetilkolin, glutamat, Gama-aminobütirik asit (GABA), glisin, dopamin, norepinefrin, serotonin ve histamin dahil olmak üzere vücut tarafından farklı işlevler için kullanılan bir dizi nörotransmiter bulunmaktadır. Glutamat beyinde kullanılan başlıca uyarıcı nörotransmiterdir aynı zamanda sinir sistemi plastisitesinin birincil aracısıdır. GABA ve glisin ise tam tersine, başlıca inhibitör nörotransmiterler olarak görev yapmaktadırlar. Dopamin, öğrenme, motor kontrol, ödül, duygu ve

yürütme işlevleri dahil olmak üzere çeşitli beyin fonksiyonlarında önemli bir rol oynamaktadır, ayrıca psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarla da ilişkilendirilmiştir. Serotonin, birçok nöropsikolojik süreci ve sinirsel aktiviteyi modüle eden bir nörotransmiterdir. Norepinefrin, merkezi sinir sistemi ve sempatik sinirlerde sentezlenen bir monoamindir ve beynin locus coeruleus 'u norepinefrin sinyallemesinde hayati bir rol oynamaktadır. Beyinde norepinefrin salınımının stres, uyku, dikkat, odaklanma ve iltihaplanma gibi çeşitli süreçler üzerinde etkileri vardır. Ayrıca otonom sinir sisteminin tepkilerinin modüle edilmesinde de rol oynar. Histamin, vücuttaki homeostatik işlevlere aracılık eden, uyanıklığı teşvik eden, beslenme davranışını modüle eden ve motivasyon davranışını kontrol eden bir nörotransmiterdir (Sheffler ve ark., 2024).

2.4.7. Beyin Omurilik Sıvısı (BOS)

Beyin omurilik sıvısı, beyin ventriküllerini ve kranial ve spinal subaraknoid boşlukları dolduran berrak, renksiz bir sıvıdır (Czarniak ve ark., 2023; Sakka ve ark., 2011). BOS hem bir amortisör ve sıvı yastığı gibi davranmak suretiyle hidromekanik bir destek sağlayarak, hemde besin maddeleri ile atık ürünleri taşıyarak MSS ‘nin korunmasında ve beslenmesinde, beyin gelişiminde ve nöronal işleyişi etkileyen beyin interstisyel sıvı homeostazisinin sağlanmasında çok önemli roller oynamaktadır (Czarniak ve ark., 2023; Lun ve ark., 2015; Sakka ve ark., 2011). Heming ve arkadaşları BOS ‘un hem biyolojik hem de tıbbi açıdan benzersiz bir biyomateryal olduğunu, beyni yıkadığını ve kaldırma kuvveti ile beynin ağırlığını 1500 gramdan 50 grama düşürdüğünü öne sürmüşlerdir (Heming ve ark., 2022). BOS ayrıca elektrolit konsantrasyonunu düzenleyerek ve nörotransmiterleri ve hormonları taşıyarak MSS homeostazisini de sağlamaktadır (Czarniak ve ark., 2023). Yetişkin bir insanda BOS hacmi ortalama 150 mL olup bunun 25 mL'si ventriküllerde ve 125 ml'si subaraknoid boşluklarda bulunmaktadır (Sakka ve ark., 2011). BOS üretim hızı yaklaşık 20 mL/saat olup (Czarniak ve ark., 2023), her 24 saatte yaklaşık dört kez yenilenmektedir (Sakka ve ark., 2011). Yenidoğanlarda toplam BOS hacmi 50 mL (Filis ve ark., 2017) iken yetişkinlerde BOS salgısı günde 400 ila 600 mL arasında değişmekte, bunun % 60-75 ’i ağırlıklı olarak lateral ventriküllerin koroid pleksuslarında, daha az olarak da üçüncü ve dördüncü ventriküllerin tela koroideası tarafından üretilmektedir (Sakka ve ark., 2011).

İntrakraniyal üretimin geri kalanı ise interstisyel boşlukta gerçekleşmektedir (Raine, 2005). Ekstrakoroidal BOS üretimi ise ventriküler ependimada gerçekleşmekte, bir miktar BOS da beyin ve omurilik yüzeyindeki kapillerlerden üretilebilmektedir (Raine, 2005). Lateral ventriküllerdeki koroid pleksuslar tarafından üretilen BOS, interventriküler foramenlerden 3. ventriküle, ardından cerebral aqueduct yoluyla 4. ventriküle ve son olarak 4. ventriküldeki median aperture (foramen Magendie) yoluyla subaraknoid boşluklara akmakta ardından da meningeal lenfatik damarlar, kraniyal ve spinal sinirler boyunca uzanan lenfatik drenaj yoluyla intrakraniyal boşluğun dışına çıkarılmaktadır (Liu ve ark., 2020; Sakka ve ark., 2011). Kranial subaraknoid boşlukta bulunan BOS, rostral olarak villöz emilim bölgelerine veya kaudal olarak spinal subaraknoid boşluğa doğru dolaşmaktadır (Sakka ve ark., 2011). Toplam BOS miktarının %82 'si subaraknoid boşlukta, %18 'i kadarı da ventriküler boşlukta lokalizedir (Huttunen ve ark., 2022; Terasaki, 2021). BOS ‘un geri emilimi, üretim süreci kadar karmaşık değildir; pasif olarak araknoid granülasyonlar yoluyla duramater ‘in venöz sinüslerine ve oradan da kana karışmakta buna ek olarak bir kısmı servikal ve torasik lenfatik damarlara akmak üzere koroid pleksus tarafından geri emilebilmektedir (Czarniak ve ark., 2023; Raine, 2005). Kalbin nabız atışları ve akciğerlerin hareketi tarafından oluşturulan kuvvetler BOS un akışına izin veren faktörlerdir (Czarniak ve ark., 2023). BOS un ana bileşeni sudur (%99), geri kalan kısmı (%1) protein, glikoz, iyonlar, vitaminler ve nörotransmiterlerden oluşur ve bileşimi, protein ve iyon konsantrasyonlarındaki farklar dışında plazmanınkine çok benzerdir (Czarniak ve ark., 2023). Yetişkin bir insanın BOS u incelendiğinde, <5 beyaz kan hücresi, % 60-80 plazma glukoz seviyesi ve 20-40 mg/100 mL protein bulunmaktadır (Filis ve ark., 2017). Ara sıra görülen ependimal hücre döküntüleri dışında, BOS ‘da bulunan hücreler yalnızca hematopoetik kökenlidir ve BOS 'daki lökosit konsantrasyonu kandakinden yaklaşık 1000 kat daha düşüktür (Heming ve ark., 2022). BOS, besinlerin, hormonların ve metabolitlerin taşınması için bir yol sağlamak üzere beyin hücrelerini ve yapılarını çevreleyen interstisyel sıvı ile birbirine bağlıdır (MacAulay ve ark., 2022). BOS basıncı, bir yaşından önce 3-4 mm/Hg, yetişkinlerde ise 10-15 mm/Hg olup bu fizyolojik değerlerle kafa içi basıncını belirlemektedir (Sakka ve ark., 2011). Daha yüksek değerler intrakraniyal hipertansiyona karşılık gelmekte olup BOS basıncı sistolik nabız dalgasına, solunum döngüsüne, karın basıncına, juguler venöz basınca, uyarılma

durumuna, fiziksel aktiviteye ve duruşa göre değişmektedir (Sakka ve ark., 2011). Otonom sinir sistemi, BOS sekresyonunun sirkadiyen değişimlerinden sorumlu tutulmaktadır (Sakka ve ark., 2011). Koroid pleksuslar kolinerjik, adrenerjik, serotoninerjik ve peptiderjik otonomik innervasyon almakta, sempatik sinir sistemi BOS sekresyonunu azaltırken, kolinerjik sistem ise BOS sekresyonunu artırmaktadır (Sakka ve ark., 2011).

2.4.8. Beyin Bariyerleri

Merkezi sinir sistemi fonksiyonları serebral kan akışının, oksijen dağıtımının ve enerji metaboliti tedarikinin hassas bir şekilde düzenlenmesini gerektirir (Zhao ve ark., 2015). MSS işlevleri, vasküler hücreler (endotel hücreleri, perisitler, düz kas hücreleri), glial hücreler (astrositler, oligodendroglia, mikroglia) ve nöronlar dahil olmak üzere nörovasküler ünite (NVÜ) içindeki çok sayıda hücre tipinin yüksek düzeyde koordine edilmiş aktivitesi ile sürdürülür (Zhao ve ark., 2015). MSS, kan-beyin bariyeri (KBB), kan-BOS bariyeri (KBOSB) ve kan-araknoid bariyeri (KAB) tarafından kandaki değişken ortamdan sıkı bir şekilde yalıtılmıştır (Abbott ve ark., 2010; Engelhardt ve Sorokin, 2009). MSS homeostazisi beyin hücrelerinin düzgün çalışması için gereklidir. Kan-beyin bariyerleri, beynin kan bileşenlerinin konsantrasyonundaki sürekli salınımlara maruz kalmasını önleyerek ve beyin metabolizmasındaki besinleri beyin içine ve ürünleri ise beyin dışına taşıyarak MSS homeostazisine katılmaktadır (Marques ve ark., 2013). Beyin bariyerleri nöral ortamı besinler ve iyonlar gibi kan moleküllerindeki ciddi konsantrasyon değişikliklerinden korurken, beyin yine de belirli kan bileşenlerindeki değişiklikleri algılayarak buna göre hızla yanıt vermektedir (Marques ve ark., 2013). Sirkumventriküler organlar (area postrema, median eminence, pineal gland, posterior pituitary, subfornical organ, subcomissural organ ve lamina terminalisin vasküler organı) olarak adlandırılan belirli beyin bölgeleri KBB 'den yoksundur ve bu nedenle kan bileşimini sürekli olarak izlerler. Bu bölgelerde beyin parankiminin korunması tanisitler tarafından sağlanmaktadır (Marques ve ark., 2013). Her üç bariyerde de bariyer işlevi, fiziksel bariyer, taşıma bariyeri ve metabolik bariyer kombinasyonundan kaynaklanır (Abbott ve ark., 2010). Fiziksel bariyer hücreler arası yarık veya paraselüler yol üzerinden akışı azaltan hücreler arasındaki sıkı bağlantılardan, taşıma bariyeri çözünen madde akışına aracılık eden spesifik taşıma

mekanizmalarından, metabolik bariyer ise geçiş halindeki molekülleri metabolize eden enzimlerden oluşmaktadır (Abbott ve ark., 2010).

Kan-Beyin Bariyeri (KBB)

Glikokaliks, endotelyal hücreler, astrosit terminal ayakları ve perisitleri içeren bazal membran KBB ni oluşturmaktadır (Altınsoy ve Dikmen, 2023). Kan damarları, vücuttaki tüm doku ve organlara oksijen ve besin sağlamak için kritik öneme sahiptir. MSS 'ni vaskularize eden kan damarları, kan-beyin bariyeri olarak adlandırılan ve bu damarların kan ve beyin arasındaki iyonların, moleküllerin ve hücrelerin hareketini sıkı bir şekilde düzenlemesine olanak tanıyan benzersiz özelliklere sahiptir (Daneman ve Prat, 2015). KBB 'nin ana bileşeni olan endotel hücreleri, potansiyel olarak nörotoksik plazma bileşenlerinin, kan hücrelerinin ve patojenlerin beyne girişini sınırlarlar (Zhao ve ark., 2015). Periferik kan damarlarını kaplayan diğer vasküler endotel hücrelerinin aksine, beyin mikrovasküler endotel hücreleri kendilerini diğer vasküler endotellerden ayıran belirgin morfolojik, yapısal ve işlevsel özelliklere sahiptirler (Kadry ve ark., 2020). Bu özellikler: (1) bitişik endotel hücreleri arasındaki paraselüler yolları kapatan ve böylece polar (suda çözünen) moleküllerin kan ve beyin arasında düzensiz geçişini önleyen sıkı bağlantıların (tight junctions) bulunması; (2) fenestrasyonların olmaması; (3) pinositik aktivitenin olmaması, potansiyel olarak istenmeyen maddenin (hem endojen hem de ksenobiyotikler) geçişini engellerken temel moleküllerin (besinler ve temel amino asitler dahil) geçişini düzenlemek için aktif taşıma mekanizmalarının bulunmasıdır (Kadry ve ark., 2020). Daha da önemlisi, bu endotelyal hücreler, besinlerin, enerji metabolitlerinin ve diğer temel moleküllerin kandan beyne taşınmasını ve metabolik atık ürünlerinin beynin interstisyel sıvısından (ISS) kana taşınmasını kontrol eden çok sayıda substrata özgü taşıma sistemini de eksprese ederler (Zhao ve ark., 2015). Taşıma bariyeri P-glikoprotein (P-gp), meme kanseri direnç proteini (BCRP), organik anyon taşıma polipeptidi (OATP) gibi çeşitli efluks taşıyıcılarını kapsamakta ve bu efluks sistemleri bileşikleri (ksenobiyotikler dahil) endotel hücrelerinden kan dolaşımına aktif olarak pompalayarak MSS maruziyetinin azalmasına neden olmaktadırlar (Kadry ve ark., 2020). Ayrıca beyin endotel hücrelerinde CYP 450 enzimleri (CYP1B1 ve CYP2U1, CYP-3AF) gibi ilaç metabolize edici enzimlerin

varlığı ilaçları ve yağ asitlerini metabolize ederek metabolik bariyerin oluşmasını sağlamaktadır (Kadry ve ark., 2020).

Kan-BOS Bariyeri (KBOSB)

Kan ile ventriküler BOS arasındaki bariyer koroid pleksuslarda bulunmaktadır (Ghersi-Egea ve ark., 2018). İki dolaşım sıvısı arasındaki arayüzde bulunan zengin damarlı örtü benzeri yapı olan koroid pleksus, bağlayıcı bir stromayı kaplayan çok sayıda villus içeren küboidal bir epitelden oluşur ve kan damarları bu stromaya nüfuz ederek KBOSB ‘ni oluşturan sıkı epitelyumun yanında yer alan büyük pencereli kılcal halkalar oluştururlar (Ghersi-Egea ve ark., 2018). Farklı tipte bağışıklık hücreleri hem stromada hem de epitel hücrelerinin BOS 'a bakan zarına yapışan koroid pleksuslarla ilişkilidir (Ghersi-Egea ve ark., 2018). Stabil bir MSS iç ortamının korunmasına katılan BOS ‘nı salgılamakla birlikte zararlı bileşiklerin BOS ve beyinde birikmesini önleyen nöroprotektif bir bariyer oluştururlar (Ghersi-Egea ve ark., 2018). Koroid pleksus-BOS sistemi hem periferik hem de merkezi sinir sisteminden kaynaklanan sinyalleri algılayan bir inflamatuar sensör olarak da önemlidir (Balusu ve ark., 2016). Koroid pleksus epitel hücreleri, sitokinlerin ve kemokinlerin üretimi yoluyla inflamatuar sinyalleri iletebilirler ek olarak farklı periferik bağışıklık hücrelerinin beyne girişini kolaylaştıran kemoatraktanlar salgılayarak beyne açılan bir kapı görevi görürler (Balusu ve ark., 2016). KBOSB ‘nin, inflamatuar reaksiyonların periferden MSS 'ye yayılmasında önemli bir rol oynadığını ve çeşitli nörolojik bozuklukların patogenezine ve ilerlemesine katkıda bulunduğunu gösteren giderek artan sayıda kanıt bulunmaktadır (Solar ve ark., 2020).

Kan-Araknoid Bariyeri (KAB)

Merkezi sinir sisteminin çevreleyen KAB, duramater ‘deki beyin kılcal damarlarını subaraknoid boşluktaki BOS 'tan ayıran sıkı bağlantılarla birbirine bağlanmış, araknoid avasküler çok katmanlı epitel hücrelerinden oluşmakta ve kan ile BOS arasındaki arayüzlerden birini meydana getirmektedir (Chandrawanshi ve ark., 2020; Gomez-Zepeda ve ark., 2019; Uchida ve ark., 2022). KAB subaraknoid boşluk ile diğer tarafta subdural boşluk arasında bulunmaktadır (Pardridge, 2019). Kan ve beyin arasındaki alışverişe katkısı, avasküler yapısı ve diğer bariyerlerle karşılaştırıldığında nispeten

küçük yüzey alanı nedeniyle önemsiz olduğu düşünülmektedir (Kadry ve ark., 2020). Bununla birlikte, KAB ‘ndeki ilaç taşıyıcıları ve ilacı metabolize eden enzimlere ilişkin son bulgular ışığında ve araknoid bariyer hücre katmanının, erken gelişim sırasında beyin yüzey alanının çok daha büyük bir bölümünü oluşturduğu dikkate alındığında, bu bariyerin göz ardı edilmemesi gereken önemli ve değişen bir arayüz olduğu da açıktır (Weller ve ark., 2018).

2.5. Cerebrolysin

2.5.1. Yapısı

Cerebrolysin (FPF-1070), proteinler, lipitler ve antijenik özelliklerden arındırılmış sulu bir çözelti içinde farmakolojik olarak aktif nöropeptitler içeren parenteral uygulamaya yönelik bir preparattır (Gavrilova ve Alvarez, 2021). Domuz beyninden elde edilen bir preparat olan cerebrolysin, biyolojik kökenli tıbbi ürünler grubunda tanımlanmaktadır (Bogolepova, 2023). Cerebrolysin, domuz beyin proteinlerinin standartlaştırılmış enzimatik parçalanmasıyla üretilen, %80 ‘i düşük molekül ağırlıklı peptitlerin, %20 ‘si serbest amino asitlerin karışımı olan bir nöropeptit preparatıdır (Cui ve ark., 2019). Cerebrolysin‘in peptit bileşimini belirlemeye yönelik proteomik çalışmalarda domuz proteomundaki 1643 nöronal proteine karşılık gelen 14.635 peptidin aminoasit dizisi tanımlanmıştır (Gromova ve ark., 2019). Farmasötik preparatı, sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), siliyer nörotrofik faktör (CNTF), glial hücre hattı kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF), enkefalinler, oreksin ve P21 i içermektedir (Avci ve ark., 2022; Fiani ve ark., 2021).

2.5.2. Farmakolojik Özellikleri

Cerebrolysin, düşük moleküler ağırlıklı peptitlerin ve amino asitlerin bir karışımı olduğu için periferik ve intraserebral uygulamayı takiben yeterli konsantrasyonlarda kan-beyin bariyerini geçmekte ve MSS 'de farmakodinamik etkiler oluşturmaktadır (Gavrilova ve Alvarez, 2021; Lu ve ark., 2022; Ziganshina ve ark., 2023). Cerebrolysin 'in nihai hedefi perisitler ve hücre dışı matris bileşenleri, nöronlar, mikroglial hücreler, oligodendrositler, astrositler, miyelin kılıfı ve endotel hücrelerinin bulunduğu kan damarlarından oluşan nörovasküler birimdir (Teng ve ark., 2021; Zhao ve ark., 2015).

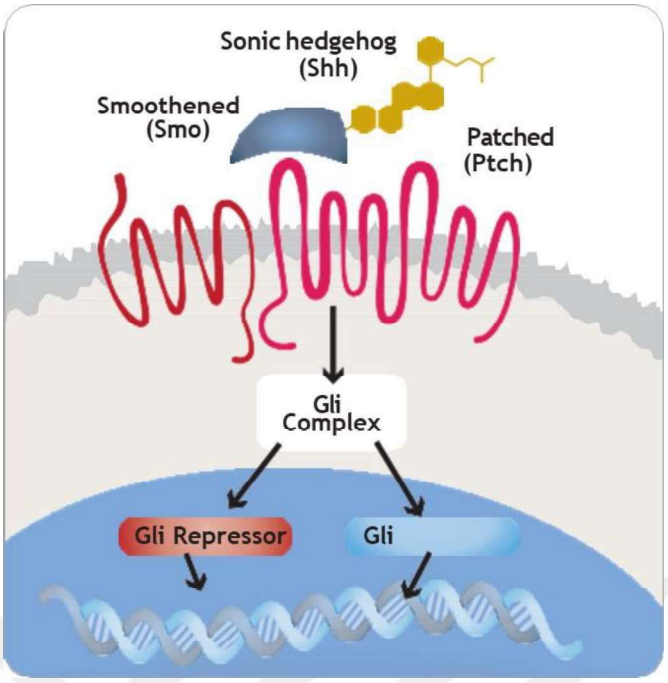
Yang ve arkadaşları tarafından sıçanlar ile yapılan klinik öncesi bir çalışma, cerebrolysin moleküllerinin damarlardan nöronal parankime geçtiğini ve nöronal dokuda tespit edilebildiğini açıkça ortaya koymaktadır (Yang ve ark., 2016). Cerebrolysinin nöronların hayatta kalmasını desteklediği, in vitro ve in vivo hücre büyümesini uyardığı ve doğal olarak oluşan nörotrofik faktörlere benzer şekilde nöronal metabolizmayı modüle ettiği de bildirilmiştir (Gschanes ve ark., 1997). Nörotrofik faktörlerin biyolojik etkilerini taklit eden cerebrolysin in diğer bir hedefi de damar endotelidir (Muresanu ve ark., 2022). İskemiden sonra serebral mikro damar sisteminin normal fonksiyonunu ve sağlığını koruyarak prokoagülan, protrombotik ve proinflamatuar aracıların sayısını azaltmaktadır (Muresanu ve ark., 2022). Elde edilen literatür bilgileri cerebrolysinin kan-beyin bariyerini geçme ve nöral ve nörovasküler dokularda etkisini gösterme yeteneğini açıkça ortaya koymaktadır.

2.5.3. Etki Mekanizması

Cerebrolysin multimodal bir etkiye sahiptir. Enerji metabolizmasının yoğunluğunu arttırır, beyindeki protein sentezini arttırır, anti-radikal, membran koruyucu ve nörotrofik aktivite sergiler, uyarıcı amino asitlerin (glutamat) salınımını engeller, serebral kan akışını iyileştirir (Maslov, 2024).

Kan-beyin bariyeri (KBB)'ne nüfuz edebilen, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip nöroprotektif bir ajan olarak merkezi olarak hareket edebilen nootropik bir ilaçtır ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör ve sinir büyüme faktörünü aktive ederek nöronal kök hücreleri inme nedeniyle hasar görenlerin yerini alabilecek nöronlara olgunlaştırmak için aktive ederek nörorestoratif özellikler gösterir. Ayrıca enerji metabolizmasını iyileştirir ve sinaptik plastisiteyi artırır (Abou Zaki ve Lokin, 2023).

Sonic Hedgehog (SHH) sinyal yolu, beynin organizasyonu da dahil olmak üzere organların gelişimini düzenlemektedir. SHH, sinirsel iyileşmenin temelini oluşturan gelişimsel genlerin ekspresyonundan sorumlu olan ve doğal iyileşmenin güçlenmesine yol açan Gli kompleksini aktive etmektedir. Cerebrolysin, SHH sinyal yolunun ifadesini uyararak nörogenez ve oligodendrogenez üzerinde teşvik edici bir etkiye sahiptir. Cerebrolysin, SHH ve reseptörleri olan Patched (Ptch) ve Smoothened (Smo) 'nun mRNA modülasyonunu artırmaktadır (Prescribing information, 2024).



Şekil 2.4. Sonic Hedgehog (SHH) Sinyal Yolu

Nörotrofik faktörler (NTF'ler), nöronal ağı koruyan, muhafaza eden ve restore eden ve beynin düzgün çalışmasını sağlayan sinyal molekülleridir. NTF'lerin inme, travmatik beyin hasarı veya kronik hastalıklarda nöronal ağın hayatta kalması ve yenilenmesinde önemli bir rolü olduğu iyi belgelenmiştir. Cerebrolysin, nörotrofik faktörler gibi etki eden bir nöropeptit preparatıdır. Cerebrolysin'de nörotrofik sinyal yollarını uyarabilen immünoassay (ELISA) ile NTF'lerin çeşitli parçaları tanımlanmıştır (Prescribing information, 2024).

Cerebrolysin NTF'leri modüle etmektedir. Cerebrolysin, hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması ve göçünde önemli bir rol oynayan PI3K/Akt yolağının uyarılmasıyla BDNF benzeri aktivite göstermektedir (Prescribing information, 2024).

Cerebrolysinin sıçanlarda etanol uygulaması sonucu artan MDA seviyelerini normalleştirdiğini ve antioksidan savunmayı arttırdığını gösteren kanıtlarda bulunmaktadır (Vaghef ve ark., 2019).

2.5.4. Beyin Üzerindeki Etkileri

Literatürde cerebrolysin'in nörotrofik, nöroprotektif, nootropik, nörojenezik, anti-apoptotik, analjezik, antiinflamatuar, anti-konvülzan, anti-tümör etkilere sahip olduğu

ifade edilmektedir (Gromova ve ark., 2019; Masliah ve Diez-Tejedor, 2012; Zhang ve ark., 2010).

Nörotrofik Etki

Cerebrolysin, NGF, BDNF, CNTF, GDNF ve diğer peptit fragmanları gibi farklı nörotrofik faktörlerin bir karışımıdır (Preeti Kumaran ve ark., 2012). Cerebrolysin'in farelerde nörotrofik etkisi olduğu Masliah ve ark. tarafından ortaya konulmuştur. (Masliah ve ark., 1999). NTF ler esas olarak hücre dışı olarak salgılanan, yayılabilen, çözünür proteinlerdir ve nöronal hücrenin hayatta kalması, çoğalması, göçü, farklılaşması ve yenilenmesinin desteklenmesinde sinyal molekülleri olarak önemli roller oynarlar (Rejdak ve ark., 2023). Ayrıca cerebrolysin ‘in nörotrofik etkisini, yapısında bulunan peptit fraksiyonunun, NTF'lerin aktivitesini taklit ederek veya endojen NTF'lerin biyogenezini uyararak gerçekleştirdiği ortaya konmuştur (Rejdak ve ark., 2023).

Nöroprotektif Etki

Nöroprotektif etki kavram olarak beyni patolojik bir hasardan koruyan müdahalelerin varsayılan etkisini tanımlamaktadır. İskemik felçte nöroprotektif etki, kalsiyum akışı, serbest radikal reaksiyonlarının aktivasyonu ve hücre ölümüne yol açan patolojik moleküler olayların inhibisyonunu içermektedir (Ziganshina ve ark., 2023). Cerebrolysinin, nöronal iskemi doku kültürü modellerinde etkili olduğu ve doza bağlı olarak nöronal sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir (Schauer ve ark., 2006). Cerebrolysin ayrıca hemorajik inme ve iskemik inmenin yanı sıra omurilik travması sıçan modellerinde de nöroprotektif aktivite göstermiştir (Ziganshina ve ark., 2023).

Nootropik Etki

Nootropik etki kavramı doğrudan ve seçici bir etki ile karakteristik olarak yüksek telensefalik bütünleştirici aktiviteye müdahale eden psikotropik ilaçları tanımlamak için önerilmiştir (Giurgea ve Salama, 1977). Nootropik profilin ana özellikleri şunlardan oluşmaktadır: öğrenme ediniminin artırılması; bozucu ajanlara karşı direnç; interhemisferik bilgi transferinin kolaylaştırılması; beyin “saldırılarına” karşı artırılmış direnç; artırılmış tonik, kortiko-subkortikal “kontrol”; ve nöro psikotropik ilaçların

olağan farmakolojik etkilerinin olmamasıdır (Giurgea ve Salama, 1977). Cerebrolysin nootropik bir ajan olarak kabul edilmektedir (Abou Zaki ve Lokin, 2023).

Nörojenezik Etki

Gelişmekte olan merkezi sinir sisteminde nörojenez, farklılaşmamış nöral progenitör hücrelerin indüksiyonu ve çoğalmasını daha sonra ise bunların olgun ve işlevsel nöronlara farklılaşmasını tanımlamaktadır. Doğum sonrasında büyük oranda azalan nörojenez, insanda beyin hipokampüsünün subgranular bölgesinde ve lateral ventriküllerdeki subventriküler bölgede devam etmektedir (Schmidt ve ark., 2013). Subventriküler bölgede felç kaynaklı nörojenezin cerebrolysin ile artarak felç sonrasında beynin kendi kendini onarmasının mümkün olduğu da rapor edilmiştir. Ek olarak cerebrolysinin nörodejeneratif hastalıklarda dentat girustaki nörojenezi artırdığı da gösterilmiştir. (Masliah ve Diez-Tejedor, 2012).

Anti-Apoptotik Etki

Cerebrolysinin travmatik beyin hasarı sonrası hipokampal nöronal apoptozu azalttığı ve kaspaz-3 ile Bax'ın protein ekspresyon seviyelerini azaltarak Bcl-2 seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (Lu ve ark., 2022). Literatürde cerebrolysin kullanımının apoptozun tipik nükleer yapısal değişikliklerini önlediğini ve çeşitli apoptotik uyaranlardan sonra apoptotik hücre sayısını önemli ölçüde azalttığını gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (Hartbauer ve ark., 2001). Vaghef ve arkadaşları ise 70 adet erkek albino Wistar sıçan ile oluşturdukları etanol ile indüklenen uzamsal bellek bozukluğu hayvan modelinde, sıçanlarda etanolün oluşturduğu pro-apoptotik proteinler, Bax ve bölünmüş kaspaz-9 ve kaspaz-3 artışının ve Bcl-2 ekspresyonunun azalışının cerebrolysin tedavisiyle tersine çevrildiğini ve cerebrolysinin hipokampüste Bax/Bcl-2 oranını ve bölünmüş kaspaz-9 ve -3'ü azalttığını gösteren anti-apoptotik kanıtlar sunmuşlardır (Vaghef ve ark., 2019). Felçli hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar ise, cerebrolysinin iskemik lezyon sonrasında apoptotik hücre sayısını azalttığını göstermiştir (Masliah ve Diez-Tejedor, 2012).

Analjezik Etki

Literatürde cerebrolysinin analjezik etkinliğine ilişkin sınırlı sayıda kanıt birikmiştir. Cerebrolysinin analjezik etkisine dair ilk çalışmayı Biesenbach ve arkadaşları yapmış, plasebo kontrollü boylamsal bir çalışmada, 20 tip II diyabet hastasında ağrılı diyabetik nöropatinin tedavisi için 10 gün boyunca günlük olarak cerebrolysin infüzyonu (500 mL Ringer içinde 20 mL) uygulamış ve cerebrolysin uygulamasının ağrılı diyabetik nöropatiyi hafiflettiğini ortaya koymuşlardır (Biesenbach ve ark., 1997). Dong ve arkadaşları ise 10 gün boyunca intraperitoneal enjeksiyonlar yoluyla 1.80, 5.39 ve 8.98 mL/kg dozlarında cerebrolysin ile tedavi edilen diyabetik periferik nöropati hayvan modelinde cerebrolysinin siyatik sinir fonksiyon bozukluğunu iyileştirdiğini ayrıca kimyasal ve termal hiperaljeziyi azalttığını rapor etmişlerdir (Dong ve ark., 2016). Bir başka çalışmada ise cerebrolysinin akut uygulamasının (215.2 mg/mL'ye eşit olan 5 mL/kg çözelti) bir sıçan periferik inflamasyon modelinde mekanik allodiniyi azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Morales-Medina ve ark., 2017). 40 adet erkek albino Wistar tipi sıçana 3., 5., 7. ve 9. günlerde nitrogliserin enjeksiyonu ile modellenen bir hayvan migren çalışmasındaysa cerebrolysinin (2.5 ve 5 mL/kg) 10 gün boyunca her gün ip yoldan enjekte edilmesiyle mekanik ve termal hiperaljezinin belirgin azaldığı gösterilmiştir (Mahmoudi ve ark., 2018).

Antiinflamatuar Etki

Cerebrolysinin mikroglia ekspresyonunu ve interlökin-1β (IL-1β) salınımını hem in vitro hem de in vivo olarak azaltarak antiinflamatuar etkinlik sergilediği bilinmektedir (Alvarez ve ark., 2000). Cerebrolysinin, kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP) ve hipofiz adenilat siklaz aktive edici polipeptit (PACAP) salınımını ve TNF-α ve IL-1β'yı azaltarak nörojenik inflamasyonu inhibe ettiği de rapor edilmiştir (Mahmoudi ve ark., 2018). Lu ve arkadaşları ise cerebrolysinin ROT üretimini azaltabildiğini ve ardından nöroinflamasyonu da inhibe edebildiğini göstermişlerdir. Ek olarak TNF-α, IL-1β, IL-6 ve NF-kB dahil olmak üzere Toll benzeri reseptör (TLR) yolağının aşağı yönlü efektörlerinin ekspresyonunu inhibe ederek nöronal dejenerasyonu ve lökosit infiltrasyonunu azaltabileceğini de kaydetmişlerdir (Lu ve ark., 2022).

Anti-Konvülzan Etki

Anti-konvülzan etkilerini araştırmak için 144 erkek sıçanın kullanıldığı hayvan tiyosemikarbazid konvülsiyon modelinde cerebrolysin, 18 gün boyunca haftanın beş günü 2.5 ml/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanmış ve nöbetlerin şiddetini ve süresini azalttığı ve hayvanların hayatta kalma oranını artırdığı gösterilmiştir. Ek olarak cerebrolysinin gabapentin ve daha az ölçüde de sodyum valproat gibi ilaçların anti-konvülzan etkisini güçlendirdiği de saptanmıştır. Cerebrolysinin içinde bulunan nöropeptidlerin bu anti-konvülzan etkilerden sorumlu olduğu öne sürülmüştür (GromovaKalacheva ve ark., 2016).

Anti-Tümör etki

Cerebrolysin preparatında bulunan sinir büyüme faktörü, enkefalinler, galanin, oreksin farklı antitümör etkilerle karakterize edilirler. Gromova ve arkadaşları 60 adet erkek fare ile oluşturdukları akciğer karsinomu hayvan modelinde tümör naklinden sonraki iki ila 16 gün arasında hayvanlara 524 mg/kg ve 1800 mg/kg dozlarında günde tek sefer intraperitoneal cerebrolysin enjeksiyonu uygulamış ve cerebrolysin'in antitümör etkisi olduğunu, akciğer karsinomu modelinin gelişimini engellediğini, tümör hacmini ve büyük metastaz sayısını önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuşlardır (GromovaPronin ve ark., 2016).

2.5.5. İstenmeyen İlaç Etkileri

Yapılan klinik çalışmalardan elde edilen tolerabilite verileri, cerebrolysinin tüm klinik çalışmalarda genel olarak iyi tolere edildiğini göstermekle beraber en sık bildirilen yan etki baş dönmesi (vertigo)'dir (Plosker ve Gauthier, 2009). Cerebrolysin için ürün özellikleri özeti tüm endikasyonlar için aşağıdaki bilgileri sağlamaktadır: nadir advers olaylar (10.000 hastada >1 ila 1000 hastada <1 oranında bildirilen) arasında metabolizma ve beslenme bozuklukları (örn. iştah kaybı), psikiyatrik bozukluklar (örn. ajitasyon), kaşıntı ve eğer çok hızlı enjekte edilirse baş dönmesi, sıcaklık hissi ve/veya terleme yer almaktadır; çok nadir advers olaylar (10.000 hastada <1 bildirilmiştir) arasında bağışıklık sistemi bozuklukları (örn. aşırı duyarlılık, alerjik veya lokal inflamatuar reaksiyonlar), nöbetler, kardiyak bozukluklar (örn. çok hızlı enjekte edilirse

çarpıntı veya aritmiler), gastrointestinal bozukluklar (örn. dispepsi, diyare, kabızlık) ve enjeksiyon bölgesi reaksiyonları (örn. kızarıklık veya yanma hissi) bulunmaktadır (Plosker ve Gauthier, 2009).

Cerebrolysin 10 mL 'ye kadar olan dozları intravenöz uygulama ile seyreltilmeden uygulanabilirken, daha yüksek dozlar standart infüzyon solüsyonlarında seyreltilmeli ve yavaş intravenöz infüzyonla uygulanmalıdır ayrıca intramüsküler uygulama ise 5 mL 'lik dozu geçmemelidir (Plosker ve Gauthier, 2009).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 285±7 gram ağırlığında olan ve 9-10 haftalık, 24 adet albino Wistar tipi erkek sıçan kullanılmıştır. Deneyde kullanılan hayvanlar, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Deneyler, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında yapılmıştır. Sıçanlar, ortama alışabilmeleri için deneyden yedi gün önce, gruplar halinde barındırılmış, 22 ± 2 °C sıcaklık, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü ve % 50 ± 20 nem oranına sahip bir laboratuvar ortamında tel kafeslerde tutulmuştur. Hayvanların musluk suyu ve standart pelet yeme (Deneysel Hayvan Yemi; Bayramoğlu A.Ş., Erzurum, Türkiye) serbest erişimi sağlanmıştır.

3.2. Deney Tasarımı

Örneklem büyüklüğü belirlenirken 4R (reduction, replacement, refinement, responsibility) kılavuzuna göre mümkün olan en az sayıda hayvanın kullanılmasına karar verilmiştir. Hayvan refahının "4R" ilkesi, fonksiyonel deneylerin öğretim ve araştırma faaliyetlerinde etik sorunların çözümüne yönelik bir yol sağlayabilecek azaltma, değiştirme, iyileştirme ve sorumluluk ilkelerine dayanmaktadır (Kang ve ark., 2022). Bu nedenle hayvanlar her grupta altı hayvan bulunacak ve ortalama vücut ağırlıkları birbirlerine benzer olacak şekilde dört gruba randomize edilmiştir. Deney sırasında hayvanları ve analizler sırasındaysa veri noktalarını hariç tutmak için kambur duruş, hareket azalması ve diğer hayvanlar tarafından yaralanma kriterleri kullanılmıştır. Bu kriterlere göre deney sırasında hayvanlardan hiçbiri hariç tutulmamıştır. Rastgele sıralamayı oluşturmak amacıyla rastgele sayılar tablosu kullanılmış olup potansiyel karıştırıcıları en aza indirmek içinse kafesler ve hayvanlar numaralandırılmıştır.

3.3. Etik İlkeler ve Onay

Bu çalışmada, deneyler Avrupa Parlamentosu ve Konseyi'nin 2010/63/EU sayılı Direktifi (onay numarası: 2016-24-199) ve ARRIVE yönergelerine (Percie du Sert ve ark., 2020) uygun olarak Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile gerçekleştirilmiştir (Toplantı Tarihi: 27.10.2022; Oturum Saati: 15.00; Oturum Sayısı: 2022/10; Karar No: 48; Sayı: E-85748827-050.01.04-212779).

3.4. Kullanılan İlaçlar

Deneyde kullanılan tiyopental sodyum (Pental Sodyum®, 0,5 gram flakon) Menarini Sağlık ve İlaç Sanayi Ticaret A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den, favipiravir (Favicovir®, 200 mg film kaplı tablet), Atabay Kimya San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye)'den, cerebrolysin (Cerebrolysin®, enjeksiyon için 10 mL çözelti) ise Everpharma AT GmbH (Viyana, Avusturya)'dan satın alınmıştır.

3.5. Deney Grupları

Çalışmada kullanılan hayvanlar her grupta altı sıçandan oluşan dört gruba ayrılmıştır.

1- SG: Sağlıklı kontrol grubu

2- CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup

3- FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup

4- CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup

3.6. Deneysel Prosedür

Deneysel prosedür doğrultusunda ilk önce deney hayvanlarının CER ve CFAV gruplarına 2.5 mL/kg dozunda cerebrolysin intraperitoneal (ip) yoldan enjekte edilmiştir (Erhan ve ark., 2020; Pourmemar ve ark., 2017). SG ve FAV gruplarına ise çözücü olarak aynı hacimde distile su ip yoldan verilmiştir. Cerebrolysin ve distile su verildikten bir saat sonra FAV ve CFAV gruplarına 400 mg/kg dozunda favipiravir oral yoldan gavajla mideye günde iki kez uygulanmıştır. SG ve CER gruplarına ise aynı hacimde distile su, aynı yoldan günde iki kez verilmiştir. Cerebrolysin ip enjeksiyonu

ise günde bir kez gerçekleştirilmiştir. Bu prosedür yedi gün boyunca tekrarlanmıştır. Yedinci günün sonunda, hayvanlar yüksek doz (50 mg/kg) tiyopental sodyum anestezisi ile sakrifiye edilmiş ve beyin dokuları çıkartılmıştır. Çıkarılan beyin dokularında malondialdehit (MDA), total GSH (tGSH) düzeyleri ve süperoksit dismutaz (SOD) ve CAT aktiviteleri ölçülmüştür. Ayrıca çıkarılan beyin dokuları histopatolojik olarak da incelenmiştir. CFAV, CER ve SG gruplarından elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar FAV grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.7. Kullanılan Cihazlar, Kimyasal Maddeler ve Kitler

Tablo 3.1. Kullanılan Cihazlar ve Firmaların Listesi

Cihazlar	**Firmalar**
Santrifüj	Centrifuge 5430 R
Hassas terazi	RADWAG AS 220.R2
Magnetik karıştırıcı	IKA RH Digital
Su banyosu	Memmert WNB 7
pH metre	pH60 Violab
Distile su cihazı	KROS Clinic
Karıştırıcı (Vorteks)	Velp Scientifica
Otomatik pipet	Dragon Lab
Spektrofotometre	Multiskan Skyhigh

Tablo 3.2. Kullanılan Kimyasallar, Kitler ve Firmaların Listesi

Kimyasal Maddeler ve Kitler	**Firma**
Favipiravir (tablet)	Atabay Kimya San. Tic. A.Ş. (İstanbul, Türkiye)
Cerebrolysin (Enjeksiyon için 10 mL çözelti)	Everpharma AT GmbH (Viyana, Avusturya)
Tiyopental sodyum (flakon)	Menarini Sağlık ve İlaç Sanayi Ticaret A.Ş. (İstanbul, Türkiye)
Potasyum fosfat monobazik	SIGMA
Potasyum fosfat dibazik	SIGMA
Potasyum klorür	SIGMA
Hidroklorik asit	SIGMA
Sodyum hidroksit	SIGMA
MDA Analiz Kiti	ELK Biotechnology Co., Ltd.
tGSH Analiz Kiti	ELK Biotechnology Co., Ltd.
SOD Analiz Kiti	ELK Biotechnology Co., Ltd.
CAT Analiz Kiti	ELK Biotechnology Co., Ltd.

3.8. Biyokimyasal Analizler

3.8.1. Doku Numunelerinin Hazırlanması

Biyokimyasal analizler için örnekler beyin dokusundan 0.2 gram olarak tartıldı. Daha sonra fizyolojik salinle yıkandı. Beyin dokularının üzerine sıvı azot eklenerek havan ve tokmak kullanılarak hızlıca öğütüldü. Öğütülen dokular, hazırlanan potasyum fosfat tamponuna (50 mM [pH=7.2]) aktarıldı. Oluşan homojenatlar +4 °C'de 15000 rpm'de 15 dakika süresince santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar dikkatlice toplandı. Süpernatantlar, analize kadar olan süre zarfında -80 °C'de muhafaza edildi.

3.8.2. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi

Beyin dokusu MDA düzeyleri, sıçanlar için üretilmiş olan MDA enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) kiti (Katalog no: ELK8612; ELK Biotechnology Co. Ltd., Denver, Kolorado, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, yarışmalı inhibisyon enzim immünoassay tekniğini kullanmaktadır. Bu kitte sağlanan 96 kuyucuk içeren mikrotitre plakası sıçan MDA proteini ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler uygun mikrotitre plakası kuyucuklarına eklenerek ardından sıçan MDA 'ya özgü biyotin konjuge antikor ile kaplanmaktadır. Daha sonra, Horseradish Peroksidazına (HRP) konjuge avidin her mikroplaka kuyusuna eklenip inkübe edilmektedir. 3,3',5,5'-Tetra Metil Benzidin (TMB) substrat çözeltisi eklendikten sonra, enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit çözeltisi eklenerek sonlandırılmakta ve renk değişimi 450 nm±10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Daha sonra numunelerdeki sıçan MDA konsantrasyonu, numunelerin Optik Dansitesi (OD)'sinin standart eğriyle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir.

3.8.3. tGSH Seviyelerinin Belirlenmesi

Beyin dokusu tGSH düzeyleri, sıçanlar için üretilmiş olan GSH ELISA kiti (Katalog no: ELK8577; ELK Biotechnology Co. Ltd., Denver, Kolorado, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bu test kiti, yarışmalı inhibisyon enzim immünoassay tekniğini kullanmaktadır. Bu kitte sağlanan 96 kuyucuk içeren mikrotitre plakası sıçan GSH proteini ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler uygun mikrotitre plakası kuyucuklarına eklenerek ardından sıçan GSH'ye özgü biyotin konjuge antikor ile kaplanmaktadır.

Daha sonra, HRP konjuge avidin her mikroplaka kuyusuna eklenip inkübe edilmektedir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit çözeltisi eklenerek sonlandırılmakta ve renk değişimi 450 nm±10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Daha sonra numunelerdeki sıçan GSH konsantrasyonu, numunelerin OD'sinin standart eğriyle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir.

3.8.4. SOD Aktivitesinin Belirlenmesi

Beyin dokusu SOD aktivitesi, sıçanlar için üretilmiş olan SOD ELISA kiti (Katalog no: ELK8178; ELK Biotechnology Co. Ltd., Denver, Kolorado, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bu kitte uygulanan test prensibi sandwich enzim immünoassay'dir. Bu kitte sağlanan 96 kuyucuk içeren mikrotitre plakası, sıçan SOD'a spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler uygun mikrotitre plakası kuyucuklarına eklenerek ardından sıçan SOD'a spesifik biyotin konjuge antikor ile kaplanmaktadır. Daha sonra, HRP konjuge avidin her mikroplaka kuyusuna eklenerek inkübe edilmektedir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece sıçan SOD, biyotinle konjuge edilmiş antikor ve enzimle konjuge edilmiş avidin içeren kuyucuklarda renk değişikliği görülecektir. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit çözeltisi eklenerek sonlandırılmakta ve renk değişimi 450 nm±10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Daha sonra numunelerdeki sıçan SOD konsantrasyonu, numunelerin OD'sinin standart eğriyle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir.

3.8.5. CAT Aktivitesinin Belirlenmesi

Beyin dokusu CAT aktivitesi, sıçanlar için üretilmiş olan CAT ELISA kiti (Katalog no: ELK5986; ELK Biotechnology Co. Ltd., Denver, Kolorado, ABD) kullanılarak ölçüldü. Bu kitte uygulanan test prensibi sandwich enzim immunoassay'dir. Bu kitte sağlanan 96 kuyucuk içeren mikrotitre plakası, sıçan CAT 'a spesifik bir antikor ile önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler uygun mikrotitre plakası kuyucuklarına eklenerek ardından sıçan CAT 'a özgü bir biyotin konjuge antikor ile kaplanmaktadır. Daha sonra, HRP konjuge avidin her mikroplaka kuyusuna eklenerek inkübe edilmektedir. TMB substrat çözeltisi eklendikten sonra, sadece sıçan CAT, biyotin konjuge antikor ve enzim konjuge avidin içeren kuyucuklarda renk değişikliği

görülecektir. Enzim-substrat reaksiyonu sülfürik asit çözeltisi eklenerek sonlandırılmakta ve renk değişimi 450 nm±10 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Daha sonra numunelerdeki sıçan CAT konsantrasyonu, numunelerin OD'sinin standart eğriyle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir.

3.9. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirme için sıçanlardan alınan beyin dokuları %10 formalin solüsyonu içinde fikse edildi. Bu işlemin ardından doku örnekleri 24 saat boyunca kasetlerde musluk suyu altında yıkandı. Daha sonra doku örnekleri dokulardaki suyu uzaklaştırmak için konvansiyonel dereceli alkol (%70, %80, %90 ve %100) serilerinden geçirildi. Şeffaflaştırmak amacıyla ksilolden geçirilen dokular parafine gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan 4-5 mikronluk kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin (H&E) boyamasına tabi tutuldu. Ardından beyin dokuları tedavi protokolüne kör olan bir patolog tarafından ışık mikroskobu (Olympus BX 51; Olympus Corp., Tokyo, Japonya) ile değerlendirilmiş ve fotoğraflar dijital kamera (Olympus DP 71, Olympus Corp., Tokyo, Japonya) ile çekilmiştir. Beyin dokuları hemoraji, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve neovaskülarizasyon açısından değerlendirilerek her bir doku kesitindeki histopatolojik hasar şiddeti 0-3 arasında (0: hasar yok; 1: hafif hasar; 2: orta hasar; 3: şiddetli hasar) derecelendirilmiştir.

3.10. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler “IBM SPSS Statistical Program for Windows (IBM Corp., V.27.0, released in 2020, Armonk, NY, USA)” programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekiller, “GraphPad Prism (GraphPad Software, V.8.0.1, released in 2018, San Diego, CA, USA)” programı kullanılarak oluşturulmuştur. Tüm biyokimyasal sonuçlar ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. Sürekli değişkenler için dağılımın normalliği Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki farkların anlamlılığını değerlendirmek için normal dağılım gösteren değişkenler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve normal dağılım göstermeyen değişkenler içinse Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Varyansların homojenliği varsayımını değerlendirmek için Levene testi kullanılmıştır. Farklılıktan sorumlu grubu belirlemek için varyansların homojenliği sağlanmışsa ANOVA'dan sonra post-hoc test olarak

Tukey HSD (Honestly Significant Difference) testi sağlanmamışsa Games-Howell testi uygulanmıştır. Olasılık değerinin $p<0,05$ olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Beyin dokularından elde edilen biyokimyasal bulgular analiz edilmiş ve sonuçları Tablo 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Cerebrolysin ve Favipiravirin Sıçan Beyin Dokusundaki Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Olan Etkisi

			Biyokimyasal Değişkenler			
			MDA (pg/mL)	**tGSH (ng/mL)**	**SOD (ng/mL)**	**CAT (ng/mL)**
Gruplar	**SG**		4.34 ± 0.11	8.23 ± 0.04	7.65 ± 0.06	6.82 ± 0.03
	CER		4.20 ± 0.10	8.31 ± 0.05	7.71 ± 0.04	6.91 ± 0.05
	FAV		7.68 ± 0.06	4.36 ± 0.11	3.29 ± 0.07	3.16 ± 0.05
	CFAV		5.49 ± 0.06	6.72 ± 0.07	6.14 ± 0.03	5.79 ± 0.04
Ortalama için % 95 güven aralığı (CI)	**SG**	lower	4.0588	8.1207	7.4801	6.7395
		upper	4.6212	8.3426	7.8132	6.9072
	CER	lower	3.9517	8.1883	7.6057	6.7804
		upper	4.4550	8.4350	7.8043	7.0362
	FAV	lower	7.5208	4.0859	3.1214	3.0416
		upper	7.8392	4.6374	3.4652	3.2751
	CFAV	lower	5.3314	6.5474	6.0492	5.6893
		upper	5.6486	6.8893	6.2275	5.8974

Dipnot: Sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. Tüm gruplar için n=6.

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; MDA: malondialdehit; tGSH: indirgenmiş glutatyon; SOD: süperoksit dismutaz; CAT: katalaz.

Tablo 4.2. Cerebrolysin ve Favipiravirin Sıçan Beyin Dokusundaki Oksidan ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkisi; p Değerlerinin Karşılaştırılması

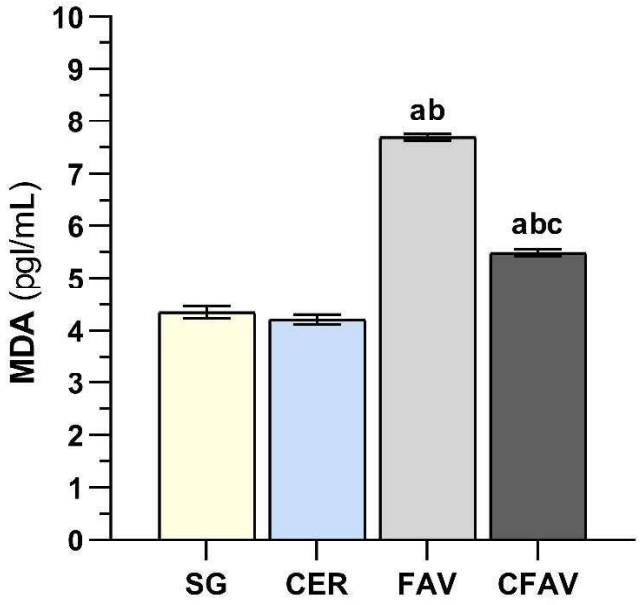
	p değerleri			
Grup karşılaştırmaları	**MDA ***	**tGSH ****	**SOD ***	**CAT ***
SG vs. CER	0.675	0.618	0.865	0.506
SG vs. FAV	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
SG vs. CFAV	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
CER vs. FAV	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
CER vs. CFAV	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
FAV vs. CFAV	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
F value	354.396	679.488	1503.117	1691.697
df (df1 / df2)	3 / 20	3 / 20	3 / 20	3 / 20

*Dipnot: * İstatistiksel analizler tek yönlü ANOVA testi ve ardından posthoc olarak Tukey's HSD testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ** İstatistiksel analizler tek yönlü ANOVA testi ve ardından Games-Howell testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.*

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; MDA: Malondialdehit; tGSH: Total glutatyon; SOD: Süperoksit dismutaz; CAT: Katalaz; df: serbestlik derecesi.

4.1.1. MDA Analiz Sonuçları

Şekil 4.1 ve Tablo 4.1, 4.2'de görülebileceği gibi, FAV grubunun beyin dokusu SG ve CER gruplarının beyin dokusundan daha yüksek MDA seviyeleri sergilemiştir (sırasıyla, $p<0.001$; $p<0.001$). MDA düzeyleri SG grubunda 4.34±0.11, CER grubunda 4.20±0.10 iken FAV grubunda 7.68±0.06 olarak bulunmuştur. Cerebrolysin ile tedavi, FAV grubunun MDA seviyelerinde görülen bu artışı önemli ölçüde baskılamıştır ($p<0.001$). CFAV grubunda MDA düzeyleri 5.49±0.06 olarak ölçülmüştür. CFAV grubunun beyin dokusundaki MDA düzeyleri, sağlıklı grup ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.001$).



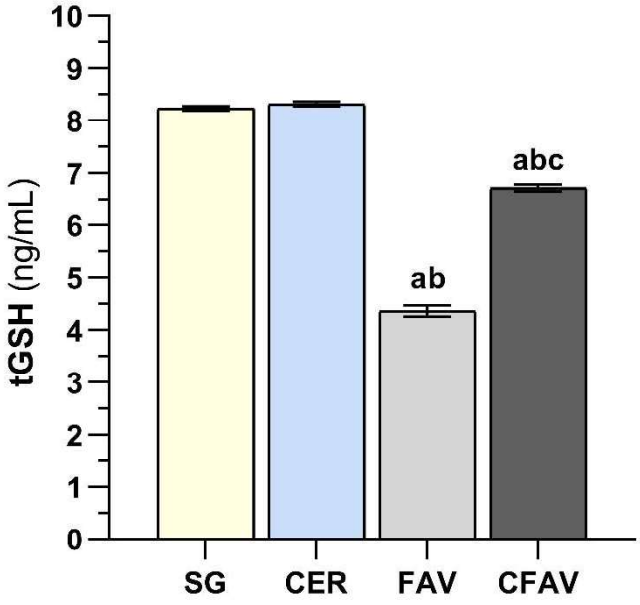
Şekil 4.1. Hayvanların Beyin Dokularındaki MDA Düzeyleri

Dipnot: Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. [a] *, diğer gruplar SG ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [b] *, FAV ve CFAV grupları CER ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [c] *,CFAV grubu FAV grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.001$ anlamına gelmektedir. Tüm gruplar için n=6 'dır.*

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; MDA: Malondialdehit.

4.1.2. tGSH Analiz Sonuçları

Şekil 4.2 ve Tablo 4.1, 4.2 'de verildiği gibi, FAV grubunun beyin dokusunda, SG ve CER gruplarının beyin dokusu ile kıyaslandığında daha düşük tGSH seviyeleri kaydedilmiştir (sırasıyla, $p<0.001$; $p<0.001$). tGSH düzeyleri SG grubunda 8.23±0.04, CER grubunda 8.31±0.05 iken FAV grubunda 4.36±0.11 olarak ölçülmüştür. Cerebrolysin ile tedavi, FAV grubunun tGSH seviyelerinde görülen bu düşüşü önemli ölçüde baskılamıştır ($p<0.001$). CFAV grubunda tGSH düzeyleri 6.72±0.07 olarak ölçülmüştür. CFAV grubunun beyin dokusundaki tGSH düzeyleri, sağlıklı grup ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.001$).



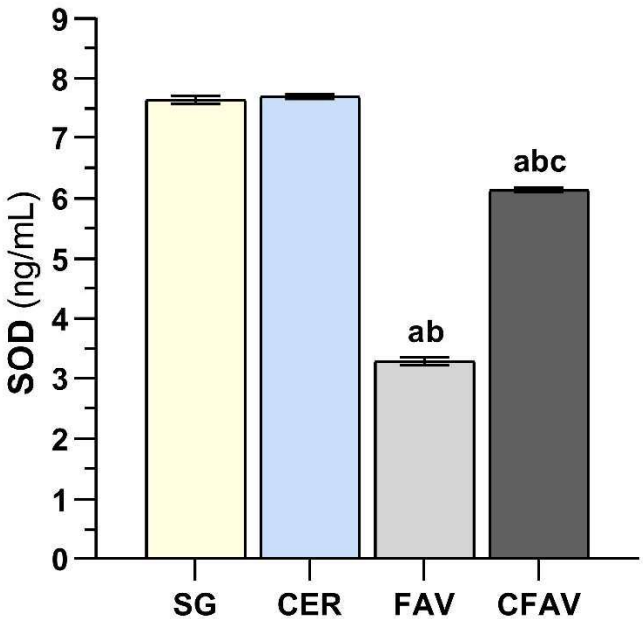
Şekil 4.2. Hayvanların Beyin Dokularındaki tGSH Düzeyleri

Dipnot: Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. [a] *, diğer gruplar SG ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [b] *, FAV ve CFAV grupları CER ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [c] *,CFAV grubu FAV grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.001$ anlamına gelmektedir. İstatistiksel analizler tek yönlü ANOVA testi ve ardından post-hoc test olarak Games-Howell testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplar için n=6.*

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; tGSH: Total glutatyon

4.1.3. SOD Analiz Sonuçları

Şekil 4.3 ve Tablo 4.1, 4.2 'de görülebileceği gibi, FAV grubunun beyin dokusu SG ve CER gruplarının beyin dokusundan daha yüksek SOD aktivitesi sergilemiştir (sırasıyla, $p<0.001$; $p<0.001$). SOD aktiviteleri SG grubunda 7.65±0.06, CER grubunda 7.71±0.04 iken FAV grubunda 3.29±0.07 olarak bulunmuştur. Cerebrolysin ile tedavi, FAV grubunun SOD aktivitelerinde kaydedilen bu azalışı önemli ölçüde baskılamıştır ($p<0.001$). CFAV grubunda ise SOD aktiviteleri 6.14±0.03 olarak ölçülmüştür. CFAV grubunun beyin dokusundaki SOD aktiviteleri, sağlıklı grup ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttur ($p<0.001$).



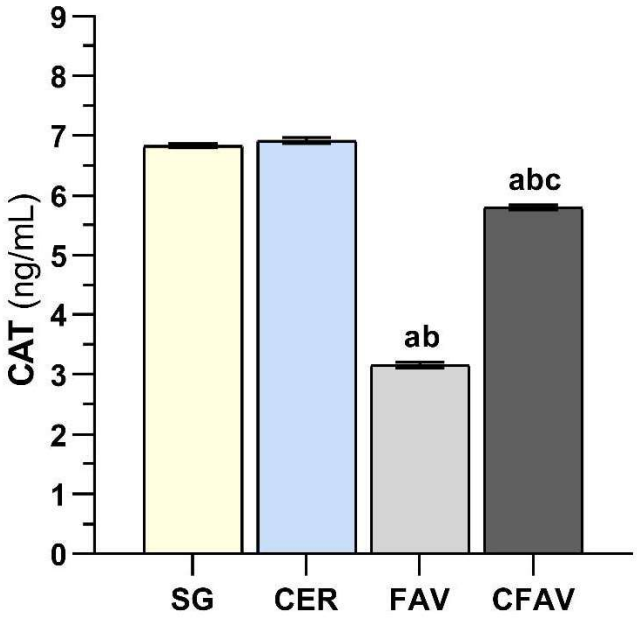
Şekil 4.3. Hayvanların Beyin Dokularındaki SOD Aktiviteleri

Dipnot: Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. [a] *, diğer gruplar SG ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [b] *, FAV ve CFAV grupları CER ile karşılaştırıldığında $p<0.001$;* [c] *,CFAV grubu FAV grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.001$ anlamına gelmektedir. İstatistiksel analizler tek yönlü ANOVA testi ve ardından post-hoc test olarak Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplar için n=6.*

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; SOD: Süperoksit dismutaz.

4.1.4. CAT Analiz Sonuçları

Şekil 4.4 ve Tablo 4.1, 4.2 'de gösterildiği üzere, FAV grubunun beyin dokusu, SG ve CER gruplarının beyin dokusu ile karşılaştırıldığında daha düşük CAT aktivitesi saptanmıştır (sırasıyla, $p<0.001$; $p<0.001$). CAT aktiviteleri SG grubunda 6.82±0.03, CER grubunda 6.91±0.05, FAV grubunda 3.16±0.05 olarak ölçülmüştür. Cerebrolysin ile tedavi, FAV grubunun CAT aktivitesinde görülen bu düşüşü önemli ölçüde engellemiştir ($p<0.001$). CFAV grubunda CAT aktivitesi 5.79±0.04 olarak kaydedilmiştir. CFAV grubunun beyin dokusundaki CAT aktivitesi, sağlıklı grup ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0.001$).



Şekil 4.4. Hayvanların Beyin Dokularındaki CAT Aktiviteleri

Dipnot: Veriler ortalama±ortalamanın standart hatası olarak sunulmuştur. [a], diğer gruplar SG ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; [b] , FAV ve CFAV grupları CER ile karşılaştırıldığında $p<0.001$; [c] ,CFAV grubu FAV grubu ile karşılaştırıldığında $p<0.001$ anlamına gelmektedir. İstatistiksel analizler tek yönlü ANOVA testi ve ardından post-hoc test olarak Tukey HSD testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplar için n=6.

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CAT: Katalaz.

4.2. Histopatolojik Bulgular

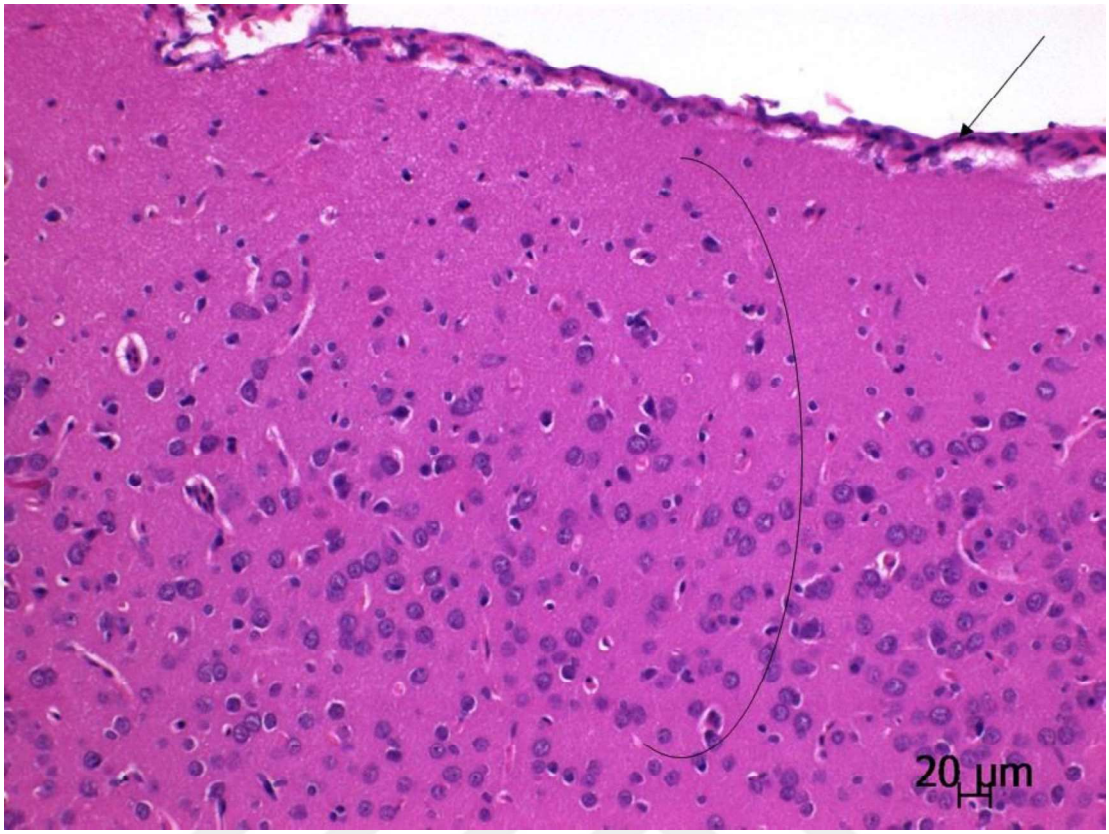
SG ve CER grubundaki hayvanlara ait beyin dokularının histopatolojik incelemesinde normal şekilde düzenlenmiş ve yapılandırılmış sağlam nöronlarıyla serebral korteks ve normal histolojik yapıları olan meninkslere ait görünüm tespit edilmiştir (Şekil 4.5 ve 4.6; Tablo 4.3). FAV grubunun beyin dokusunda ise şiddetli hemoraji, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve neovaskülarizasyon izlenmektedir (Şekil 4.7; Tablo 4.3). CFAV tedavi grubunun beyin dokusunda tek tük inflamatuar hücre infiltrasyonuna ve orta derecede neovaskülarizasyona rastlanmaktadır (Şekil 4.8; Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Sıçan Beyin Dokularından Elde Edilen Histopatolojik Derecelendirme Verilerinin Analizi

	Histopatolojik verilerin derecelendirmesi		
Gruplar	**Hemoraji**	**İnflamatuar hücre infiltrasyonu**	**Neovaskülarizasyon**
SG	0.00 ± 0.00 0 (0-0)	0.00 ± 0.00 0 (0-0)	0.00 ± 0.00 0 (0-0)
CER	0.00 ± 0.00 0 (0-0)	0.00 ± 0.00 0 (0-0)	0.00 ± 0.00 0 (0-0)
FAV	2.83 ± 0.17 3 (2-3) [ab]	2.83 ± 0.17 3 (2-3) [ab]	2.83 ± 0.17 3 (2-3) [ab]
CFAV	0.17 ± 0.17 0 (0-1) [c]	0.83 ± 0.17 1 (0-1)	1.83 ± 0.17 2 (1-2)

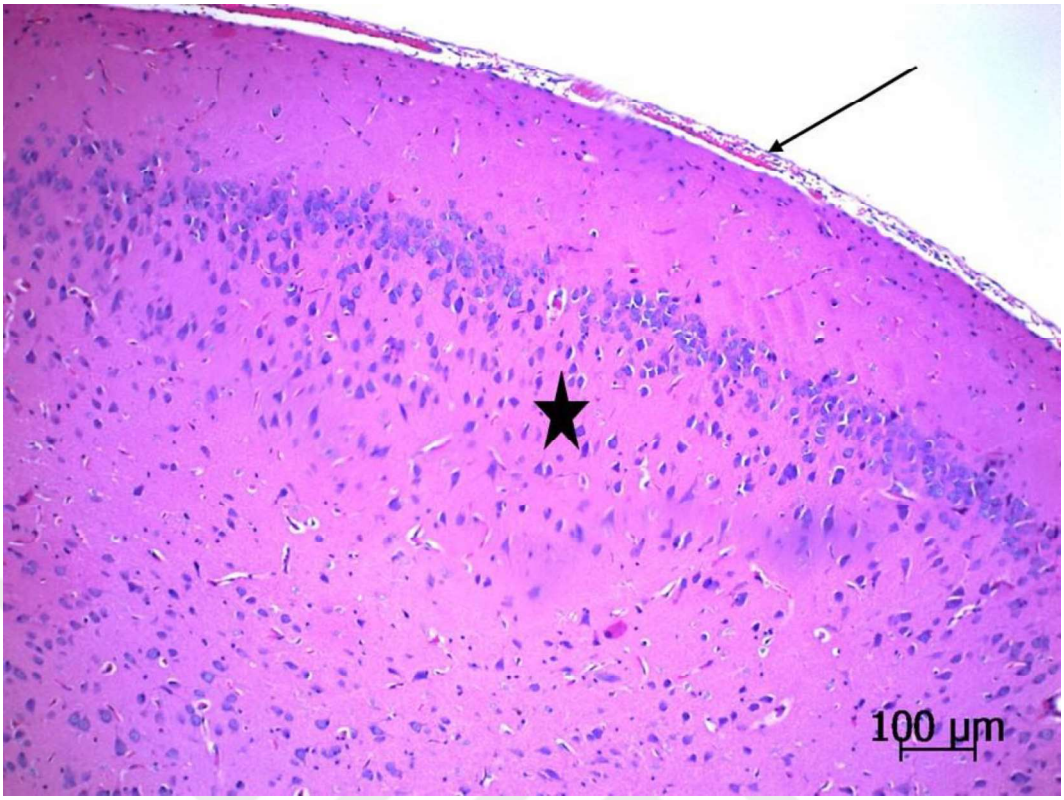
Dipnot: Sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hatası ve medyan (minimum-maksimum) olarak sunulmuştur. Değerler histopatolojik hasar derecelerini göstermektedir: 0: hiç yok; 1: hafif; 2: orta; 3: şiddetli. [a], diğer gruplar SG ile karşılaştırıldığında p<0.001; [b], FAV ve CFAV grupları CER ile karşılaştırıldığında p<0.001; [c], CFAV grubu FAV grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05 anlamına gelmektedir. İstatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ardından posthoc test olarak Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplar için n=6.

Kısaltmalar: SG: Sağlıklı grup; CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup.



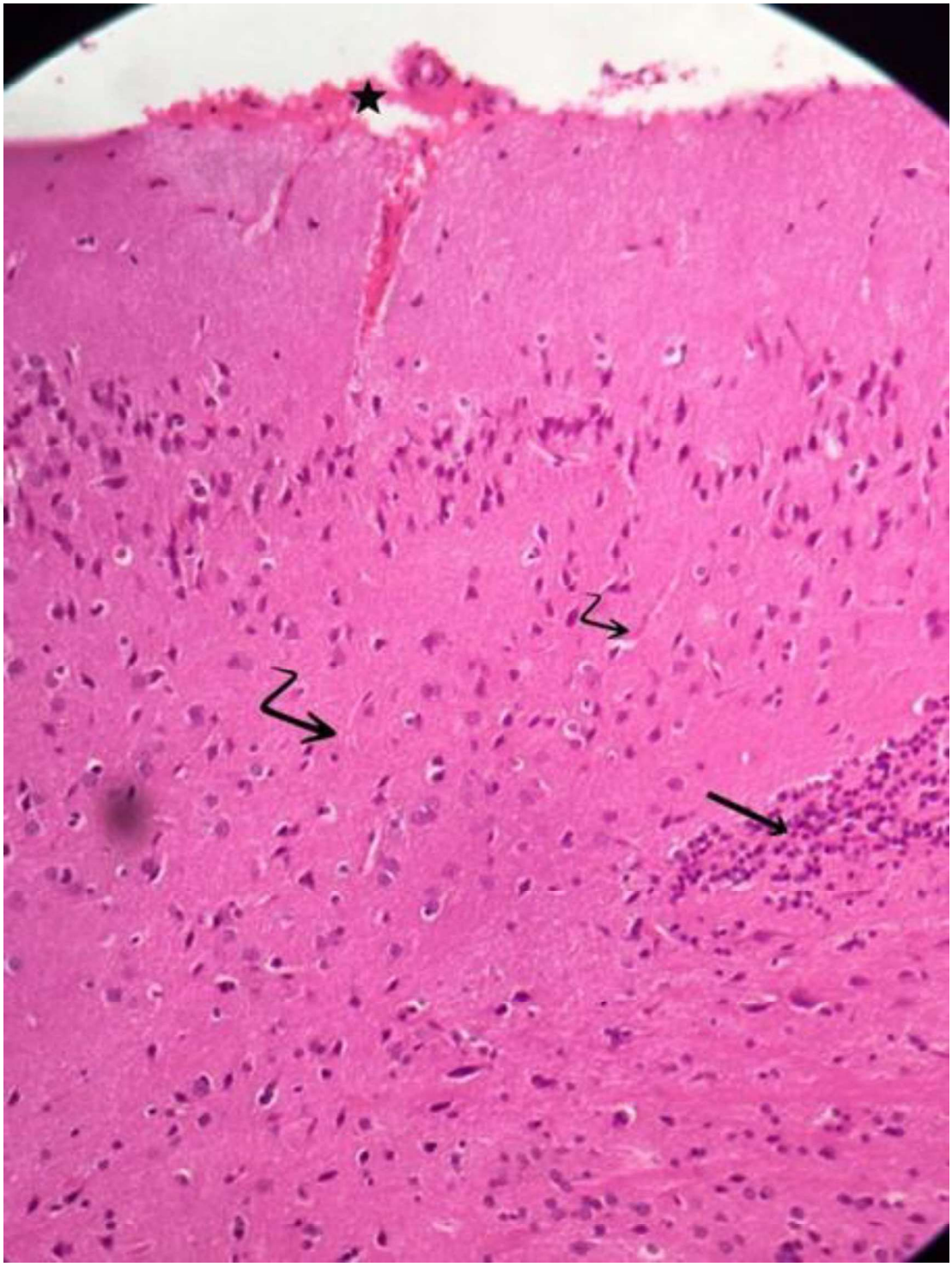
Şekil 4.5. SG Grubuna Ait Beyin Dokusunun Normal Histolojik Görünümü (H&Ex200)

SG: Sağlıklı kontrol grubu; Siyah yay: Serebral korteks; Siyah ok: Meninksler.



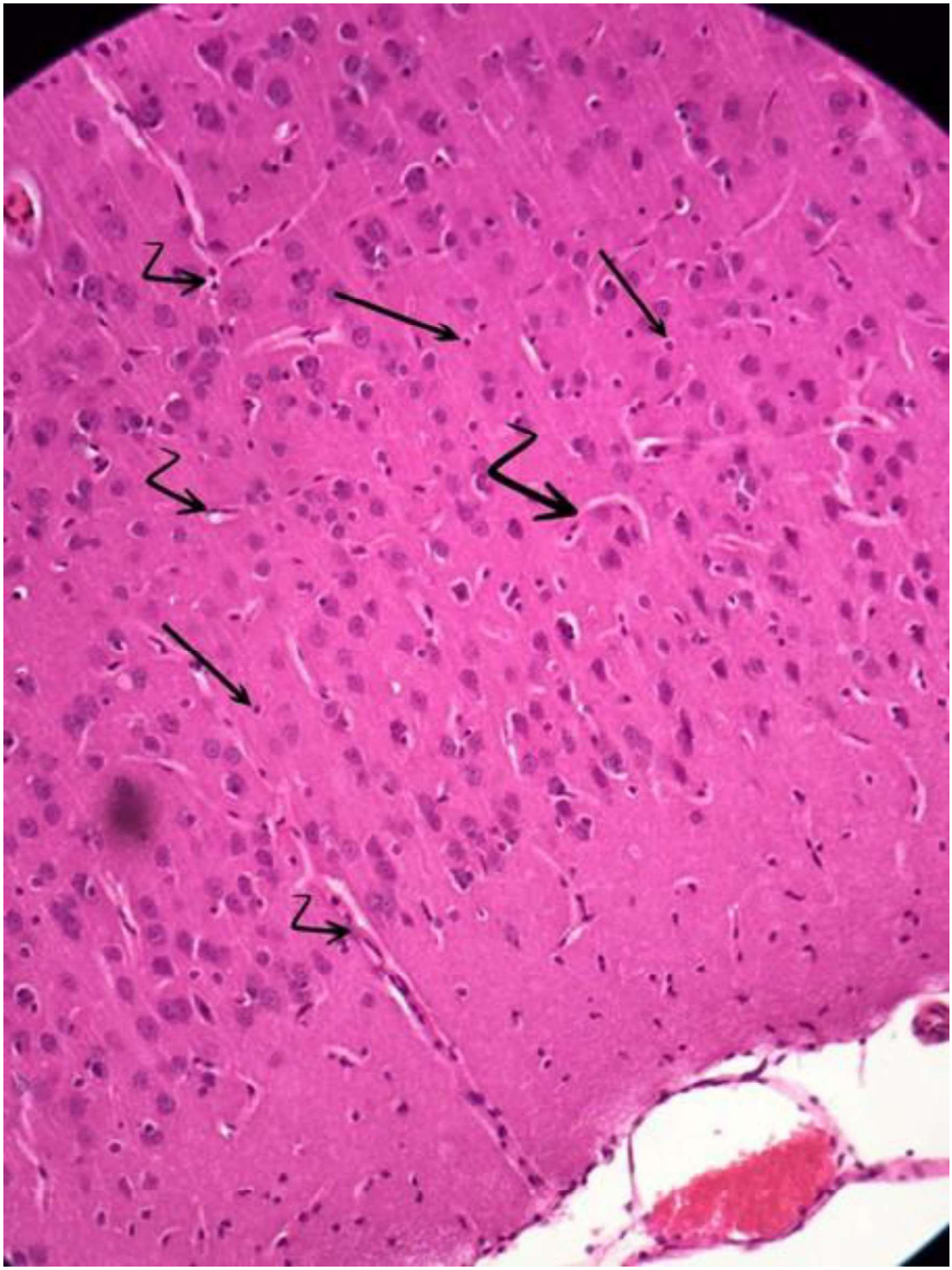
Şekil 4.6. CER Grubuna Ait Beyin Dokusunun Normal Histolojik Görünümü (H&Ex200)

CER: Tek başına 2.5 mL/kg cerebrolysin uygulanan grup; Yıldız: Serebral korteks; Siyah ok: Meninksler.



Şekil 4.7. FAV Grubuna Ait Beyin Dokusunun Histopatolojik Görünümü (H&Ex200)

FAV: Tek başına 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; Yıldız: şiddetli hemoraji; siyah ok: şiddetli inflamatuar hücre infiltrasyonu; zigzag ok: şiddetli neovaskülarizasyon.



Şekil 4.8. CFAV Tedavi Grubuna Ait Beyin Dokusunun Histopatolojik Görünümü (H&Ex200)

CFAV: 2.5 mL/kg cerebrolysin + 400 mg/kg favipiravir uygulanan grup; siyah ok: tek tük inflamatuar hücre infiltrasyonu; zigzag ok: orta derecede neovaskülarizasyon.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, çalışmamızın amacı olan sıçanlarda favipiravir'in olası beyin oksidatif hasarına karşı cerebrolysin'in koruyucu etkisi biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırılmıştır. Literatürden favipiravirin hücrelerde oksidatif stresi tetiklediği anlaşılmaktadır (Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022). Bilindiği gibi, oksidatif stres oluşumundan mitokondrial aşırı ROT üretimi ve ATP tüketimi sorumlu tutulmuştur (Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022; Seydi ve ark., 2023). Süperoksit anyonu ($O2^{\cdot -}$), hidroksil radikalleri (•OH), ve hidrojen peroksit (H_2O_2) günümüzde üzerinde en çok durulan ROT çeşitleridir (Suleyman ve Ozcicek, 2019). ROTlar, hücre membran lipitlerini oksidasyona uğratarak, lipitlerden aldehit ve MDA gibi toksik ürünlerin meydana gelmesine yol açarlar (Suleyman ve Ozcicek, 2019). Biyokimyasal deney sonuçlarımız, 400 mg/kg dozunda favipiravir uygulanan hayvanların beyin dokusundaki MDA düzeylerinin sağlıklı ve tek başına cerebrolysin uygulanan gruplarla kıyaslandığında anlamlı yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, non-enzimatik (tGSH) ve enzimatik (SOD, CAT) endojen antioksidan düzeylerinin anlamlı düşük olduğunu ortaya koymuştur. Bilindiği gibi MDA, lipit peroksidasyonunun son toksik ürünlerinden biridir (Tsikas, 2024). LPO reaksiyonu sonucu ortaya çıkan MDA nın kendisi de toksik olup, membranın yapısını ve fonksiyonlarını bozarak daha ileri yıkımlara sebep olabilmektedir (Suleyman ve Ozcicek, 2019). MDA, hücre bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Sonuç olarak, MDA membranlardaki reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive eder ve membran proteinlerinde de ciddi hasara yol açar (Yazici ve ark., 2022). MDA, LPO'nun ve oksidatif hasarın en güvenilir parametresi olarak kabul edilmektedir (Balci ve ark., 2022). Bir dokuda MDA seviyesinin artması ROTların arttığını gösterir (Suleyman ve Ozcicek, 2019). Çalışmamızda oksidatif stresi değerlendirmek için LPO'nun toksik bir ürünü olan MDA ölçülmüştür. Bulgularımız 400 mg/kg dozunda favipiravir uygulamasının hayvanların beyin dokusunda MDA düzeylerinde artışa yol açtığını ortaya koymuştur. Literatürde favipiravir uygulamasının beyinde MDA seviyelerini artırdığına dair kanıt bulunmamaktadır.

Ancak Kaya ve arkadaşları tarafından, 30 adet sprague Dawley türü rat üzerinde 14 gün boyunca 20 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarında favipiravir uygulamasının beyin dokusu üzerindeki oksidatif etkileri araştırılmıştır. Deney sonuçları favipiravirin her iki dozda da beyin dokusunda tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) seviyelerini önemli ölçüde artırdığını ortaya koymuştur (Kaya ve ark., 2023). Son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada ise Elma ve arkadaşları 36 adet albino Wistar türü sıçana yedi gün boyunca günde iki kez 800 mg/kg favipiravir uygulamasının akciğer dokusunda MDA düzeylerinde anlamlı artışa yol açtığını göstermişlerdir (Elma ve ark., 2024). Benzer şekilde Bilici ve arkadaşları da 18 adet albino Wistar türü sıçana bir hafta boyunca günde 100 mg/kg ve 400 mg/kg favipiravir uygulaması yapmış ve favipiravirin her iki dozda da karaciğer dokusunda MDA seviyelerinde anlamlı bir artışa yol açtığını kaydetmişlerdir (Bilici ve ark., 2023). Balcı ve arkadaşları da bir hafta süreyle günde iki kez 100 mg/kg ve 400 mg/kg dozlarında favipiravir uyguladıkları sıçanlarda her iki dozda da over dokusunda MDA artışı olduğunu göstermişlerdir (Balci ve ark., 2022). Bu literatür bilgileri deney sonuçlarımızı kuvvetli bir şekilde desteklemekte ve 400 mg/kg dozunda favipiravir uyguladığımız hayvanların beyin dokusunda ROT üretiminin arttığına ve LPO reaksiyonunun indüklendiğine bunun sonucu olarak da favipiravirin oksidatif hasara yol açabileceğine işaret etmektedir.

Favipiravirin, beyin dokusundaki antioksidan parametreler üzerine olan etkisini tGSH, SOD ve CAT ölçümleriyle değerlendirdik. Biyokimyasal deney sonuçlarımız, favipiravir uygulanan hayvanların beyin dokusundaki tGSH seviyeleri ile birlikte SOD ve CAT aktivitelerinin de anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermiştir. Bilindiği üzere, çeşitli kaynaklardan gelen ROT lara maruz kalma organizmaların bir dizi savunma mekanizması geliştirmesine yol açmıştır (Cadenas, 1997). ROT lara karşı savunma mekanizmaları şunları içermektedir: (a) önleyici mekanizmalar, (b) onarım mekanizmaları, (c) fiziksel savunmalar ve (d) antioksidan savunmalar (Valko ve ark., 2007). Enzimatik antioksidan savunmalar arasında SOD, GPx, CAT bulunurken non-enzimatik antioksidanlar olarak askorbik asit (C Vitamini), -tokoferol (E Vitamini), GSH, karotenoidler, flavonoidler ve diğer antioksidanlar bulunmaktadır (Valko ve ark., 2007). Sağlıklı dokularda oksidan/antioksidan dengesi, antioksidanların baskınlığı ile korunmaktadır (Clarkson ve Thompson, 2000). Oksidatif stres, ROT lar ile antioksidanların varlığı ve aktivitesi arasında bir dengesizliğin olduğu bir durumu temsil

etmekte ve oksidatif streste bu denge, ROT artması ve/veya antioksidan aktivitenin azalması nedeniyle bozulmaktadır (Czerska ve ark., 2015). Aşırı üretilen ROT'lar, non-enzimatik (GSH) ve enzimatik (SOD, CAT) antioksidan savunma tarafından nötralize edilerek hücrelerin, dokuların ve organların zarar görmesi önlenir (Hajam ve ark., 2022). Endojen GSH, iki sitozolik enzim olan gama-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz tarafından katalize edilerek glutamat, Cys ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir (Wu ve ark., 2004). GSH, bu yolakla hemen hemen tüm hücre tiplerinde oluşturulmakla birlikte GSH'nin ana üretim yeri karaciğerdir (Wu ve ark., 2004). GSH, tiyolü azaltılmış-indirgenmiş GSH formunda ve disülfid oksitlenmiş GSSG formlarda bulunur (Kaplowitz ve ark., 1985; Lv ve ark., 2019). GPx, H_2O_2 ve lipit hidroperoksiti (lipit-OOH), H_2O ve lipit hidroksite (lipit-OH) dönüştürür, bu reaksiyonda GSH, GSSG'ye oksitlenir ve GR enzimi GSSG'yi NADPH'ye bağlı olarak GSH'ye indirger, böylece oksidatif hasarı önlemek için bir redoks döngüsü oluşturur (Lv ve ark., 2019). GSH, antioksidan savunma, detoksifikasyon, tiyol durumunun korunması ve hücre proliferasyonunun modülasyonunu içeren çeşitli fonksiyonlara sahiptir (Lu, 2009). GSH (L-γ-glutamil-L-sisteinil-glisin tripeptit), hücrelerin metabolik aktivitesi sırasında üretilen ROT veya RNT'ni temizleyen ve azaltan önemli bir detoksifikatördür (Chopra, 2004). GSH ayrıca H_2O_2'yi hücrelerden uzaklaştırarak hücreleri ROT'ların oluşturduğu hasardan korumaktadır (Yazici ve ark., 2022). Gerçekte, GSH'nin doğrudan temizleyici antioksidan etkileri olmasına rağmen, antioksidan işlevi büyük ölçüde H_2O_2'nin, lipit hidroperoksitler gibi organik peroksitlerin ve peroksinitritin indirgeyici uzaklaştırılmasıyla GPx katalizli reaksiyonlarla gerçekleştirilir (Lapenna, 2023). GSH'nin indirgenmiş formunun, doku oksidatif stres faktörlerine karşı çok yönlü etkiye sahip ana hücre içi antioksidatif tampon görevi gördüğüne inanılmaktadır (Kwiecien ve ark., 2014). GSH ayrıca ROT'u nötralize etmek için SODlar ile sinerjik olarak çalışabilir (Kwiecien ve ark., 2014). ROTların aracılık ettiği hasara karşı ilk savunma hattı olan SODlar ise süperoksit radikallerinin, H_2O_2 ve oksijene parçalanmasını katalize eden bir grup metaloenzimdir (Zhao ve ark., 2021). Sitozol ve mitokondriyal intermembranda (Cu, Zn-SOD veya SOD1), mitokondriyal matriks ve iç membranda (Mn-SOD veya SOD2) ve ekstraselüler kompartmanda (Cu, Zn-SOD veya SOD3) bulunur (Rosa ve ark., 2021). CAT ise çoğu dokuda bulunmakla birlikte, ağırlıklı olarak uzun zincirli yağ asitlerinin β-oksidasyonu dahil olmak üzere birçok önemli metabolik fonksiyondan

sorumlu hücresel organeller olan peroksizomlarda bulunur (Girnun ve ark., 2002). Peroksizomal yağ asidi β-oksidasyonu büyük miktarlarda H_20_2 ürettiğinden, hücreleri bu toksik ROT'ne karşı korumak için CAT'ın varlığı gereklidir (Girnun ve ark., 2002). CAT'ın H_2O_2 konsantrasyonuna bağlı olarak iki enzimatik aktivitesi bulunmaktadır; H_2O_2 konsantrasyonu yüksekse katalitik etki gösterir, yani H_2O_2'yi, H_2O ve O_2 oluşturarak uzaklaştırır (katalitik reaksiyon) bununla birlikte, düşük bir H_2O_2 konsantrasyonunda ve uygun bir hidrojen donörünün (etanol, metanol, fenol ve diğerleri) varlığında, CAT peroksidik olarak etki ederek substratını oksitleyerek H_2O_2'yi uzaklaştırır (peroksidatik reaksiyon) (Scibior ve Czeczot, 2006). Ayrıca CAT NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek dokuları inflamasyondan da koruyabilmektedir (Girnun ve ark., 2002). Çalışmamızda beyin dokusunda tGSH, SOD ve CAT düzeylerinin favipiravir uygulamasıyla azalmış olması, antioksidanların ROT'ları nötralize ederken aşırı harcanmasından kaynaklandığını ifade eden literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir (Poljsak ve ark., 2013) ve beyin dokusunda oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değiştiğini gösterir. Kaya ve ark.'ı oluşturdukları deneysel hayvan modellerinde düşük (20 mg/kg) ve yüksek (100 mg/kg) dozlarda favipiravir uygulamasının beyin dokusunda GSH seviyeleri ile SOD ve CAT aktivitelerinde oluşturacağı değişimi araştırmıştır. Sonuç olarak düşük doz favipiravirin hafif düzeyde, yüksek doz favipiravirin ise belirgin düzeyde tGSH düzeyi ve SOD aktivitesinde bir azalmaya yol açtığını, ama bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını kaydetmişlerdir. Ek olarak, düşük doz favipiravirin CAT aktivitesinde anlamlı olmayan bir azalmaya yol açtığını yüksek doz favipiravir de ise bir değişim olmadığını bildirmişlerdir (Kaya ve ark., 2023). Her ne kadar Kaya ve ark. antioksidan düzeylerinde anlamlı bir azalma olmadığını rapor etmiş olsa da çalışmamızda hayvanlara verilen favipiravirin çok daha yüksek dozlarda (400 mg/kg) uygulanması ile anlamlı azalmanın ortaya çıkması bu farklılığı açıklayabilir. Favipiravirin çok yüksek dozlarda oluşturduğu bu etki antioksidanların çok daha fazla harcanmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu yönüyle çalışmamız çok yüksek dozlarda favipiravirin beyin dokusunda oluşturduğu antioksidan azalmasını gösteren ilk çalışma gibi durmaktadır. Nitekim Bilici ve ark. deneysel hayvan modellerinde karaciğer dokusunda hem 100 mg/kg hemde 400 mg/kg dozlarında antioksidan (tGSH, SOD ve CAT) düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir (Bilici ve ark., 2023). Bu sonuçlarda

bulgularımızı desteklemektedir. Ancak, 100 mg/kg dozunda favipiravirin Bilici ve ark.'nın çalışmasında karaciğerde antioksidanların anlamlı azalmasına yol açarken Kaya ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada beyin dokusunda anlamlı bir azalmaya yol açmaması Rong ve ark.'nın öne sürdükleri favipiravirin düşük lipofilikliğe ve pasif geçirgenliğe sahip bir ilaç olduğu bu nedenle de beyin alımının düşük olduğu bilgisiyle bağlantılı gibi görünmektedir (Bilici ve ark., 2023; Kaya ve ark., 2023; Rong ve ark., 2023). Bu literatür bilgileri ışığında favipiravirin çok yüksek dozlarda beyin alımının arttığı ve böylece beyin dokusunda antioksidanlarda azalmaya yol açtığı sonucuna varılabilir.

Favipiravirin olası beyin hasarına karşı etkisini araştırdığımız cerebrolysin, favipiravire bağlı MDA düzeylerinin artışını anlamlı bir şekilde baskılamıştır. Literatür taramalarında, favipiravir ile ilişkili olası beyin hasarında cerebrolysinin koruyucu etkisini gösteren çalışmalara rastlanmadı. Ancak Omar ve arkadaşları sprague Dawley türü sıçanlara intraperitoneal lipopolisakkarit uygulayarak beyin ve karaciğerde oksidatif stres oluşturdukları hayvan modelinde hem beyin hemde karaciğer dokularında artmış MDA düzeylerinin cerebrolysin uygulamasıyla anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir (Abdel-Salam ve ark., 2013). Son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada ise albino türü sıçanların ortak karotis arterlerinin oklüzyonu ile oluşturulan kronik beyin iskemisi modelinde, cerebrolysinin MDA düzeylerindeki artışı inhibe ettiği rapor edilmiştir (Kurkin ve ark., 2021). Hira ise yaptığı tez çalışmasında sisplatin ile indüklenen oksidatif beyin hasarında oluşan MDA artışının cerebrolysin ile baskılandığını savunmuştur (Hira, 2020). Literatürde, cerebrolysinin LPO'nu ve hücre zarı bozulmasını azalttığı sonucuna varılmış olan çalışmalar da bulunmaktadır (Tonge ve ark., 2023). Ayrıca cerebrolysinin oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etki gösterdiği de rapor edilmiştir (Ozkizilcik ve ark., 2023). Cerebrolysinin hayvan beyin dokusunda favipiravir ile indüklenen MDA düzeyi artışını anlamlı önlemiş olması literatür bilgileri ile de paralellik sergilemektedir. Deneysel bulgularımız ve literatür, cerebrolysinin beyin dokusunu favipiravir ile oluşan oksidatif hasara karşı koruduğunu işaret etmektedir.

Deneysel sonuçlarımız, favipiravir ile beyin dokusunda meydana gelen non-enzimatik antioksidan tGSH tükenmesine karşı cerebrolysinin etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Literatürde favipiravirin beyin dokusunda tGSH düzeylerinde meydana getirdiği azalmaya karşı cerebrolysinin etkisini araştıran çalışmaya rastlanmadı. Ancak Hira, sisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarında tGSH düzeylerindeki azalmanın cerebrolysin ile etkili bir şekilde baskılandığını göstermiştir (Hira, 2020). Malathion ile zehirlenen sıçanlarda beyinde oksidatif stres ve nöronal hasar gelişimi üzerinde cerebrolysinin nöroprotektif potansiyelinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise cerebrolysinin redükte GSH seviyelerinin tükenmesini engelleyerek neredeyse kontrol grubu değerlerine geri döndürdüğü rapor edilmiştir (Me Abdel-Salam ve ark., 2018). Deneysel sonuçlarımız ve literatürden edinilen bilgiler, cerebrolysinin beyin dokusunda favipiravir ile ilişkili tGSH tükenmesini önlediğini açıkça göstermektedir.

Favipiravir ile beyin dokusunda meydana gelen hasara karşı etkisini araştırdığımız cerebrolysin, enzimatik antioksidanlar olan SOD ve CAT aktivitelerindeki düşüşü de anlamlı olarak baskılamıştır. Literatürde favipiravirin beyin dokusunda SOD ve CAT aktivitelerinde oluşturduğu azalmaya karşı cerebrolysinin etkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bununla birlikte yakın zamanda cerebrolysinin sıçan beyin dokusunda radyo-koruyucu etkisinin araştırıldığı bir hayvan çalışmasında radyoaktif ışınlama sonrasında azalmış SOD aktivitesinin cerebrolysin ile önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir (Ghavipanjeh ve ark., 2024). Deneysel bir hayvan modeli oluşturularak cerebrolysinin nöroprotektif etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise siyatik sinirin tam ezilme hasarı sonrasında görülen gerek serum gerekse doku SOD ve CAT aktivitelerindeki azalmanın cerebrolysin ile baskılandığı ortaya konulmuştur (Elhessy ve ark., 2023). Tonge ve arkadaşları ise tavşanlarda omurilik iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturdukları deneysel modellerinde oksidatif stres nedeniyle serum ve doku CAT aktivitelerinin azaldığını, cerebrolysin uygulamasının bu azalmayı inhibe ederek antioksidan etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (Tonge ve ark., 2023). Deneysel bulgularımız ve literatür, cerebrolysinin gerek oksidanların artışını gerekse de antioksidanların tüketilmesini önleyerek beyin dokusunu favipiravir ile oluşan oksidatif hasardan koruduğuna işaret etmektedir.

Favipiravirin sıçanlarda oluşturduğu olası beyin hasarına karşı cerebrolysinin koruyucu etkisini araştırdığımız çalışmamızda beyin dokuları histopatolojik olarak da incelendi. Çalışmamızda sıçanların beyin dokularından elde edilen biyokimyasal sonuçlarımız

histopatolojik bulgularımızla paraleldir. Histopatolojik deney sonuçlarımızda, sağlıklı ve tek başına cerebrolysin uygulanan gruplarda serebral korteksin kortikal nöronlarının normal şekilde düzenlenmiş ve yapılanmış olduğu ve buna meninkslerin eşlik ettiği görülmektedir. Bununla birlikte tek başına favipiravir uygulanan grubun beyin dokusunda hemoraji, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve neovaskülarizasyon bulgularının hepsinin şiddetli düzeyde seyrettiği gözlenmiştir. Cerebrolysin alan hayvanların beyin dokusunda ise hemorajinin bulunmadığı bununla birlikte tek tük inflamatuar hücre infiltrasyonunun ve orta derecede neovaskülarizasyonun eşlik ettiği önemli ölçüde hafiflemiş histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Her ne kadar literatürde favipiravirin beyin dokusu üzerinde oluşturduğu histopatolojik hasara dair çok az sayıda kanıt bulunsa da, Kaya ve arkadaşları, hem düşük hemde yüksek doz favipiravirin sıçanların beyin dokusunda vasküler hiperemi, fokal glia hücre infiltrasyonu, nöronal dejenerasyon, vakuolizasyon ve fokal gliozis gibi histopatolojik değişiklikler geliştiğini rapor etmişlerdir (Kaya ve ark., 2023). Aynı çalışmada favipiravirin bu histopatolojik değişikliklere beyinde oksidatif, inflamatuar ve apoptotik süreçleri aktive ederek yol açtığı savunulmuştur (Kaya ve ark., 2023). Literatürde cerebrolysinin favipiravir ile oluşmuş oksidatif histopatolojik hasara karşı etkisini araştıran çalışma bulunmamakla beraber birçok nedenle meydana gelmiş beyin dokusu histopatolojik hasarını hafiflettiğine dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır. Bir çalışmada sıçanlarda travmatik beyin hasarını takiben erken cerebrolysin uygulamasının beyinde nöronal hasarı ve beyin ödemini histopatolojik olarak belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir. Bu durumun ise cerebrolysinin KBB ve KBOSB geçirgenliğindeki değişimleri azaltmasına bağlı olduğu savunulmuştur (Sharma ve ark., 2010). Lipopolisakkaritin beynin korteks ve striatumunda oluşturduğu nekroz, gliozis, nöropil vakuolasyonu, inflamatuar hücre infiltrasyonu ve nöronlarda büzülmüş, koyu boyanmış piknotik çekirdeklerle karakterize oksidatif stres hasarının cerebrolysin ile tamamen gerilediğini gösteren çalışmalarda mevcuttur. Bu gerilemede ise cerebrolysinin LPO üzerindeki inhibitör etkisi sorumlu tutulmuştur (Abdel-Salam ve ark., 2013). Rotenonun, farklı beyin bölgelerinde önemli ölçüde artmış oksidatif stres ve proinflamatuar yanıta neden olduğu bir araştırmada ise cerebrolysinin korteks ve striatumda nöronal hasar gelişimini belirgin şekilde önlediği kaydedilmiştir (Abdel-Salam ve ark., 2014).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Biyokimyasal ve histopatolojik kanıtlarımız, favipiravir uygulaması sonrasında sıçanların beyin dokusundaki oksidan/antioksidan dengenin oksidanlar lehine değiştiğini ve şiddetli oksidatif hasar geliştiğini göstermektedir. Favipiravir hayvanların beyin dokusunda oksidan düzeylerinin artmasına ayrıca hem non-enzimatik (tGSH) hemde enzimatik (SOD, CAT) antioksidan seviyelerinin ise azalmasına neden olmuştur. Bu çalışmanın bulguları beyin dokusunun favipiravir toksisitesinden ne ölçüde etkilendiğinin doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlamıştır. Ayrıca oksidan/antioksidan dengesinin favipiravir tarafından bozulmasının beyin dokusunda histopatolojik hasara da yol açtığı tespit edilmiştir. Cerebrolysin, favipiravir uygulanan hayvanların beyin dokusunda oksidan düzeylerindeki artışı ve antioksidanların tükenmesini önemli ölçüde önlemiştir. Cerebrolysin uygulaması ayrıca favipiravir ilişkili histopatolojik değişiklikleri de hafifletmiştir.

Deneysel sonuçlarımız, cerebrolysinin beyin dokusunu favipiravirin neden olduğu oksidatif hasara karşı koruduğunu göstermektedir. Hem biyokimyasal hemde histopatolojik deney sonuçlarımız, cerebrolysin'in favipiravir ile indüklenmiş oksidatif beyin hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini işaret etmektedir. Favipiravir toksisitesine karşı cerebrolysinin beyin dokusundaki koruyucu etkilerinin mekanizmalarını açıklığa kavuşturmak için gelecekte daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Gelecekte favipiravirin beyin dokusunda oluşturduğu toksisitede cerebrolysin'in koruyucu etkisinin daha ayrıntılı değerlendirilebilmesi için beyin dokusu proinflamatuar ve inflamatuar sitokin düzeylerinin ve immunohistokimyasal incelemesinin yapılmasını öneriyoruz.

KAYNAKLAR

Abbott, N. J., Patabendige, A. A., Dolman, D. E., Yusof, S. R., and Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiology of Disease, 37*(1), 13-25.

Abdel-Salam, O., Mohammed, N., Youness, E., Khadrawy, Y., Omara, E., and Sleem, A. (2014). Cerebrolysin protects against rotenone-induced oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of Neurorestoratology, 2*, 47-63.

Abdel-Salam, O. M., Omara, E. A., Mohammed, N. A., Youness, E. R., Khadrawy, Y. A., and Sleem, A. A. (2013). Cerebrolysin attenuates cerebral and hepatic injury due to lipopolysaccharide in rats. *Drug Discoveries & Therapeutics, 7*(6), 261-271.

Abou Zaki, S. D. B., and Lokin, J. K. (2023). Efficacy and safety of CDP-choline, cerebrolysin, MLC601, and edaravone in recovery of patients with acute ischemic strokes: a meta-analysis. *Exploration of Neuroprotective Therapy, 3*(5), 398-408.

Agrawal, U., Raju, R., and Udwadia, Z. F. (2020). Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19. *Medical Journal Armed Forces India, 76*(4), 370-376.

Akagün, G. (2009). *Alabaş (Brassica oleracea var. Gongylodes) bitkisinin antioksidan aktivitesinin incelenmesi.* (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Edirne.

Akleylek, C. (2019). *Preterm ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin prechtl analizi ile değerlendirilmesi.* (Uzmanlık Tezi). Trakya Üniversitesi, Edirne.

Altıner, A., Atalay, H., ve Bilal, T. (2018). Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 7*(1), 51-55.

Altınsoy, C., ve Dikmen, D. (2023). Kan Beyin Bariyeri Modülasyonuna Yeni Bir Bakış Açısı: Beslenme ve Çevresel Faktörlerin Etkisi. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 8*(1), 183-192.

Alvarez, X. A., Lombardi, V. R., Fernandez-Novoa, L., Garcia, M., Sampedro, C., Cagiao, A., Cacabelos, R., and Windisch, M. (2000). Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. *Journal of Neural Transmission. Supplementa, 59*, 281-292.

Andres, C. M. C., Perez de la Lastra, J. M., Andres Juan, C., Plou, F. J., and Perez-Lebena, E. (2023). Superoxide Anion Chemistry-Its Role at the Core of the Innate Immunity. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(3).

Araç Keleş, M. (2008). *Farklı özür gruplarında basınç duyusu ve diğer gelişimsel faktörlerin kavrama gelişimi üzerindeki etkilerinin incelenmesi.* (Yüksek Lisans Tezi). Pamukkale Üniversitesi, Denizli.

Ardağ, A. (2008). *Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması.* (Yüksek Lisans Tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.

Ardanaz, C. G., Ramirez, M. J., and Solas, M. (2022). Brain Metabolic Alterations in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences, 23*(7).

Aslan, S. N., ve Karahalil, B. (2019). Oksidatif stres ve Parkinson Hastaliği. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University, 43*(1), 94-116.

Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yildiz, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş., ve Yilmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü - Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 26*(3), 362-369.

Atasoy, N. (2019). Melatonin ve Antioksidan Etkileri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9*(3), 196-201.

Atcali, T., Yakut, S., Çağlayan, C., Ulucan, A., and Kara, A. (2022). Effects of favipiravir on hematologic parameters and bone marrow in the rats. *Journal of Experimental and Clinical Medicine, 39*(1), 156-159.

Avci, S., Gunaydin, S., Ari, N. S., Karaca Sulukoglu, E., Polat, O. E., Gecili, I., Yeni, Y., Yilmaz, A., Genc, S., Hacimuftuoglu, A., Yildirim, S., Mokresh, M. Y., Findik, D. G., Tsatsakis, A., Margina, D., Tsarouhas, K., Wallace, D. R., and Taghizadehghalehjoughi, A. (2022). Cerebrolysin Alleviating Effect on Glutamate-Mediated Neuroinflammation Via Glutamate Transporters and Oxidative Stress. *Journal of Molecular Neuroscience, 72*(11), 2292-2302.

Ayyildiz, S. N. (2016). Analysis of Uric Acid Elevation. *Journal of Academic Research in Medicine, 6*(2), 74-77.

Balci, S., Colluoglu, C., Yavuzer, B., Bulut, S., Altindag, F., Akbas, N., and Suleyman, H. (2022). Effect of low and high dose of favipiravir on ovarian and reproductive function in female rats: Biochemical and histopathological evaluation. *General Physiology and Biophysics, 41*(5), 457-463.

Balusu, S., Brkic, M., Libert, C., and Vandenbroucke, R. E. (2016). The choroid plexus-cerebrospinal fluid interface in Alzheimer's disease: more than just a barrier. *Neural Regeneration Research, 11*(4), 534-537.

Baumann, N., and Pham-Dinh, D. (2001). Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiological Reviews, 81*(2), 871-927.

Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E., Mehta, A. K., Zingman, B. S., Kalil, A. C., Hohmann, E., Chu, H. Y., Luetkemeyer, A., Kline, S., Lopez de Castilla, D., Finberg, R. W., Dierberg, K., Tapson, V., Hsieh, L., Patterson, T. F., Paredes, R., Sweeney, D. A., Short, W. R., Touloumi, G., Lye, D. C., Ohmagari, N., Oh, M. D., Ruiz-Palacios, G. M., Benfield, T., Fatkenheuer, G., Kortepeter, M. G., Atmar, R. L., Creech, C. B., Lundgren, J., Babiker, A. G., Pett, S., Neaton, J. D., Burgess, T. H., Bonnett, T., Green, M., Makowski, M., Osinusi, A., Nayak, S., Lane, H. C., and Members, A.-S. G. (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *The New England Journal of Medicine, 383*(19), 1813-1826.

Berlett, B. S., and Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry, 272*(33), 20313-20316.

Bernardi, M., Angeli, P., Claria, J., Moreau, R., Gines, P., Jalan, R., Caraceni, P., Fernandez, J., Gerbes, A. L., O'Brien, A. J., Trebicka, J., Thevenot, T., and

Arroyo, V. (2020). Albumin in decompensated cirrhosis: new concepts and perspectives. *Gut, 69*(6), 1127-1138.

Biesenbach, G., Grafinger, P., Eichbauer-Sturm, G., and Zazgornik, J. (1997). [Cerebrolysin in treatment of painful diabetic neuropathy]. *Wiener Medizinische Wochenschrift, 147*(3), 63-66.

Bilici, S., Altuner, D., Suleyman, Z., Bulut, S., Sarigul, C., Gulaboglu, M., Altindag, F., Ozcicek, A., Gursul, C., and Suleyman, H. (2023). Favipiravir-induced inflammatory and hydropic degenerative liver injury in rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine, 32*(8), 881-887.

Bilir, A., Atay, E., Firat, F., and Kundakci, Y. E. (2022). Investigation of developmental toxicity of favipiravir on fetal bone and embryonic development. *Birth Defects Research, 114*(17), 1092-1100.

Bjorklund, G., Shanaida, M., Lysiuk, R., Antonyak, H., Klishch, I., Shanaida, V., and Peana, M. (2022). Selenium: An Antioxidant with a Critical Role in Anti-Aging. *Molecules, 27*(19).

Bogolepova, A. N. (2023). [Cerebrolysin in the treatment of cognitive impairment]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova, 123*(3), 20-25.

Borah, P., Deb, P. K., Chandrasekaran, B., Goyal, M., Bansal, M., Hussain, S., Shinu, P., Venugopala, K. N., Al-Shar'i, N. A., Deka, S., and Singh, V. (2021). Neurological Consequences of SARS-CoV-2 Infection and Concurrence of Treatment-Induced Neuropsychiatric Adverse Events in COVID-19 Patients: Navigating the Uncharted. *Frontiers in Molecular Biosciences, 8*, 627723.

Bouayed, J., and Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 3*(4), 228-237.

Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., Jr., and Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Medical Weekly, 142*, w13659.

Brigelius-Flohe, R. (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biological Chemistry, 387*(10-11), 1329-1335.

Brigelius-Flohe, R., and Flohe, L. (2020). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants & Redox Signaling, 33*(7), 498-516.

Brigelius-Flohe, R., and Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta, 1830*(5), 3289-3303.

Buyukuslu, N., and Yigitbasi, T. (2015). Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences, 5*(3), 197-203.

Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors, 6*(4), 391-397.

Cai, Q., Yang, M., Liu, D., Chen, J., Shu, D., Xia, J., Liao, X., Gu, Y., Cai, Q., Yang, Y., Shen, C., Li, X., Peng, L., Huang, D., Zhang, J., Zhang, S., Wang, F., Liu, J., Chen, L., Chen, S., Wang, Z., Zhang, Z., Cao, R., Zhong, W., Liu, Y., and Liu,

L. (2020). Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing), 6*(10), 1192-1198.

Caire, M. J., Reddy, V., and Varacallo, M. (2024). Physiology, Synapse. In *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30252303

Chandrawanshi, M. M. J., Malpani, M. S. G., Dharashive, M. V. M., Shafi, M. S. S., and Nemane, M. S. T. (2020). Different Strategies, Approaches and Recent Advances in Transcellular Brain Drug Delivery. *International Journal of Innovative Research in Technology, 7*(4), 95-103.

Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., and Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin--the antioxidant proteins. *Life Sciences, 75*(21), 2539-2549.

Chaves, R., Lamounier, J., and Santiago, L. (2020). Aleitamento materno e terapêutica para a doença coronavírus 2019 (COVID-19). *Residência Pediátrica, 10*(2), 137-142.

Chen, C., Zhang, Y., Huang, J., Yin, P., Cheng, Z., Wu, J., Chen, S., Zhang, Y., Chen, B., Lu, M., Luo, Y., Ju, L., Zhang, J., and Wang, X. (2020). Favipiravir versus arbidol for COVID-19: a randomized clinical trial. *MedRxiv*.

Chen, Y., Klein, S. L., Garibaldi, B. T., Li, H., Wu, C., Osevala, N. M., Li, T., Margolick, J. B., Pawelec, G., and Leng, S. X. (2021). Aging in COVID-19: Vulnerability, immunity and intervention. *Ageing Research Reviews, 65*, 101205.

Chinello, P., Petrosillo, N., Pittalis, S., Biava, G., Ippolito, G., Nicastri, E., and Team, I. E. (2017). QTc interval prolongation during favipiravir therapy in an Ebolavirus-infected patient. *PLOS Neglected Tropical Diseases, 11*(12), e0006034.

Chiu, M. N., Bhardwaj, M., and Sah, S. P. (2022). Safety profile of COVID-19 drugs in a real clinical setting. *European Journal of Clinical Pharmacology, 78*(5), 733-753.

Chopra, A. (2004). (4S)-4-(3-[(18)F]Fluoropropyl)-l-glutamate. In *Molecular Imaging and Contrast Agent Database (MICAD)*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US).

Clarkson, P. M., and Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *The American Journal of Clinical Nutrition, 72*(2 Suppl), 637S-646S.

Claustrat, B., and Leston, J. (2015). Melatonin: Physiological effects in humans. *Neurochirurgie, 61*(2-3), 77-84.

Couto, N., Wood, J., and Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine, 95*, 27-42.

Cucinotta, D., and Vanelli, M. (2020). WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomedica, 91*(1), 157-160.

Cui, S., Chen, N., Yang, M., Guo, J., Zhou, M., Zhu, C., and He, L. (2019). Cerebrolysin for vascular dementia. *The Cochrane Database of Systematic Reviews, 2019*(11).

Culotta, V. C., Yang, M., and O'Halloran, T. V. (2006). Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal. *Biochimica et Biophysica Acta, 1763*(7), 747-758.

Czarniak, N., Kaminska, J., Matowicka-Karna, J., and Koper-Lenkiewicz, O. M. (2023). Cerebrospinal Fluid-Basic Concepts Review. *Biomedicines, 11*(5).

Czerska, M., Mikolajewska, K., Zielinski, M., Gromadzinska, J., and Wasowicz, W. (2015). Today's oxidative stress markers. *Medycyna Pracy, 66*(3), 393-405.

Çalışkan, K. E., ve Yavaş, G. (2020). Kranial ve Servikal Genel Anatomisi ve Anatomik Landmarklar. *Türk Nöroşirürji Dergsi, 30*(1), 9-17.

Çavdar, C., Sifil, A., ve Çamsarı, T. (1997). Reaktif oksijen partikulleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi, 6*(3-4), 92-95.

Çelik, N. (2020). *Parakuat kullanılarak deneysel oksidatif stres oluşturulan a549 akciğer epitel hücreleri üzerine farklı dozlarda uygulanan kafeik asit fenetil esterin biyokimyasal etkisinin araştırılması.* (Doktora Tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar.

Daneman, R., and Prat, A. (2015). The blood-brain barrier. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 7*(1), a020412.

Davies, M. J. (2016). Protein oxidation and peroxidation. *Biochemical Journal, 473*(7), 805-825.

Demir, Y. (2019). Purification of Glutathione Reductase from Human Erythrocytes: Inhibition Profile of Some Anti-Epileptic Drugs. *Journal of the Institute of Science and Technology, 9*(4), 2140-2147.

Demiray, E. K. D., Durgun, M., ve Mızrakçı, S. (2022). SARS COV2 tedavisinde favipiravir yan etkilerinin araştırılması. *Troia Medical Journal, 3*(1), 15-18.

Demirci, H. (2020). Travmatik Beyin Hasarında Beyin Metabolizması. *Türk Nöroşirürji Dergisi, 30*(2), 173-177.

Deng, S., Gan, L., Liu, C., Xu, T., Zhou, S., Guo, Y., Zhang, Z., Yang, G. Y., Tian, H., and Tang, Y. (2023). Roles of Ependymal Cells in the Physiology and Pathology of the Central Nervous System. *Aging and Disease, 14*(2), 468-483.

Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., and Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India, 52*(794804), 794-804.

Di Meo, S., and Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020*, 9829176.

Dizdaroglu, M., and Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research, 46*(4), 382-419.

Dobbing, J., and Sands, J. (1973). Quantitative growth and development of human brain. *Archives of Disease in Childhood, 48*(10), 757-767.

Dogan, E., Alkan-Çeviker, S., Vurucu, S., Sener, A., Yüksel, B., Gönlügür, U., Simsek, T., and Hakan Ulusoy, M. (2021). Investigation of the Frequency of Adverse Effects in Patients Treated with Favipiravir as SARS-CoV-2 Treatment. *Klimik Journal, 34*(2), 95-98.

Dong, H. Y., Jiang, X. M., Niu, C. B., Du, L., Feng, J. Y., and Jia, F. Y. (2016). Cerebrolysin improves sciatic nerve dysfunction in a mouse model of diabetic peripheral neuropathy. *Neural Regeneration Research, 11*(1), 156-162.

Drose, S., and Brandt, U. (2012). Molecular mechanisms of superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Advances in Experimental Medicine and Biology, 748*, 145-169.

Duan, J., and Kasper, D. L. (2011). Oxidative depolymerization of polysaccharides by reactive oxygen/nitrogen species. *Glycobiology, 21*(4), 401-409.

Eleutherio, E. C. A., Silva Magalhaes, R. S., de Araujo Brasil, A., Monteiro Neto, J. R., and de Holanda Paranhos, L. (2021). SOD1, more than just an antioxidant. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 697*, 108701.

Elhessy, H. M., Habotta, O. A., Eldesoqui, M., Elsaed, W. M., Soliman, M. F. M., Sewilam, H. M., Elhassan, Y. H., and Lashine, N. H. (2023). Comparative neuroprotective effects of Cerebrolysin, dexamethasone, and ascorbic acid on sciatic nerve injury model: Behavioral and histopathological study. *Frontiers in Neuroanatomy, 17*, 1090738.

Elma, B., Suleyman, B., Mammadov, R., Yavuzer, B., Unver, E., Altuner, D., Coban, T., Mokhtare, B., and Suleyman, H. (2024). Pulmonary toxicity associated with high-dose favipiravir and treatment options: biochemical and histopathological evaluation. *Investigación Clínica, 65*(1), 83-98.

Engelhardt, B., and Sorokin, L. (2009). The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Seminars in Immunopathology, 31*(4), 497-511.

Epstein, H. T. (1973). Possible metabolic constraints on human brain weight at birth. *American Journal of Physical Anthropology, 39*(1), 135-136.

Erbas, E., Celep, N. A., Tekiner, D., Genc, A., and Gedikli, S. (2024). Assessment of toxicological effects of favipiravir (T-705) on the lung tissue of rats: An experimental study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 38*(1), e23536.

Ergün, S., Taşkurt Hekim, G. N., ve Güneş, S. (2022). Ferroptoz ve erkek infertilitesi. *Androloji Bülteni, 24*(1), 52-56.

Erhan, E., Bayram, R., Suleyman, B., Kurt, N., Suleyman, H., and Salcan, I. (2020). The Effect of Cerebrolysin on Cisplatin Induced Oxidative Acoustic Nerve Injury in Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 77*(4), 637-641.

Ertem, O., Guner, O., Incir, C., Kalkan, S., and Gelal, A. (2023). The outcomes of favipiravir exposure in pregnancy: a case series. *Archives of Gynecology and Obstetrics, 307*(5), 1385-1395.

Favipiravir. (2006). In *Drugs and Lactation Database (LactMed(R))*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32401463

Fiani, B., Covarrubias, C., Wong, A., Doan, T., Reardon, T., Nikolaidis, D., and Sarno, E. (2021). Cerebrolysin for stroke, neurodegeneration, and traumatic brain injury: review of the literature and outcomes. *Neurological Sciences, 42*(4), 1345-1353.

Filis, A. K., Aghayev, K., and Vrionis, F. D. (2017). Cerebrospinal Fluid and Hydrocephalus: Physiology, Diagnosis, and Treatment. *Cancer Control, 24*(1), 6-8.

Flynn, J. M., and Melov, S. (2013). SOD2 in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Free Radical Biology and Medicine, 62*, 4-12.

Forman, H. J., Zhang, H., and Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine, 30*(1-2), 1-12.

Frei, B., Kim, M. C., and Ames, B. N. (1990). Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 87*(12), 4879-4883.

Furuta, Y., Gowen, B. B., Takahashi, K., Shiraki, K., Smee, D. F., and Barnard, D. L. (2013). Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Research, 100*(2), 446-454.

Furuta, Y., Komeno, T., and Nakamura, T. (2017). Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences, 93*(7), 449-463.

Furuta, Y., Takahashi, K., Fukuda, Y., Kuno, M., Kamiyama, T., Kozaki, K., Nomura, N., Egawa, H., Minami, S., Watanabe, Y., Narita, H., and Shiraki, K. (2002). In vitro and in vivo activities of anti-influenza virus compound T-705. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46*(4), 977-981.

Gavrilova, S. I., and Alvarez, A. (2021). Cerebrolysin in the therapy of mild cognitive impairment and dementia due to Alzheimer's disease: 30 years of clinical use. *Medicinal Research Reviews, 41*(5), 2775-2803.

Geraghty, R. J., Aliota, M. T., and Bonnac, L. F. (2021). Broad-Spectrum Antiviral Strategies and Nucleoside Analogues. *Viruses, 13*(4), 667.

Ghasemiyeh, P., Borhani-Haghighi, A., Karimzadeh, I., Mohammadi-Samani, S., Vazin, A., Safari, A., and Qureshi, A. I. (2020). Major Neurologic Adverse Drug Reactions, Potential Drug-Drug Interactions and Pharmacokinetic Aspects of Drugs Used in COVID-19 Patients with Stroke: A Narrative Review. *Therapeutics and Clinical Risk Management, 16*, 595-605.

Ghasemnejad-Berenji, M., and Pashapour, S. (2021). Favipiravir and COVID-19: A Simplified Summary. *Drug research (Stuttgart), 71*(3), 166-170.

Ghavipanjeh, G., Taeb, S., Farzin, M. A., Farhood, B., Najafi, M., and Ardjmand, A. (2024). Radioprotective effect of Cerebrolysin in the Rat's Brain Tissues. *Current Drug Research Reviews*.

Ghersi-Egea, J. F., Strazielle, N., Catala, M., Silva-Vargas, V., Doetsch, F., and Engelhardt, B. (2018). Molecular anatomy and functions of the choroidal blood-cerebrospinal fluid barrier in health and disease. *Acta Neuropathologica, 135*(3), 337-361.

Girnun, G. D., Domann, F. E., Moore, S. A., and Robbins, M. E. (2002). Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor response element in the rat catalase promoter. *Molecular Endocrinology, 16*(12), 2793-2801.

Giurgea, C., and Salama, M. (1977). Nootropic drugs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology, 1*(3-4), 235-247.

Giurgea, N., Constantinescu, M. I., Stanciu, R., Suciu, S., and Muresan, A. (2005). Ceruloplasmin - acute-phase reactant or endogenous antioxidant? The case of cardiovascular disease. *Medical Science Monitor, 11*(2), RA48-51.

Gomez-Zepeda, D., Taghi, M., Scherrmann, J. M., Decleves, X., and Menet, M. C. (2019). ABC Transporters at the Blood-Brain Interfaces, Their Study Models, and Drug Delivery Implications in Gliomas. *Pharmaceutics, 12*(1).

Goyal, M. M., and Basak, A. (2010). Human catalase: looking for complete identity. *Protein & Cell, 1*(10), 888-897.

Gromova, O. A., Kalacheva, A. G., Grishina, T. R., Bogacheva, T. E., Demidov, V. I., and Torshin, I. Y. (2016). [Neurotrophic peptides of small es, Cyrillicerebrolysin as a basis for anticonvulsant effect of the drug]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova, 116*(3), 55-62.

Gromova, O. A., Pronin, A. V., Torshin, I. Y., Kalacheva, A. G., Filimonova, M. V., Demidov, V. I., Gogoleva, I. V., and Grishina, T. R. (2016). [Evaluation of the antitumor potential of cerebrolysin]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova, 116*(11), 69-77.

Gromova, O. A., Torshin, I. Y., Zgoda, V. G., and Tikhonova, O. V. (2019). [An analysis of the peptide composition of a 'light' peptide fraction of cerebrolysin]. *Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Imeni S.S. Korsakova, 119*(8), 75-83.

Gschanes, A., Valouskova, V., and Windisch, M. (1997). Ameliorative influence of a nootropic drug on motor activity of rats after bilateral carotid artery occlusion. *Journal of Neural Transmission, 104*(11-12), 1319-1327.

Guillamon-Vivancos, T., Gomez-Pinedo, U., and Matias-Guiu, J. (2015). Astrocytes in neurodegenerative diseases (I): function and molecular description. *Neurologia, 30*(2), 119-129.

Gul, A., Zengin, S., Dundar, G., and Ozturk, M. (2021). Do SARS-CoV-2 Infection (COVID-19) and the Medications Administered for Its Treatment Impair Testicular Functions? *Urologia Internationalis, 105*(11-12), 944-948.

Gunaydin-Akyildiz, A., Aksoy, N., Boran, T., Ilhan, E. N., and Ozhan, G. (2022). Favipiravir induces oxidative stress and genotoxicity in cardiac and skin cells. *Toxicology Letters, 371*, 9-16.

Gurol, G., and Aslan, A. (2013). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes. *Sakarya Medical Journal, 3*(1), 5-7.

Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., Pramodh, S., Alsulimani, A., Alkhanani, M. F., Harakeh, S., Hussain, A., Haque, S., and Reshi, M. S. (2022). Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. *Cells, 11*(3).

Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews, 52*(8 Pt 1), 253-265.

Halliwell, B., Clement, M. V., and Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters, 486*(1), 10-13.

Handy, D. E., and Loscalzo, J. (2022). The role of glutathione peroxidase-1 in health and disease. *Free Radical Biology and Medicine, 188*, 146-161.

Hardeland, R., Pandi-Perumal, S. R., and Cardinali, D. P. (2006). Melatonin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 38*(3), 313-316.

Hargreaves, I., Heaton, R. A., and Mantle, D. (2020). Disorders of Human Coenzyme Q10 Metabolism: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences, 21*(18).

Hartbauer, M., Hutter-Paier, B., Skofitsch, G., and Windisch, M. (2001). Antiapoptotic effects of the peptidergic drug cerebrolysin on primary cultures of embryonic chick cortical neurons. *Journal of Neural Transmission, 108*(4), 459-473.

Hase, R., Kurata, R., Ishida, K., Kurita, T., Muranaka, E., and Mito, H. (2020). Acute Gouty Arthritis During Favipiravir Treatment for Coronavirus Disease 2019. *Internal Medicine, 59*(18), 2327-2329.

Hashemian, S. M., Farhadi, T., and Velayati, A. A. (2021). A review on favipiravir: the properties, function, and usefulness to treat COVID-19. *Expert Review of Anti-infective Therapy, 19*(8), 1029-1037.

Hasmono, D., Alfa Frista, A., Ismawati, Ruddy, H., and Mohammad, S. (2022). Study of Effectiveness and Side Effects of Favipiravir Therapy on Mild and Moderate Covid-19 Patients. *Jurnal Kesehatan, 15*(2), 108-120.

Hayyan, M., Hashim, M. A., and AlNashef, I. M. (2016). Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications. *Chemical Reviews, 116*(5), 3029-3085.

Heming, M., Borsch, A. L., Wiendl, H., and Meyer Zu Horste, G. (2022). High-dimensional investigation of the cerebrospinal fluid to explore and monitor CNS immune responses. *Genome Medicine, 14*(1), 94.

Hernandez-Saavedra, D., Zhou, H., and McCord, J. M. (2005). Anti-inflammatory properties of a chimeric recombinant superoxide dismutase: SOD2/3. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 59*(4), 204-208.

Hira, F. (2020). *Cerebrolysinin sıçanlarda cisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarına etkisi.* (Yüksek Lisans Tezi). Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Erzincan.

Hung, D. T., Ghula, S., Aziz, J. M. A., Makram, A. M., Tawfik, G. M., Abozaid, A. A., Pancharatnam, R. A., Ibrahim, A. M., Shabouk, M. B., Turnage, M., Nakhare, S., Karmally, Z., Kouz, B., Le, T. N., Alhijazeen, S., Phuong, N. Q., Ads, A. M., Abdelaal, A. H., Nam, N. H., Iiyama, T., Kita, K., Hirayama, K., and Huy, N. T.

(2022). The efficacy and adverse effects of favipiravir on patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis of published clinical trials and observational studies. *International Journal of Infectious Diseases, 120*, 217-227.

Huttunen, K. M., Terasaki, T., Urtti, A., Montaser, A. B., and Uchida, Y. (2022). Pharmacoproteomics of Brain Barrier Transporters and Substrate Design for the Brain Targeted Drug Delivery. *Pharmaceutical Research, 39*(7), 1363-1392.

Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2019). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine, 54*(4), 287-293.

Iliesiu, A., Campeanu, A., and Dusceac, D. (2010). Serum uric acid and cardiovascular disease. *Maedica (Bucur), 5*(3), 186-192.

Islamoglu, M. S., Dokur, M., Borku Uysal, B., and Onal, B. (2022). Angioedema after favipiravir treatment: Two cases. *Journal of Cosmetic Dermatology, 21*(9), 3704-3706.

Jajic, I., Sarna, T., and Strzalka, K. (2015). Senescence, Stress, and Reactive Oxygen Species. *Plants (Basel), 4*(3), 393-411.

Jessen, K. R. (2004). Glial cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 36*(10), 1861-1867.

Jin, Z., Kinkade, A., Behera, I., Chaudhuri, S., Tucker, K., Dyatkina, N., Rajwanshi, V. K., Wang, G., Jekle, A., Smith, D. B., Beigelman, L., Symons, J. A., and Deval, J. (2017). Structure-activity relationship analysis of mitochondrial toxicity caused by antiviral ribonucleoside analogs. *Antiviral Research, 143*, 151-161.

Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., and Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology, 97*(10), 2499-2574.

Joshi, S., Parkar, J., Ansari, A., Vora, A., Talwar, D., Tiwaskar, M., Patil, S., and Barkate, H. (2021). Role of favipiravir in the treatment of COVID-19. *International Journal of Infectious Diseases, 102*, 501-508.

Juan, C. A., Perez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., and Perez-Lebena, E. (2021). The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(9), 4642.

Kadry, H., Noorani, B., and Cucullo, L. (2020). A blood-brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. *Fluids and Barriers of the CNS, 17*(1), 69.

Kang, M., Long, T., Chang, C., Meng, T., Ma, H., Li, Z., Li, P., and Chen, Y. (2022). A Review of the Ethical Use of Animals in Functional Experimental Research in China Based on the "Four R" Principles of Reduction, Replacement, Refinement, and Responsibility. *Medical Science Monitor, 28*, e938807.

Kaplowitz, N., Aw, T. Y., and Ookhtens, M. (1985). The regulation of hepatic glutathione. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 25*(1), 715-744.

Kaptein, S. J. F., Jacobs, S., Langendries, L., Seldeslachts, L., Ter Horst, S., Liesenborghs, L., Hens, B., Vergote, V., Heylen, E., Barthelemy, K., Maas, E., De Keyzer, C., Bervoets, L., Rymenants, J., Van Buyten, T., Zhang, X., Abdelnabi, R., Pang, J., Williams, R., Thibaut, H. J., Dallmeier, K., Boudewijns, R., Wouters, J., Augustijns, P., Verougstraete, N., Cawthorne, C., Breuer, J., Solas, C., Weynand, B., Annaert, P., Spriet, I., Vande Velde, G., Neyts, J., Rocha-Pereira, J., and Delang, L. (2020). Favipiravir at high doses has potent antiviral activity in SARS-CoV-2-infected hamsters, whereas hydroxychloroquine lacks activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 117*(43), 26955-26965.

Kara, A., Yakut, S., Caglayan, C., Atcali, T., Ulucan, A., and Kandemir, F. M. (2023). Evaluation of the toxicological effects of favipiravir (T-705) on liver and kidney in rats: biochemical and histopathological approach. *Drug and Chemical Toxicology, 46*(3), 546-556.

Kara, E., İnkaya, A. Ç., Demirkan, K., ve Ünal, S. (2021). COVID-19 Tedavisinde Favipiravir Kullanımı. *Flora, 26*(1), 1-11.

Karabayir, N., Ocal Dogan, O., and Canbeyli, G. (2021). Use of Favipiravir in Lactating Mother With COVID-19. *Turkish Archives of Pediatrics, 56*(5), 533-534.

Karabulut, H., ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4*(1), 50-59.

Karaca, S. N. (2023). Selenyum. *Turkiye Klinikleri Family Medicine-Special Topics, 14*(6), 37-48.

Kasapçopur Özel, G. S., and Birdane, Y. O. (2014). Antioxidants. *Kocatepe Veterinary Journal, 7*(2), 41-52.

Kaya, K., Sahin, Y., Demirel, H. H., and Ciftci, O. (2023). Investigation of oxidative, inflammatory and apoptotic effects of favipiravir use alone and combined with vitamin C on brain tissue of elderly rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-9.

Keçik, Y. (2008). Nörofizyoloji. *Turkiye Klinikleri Anesthesiology Reanimation-Special Topics, 1*(2), 1-7.

Kettenmann, H., Hanisch, U. K., Noda, M., and Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. *Physiological Reviews, 91*(2), 461-553.

Kielczykowska, M., Kocot, J., Pazdzior, M., and Musik, I. (2018). Selenium - a fascinating antioxidant of protective properties. *Advances in Clinical and Experimental Medicine, 27*(2), 245-255.

Kinnula, V. L., and Crapo, J. D. (2003). Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 167*(12), 1600-1619.

Konstantinova, I. D., V, L. A., Fateev, I. V., and Esipov, R. S. (2022). Favipiravir and Its Structural Analogs: Antiviral Activity and Synthesis Methods. *Acta Naturae, 14*(2), 16-38.

Konukoğlu, D. (2007). Serbest radikaller ve önemleri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi, 1*(4), 197-200.

Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., and Srivastava, A. K. (2015). Ürik Asidin Antioksidan ve Pro-Oksidan Özellikleri ile İlgili Kavram ve Tartışmalarının Derlemesi. *Arşiv kaynak tarama dergisi, 24*(1), 19.

Kurkin, D. V., Bakulin, D. A., Morkovin, E. I., Kalatanova, A. V., Makarenko, I. E., Dorotenko, A. R., Kovalev, N. S., Dubrovina, M. A., Verkholyak, D. V., Abrosimova, E. E., Smirnov, A. V., Shmidt, M. V., and Tyurenkov, I. N. (2021). Neuroprotective action of Cortexin, Cerebrolysin and Actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats. *PLoS One, 16*(7), e0254493.

Kwiecien, S., Jasnos, K., Magierowski, M., Sliwowski, Z., Pajdo, R., Brzozowski, B., Mach, T., Wojcik, D., and Brzozowski, T. (2014). Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress - induced gastric injury. *J Physiol Pharmacol, 65*(5), 613-622.

Lagocka, R., Dziedziejko, V., Klos, P., and Pawlik, A. (2021). Favipiravir in Therapy of Viral Infections. *Journal of Clinical Medicine, 10*(2), 273.

Lapenna, D. (2023). Glutathione and glutathione-dependent enzymes: From biochemistry to gerontology and successful aging. *Ageing Research Reviews, 92*, 102066.

Liu, G., Mestre, H., Sweeney, A. M., Sun, Q., Weikop, P., Du, T., and Nedergaard, M. (2020). Direct Measurement of Cerebrospinal Fluid Production in Mice. *Cell Reports, 33*(12), 108524.

Liu, R. M., and Gaston Pravia, K. A. (2010). Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. *Free Radical Biology and Medicine, 48*(1), 1-15.

Lovinger, D. M. (2008). Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Research & Health, 31*(3), 196-214.

Lu, S. C. (2009). Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine, 30*(1-2), 42-59.

Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta, 1830*(5), 3143-3153.

Lu, W., Zhu, Z., Shi, D., Li, X., Luo, J., and Liao, X. (2022). Cerebrolysin alleviates early brain injury after traumatic brain injury by inhibiting neuroinflammation and apoptosis via TLR signaling pathway. *Acta Cirúrgica Brasileira, 37*(6), e370605.

Lun, M. P., Monuki, E. S., and Lehtinen, M. K. (2015). Development and functions of the choroid plexus-cerebrospinal fluid system. *Nature Reviews Neuroscience, 16*(8), 445-457.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions, 224*, 164-175.

Lv, H., Zhen, C., Liu, J., Yang, P., Hu, L., and Shang, P. (2019). Unraveling the Potential Role of Glutathione in Multiple Forms of Cell Death in Cancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019*, 3150145.

MacAulay, N., Keep, R. F., and Zeuthen, T. (2022). Cerebrospinal fluid production by the choroid plexus: a century of barrier research revisited. *Fluids and Barriers of the CNS, 19*(1), 26.

Madelain, V., Nguyen, T. H., Olivo, A., de Lamballerie, X., Guedj, J., Taburet, A. M., and Mentre, F. (2016). Ebola Virus Infection: Review of the Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of Drugs Considered for Testing in Human Efficacy Trials. *Clinical Pharmacokinetics, 55*(8), 907-923.

Mahmoudi, J., Mohaddes, G., Erfani, M., Sadigh-Eteghad, S., Karimi, P., Rajabi, M., Reyhani-Rad, S., and Farajdokht, F. (2018). Cerebrolysin attenuates hyperalgesia, photophobia, and neuroinflammation in a nitroglycerin-induced migraine model in rats. *Brain Research Bulletin, 140*, 197-204.

Malina, R. M. (2004). Motor Development during Infancy and Early Childhood: Overview and Suggested Directions for Research. *International Journal of Sport and Health Science, 2*, 50-66.

Manolis, A. A., Manolis, T. A., Melita, H., Mikhailidis, D. P., and Manolis, A. S. (2022). Low serum albumin: A neglected predictor in patients with cardiovascular disease. *European Journal of Internal Medicine, 102*, 24-39.

Marinelli, S., Basilico, B., Marrone, M. C., and Ragozzino, D. (2019). Microglia-neuron crosstalk: Signaling mechanism and control of synaptic transmission. *Seminars in Cell & Developmental Biology, 94*, 138-151.

Marques, F., Sousa, J. C., Sousa, N., and Palha, J. A. (2013). Blood-brain-barriers in aging and in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration, 8*, 38.

Masliah, E., Armasolo, F., Veinbergs, I., Mallory, M., and Samuel, W. (1999). Cerebrolysin Ameliorates Performance Deficits, and Neuronal Damage in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior, 62*(2), 239-245.

Masliah, E., and Diez-Tejedor, E. (2012). The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. *Drugs Today (Barc), 48 Suppl A*(Suppl. A), 3-24.

Maslov, A. (2024). Stimulating nootropics. Modern ideas about nootropic drugs. Erisim Tarihi: 01.06.2024, Erişim adresi: https://zdorovieinfo-ru.ru/en/laryngitis/stimuliruyushchie-nootropy-sovremennye-predstavleniya-o-nootropnyh/

Me Abdel-Salam, O., A Sleem, A., A Khadrawy, Y., R Youness, E., and A Morsy, F. (2018). Cerebrolysin attenuates oxidative stress and neurodegeneration in acute malathion toxicity in the rat. *Global Drugs and Therapeutics, 3*(4), 1-6.

Mergenthaler, P., Lindauer, U., Dienel, G. A., and Meisel, A. (2013). Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends in Neurosciences, 36*(10), 587-597.

Mishima, E., Anzai, N., Miyazaki, M., and Abe, T. (2020). Uric Acid Elevation by Favipiravir, an Antiviral Drug. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 251*(2), 87-90.

Mohammadi, A., Hosseinzadeh Colagar, A., Khorshidian, A., and Amini, S. M. (2022). The Functional Roles of Curcumin on Astrocytes in Neurodegenerative Diseases. *Neuroimmunomodulation, 29*(1), 4-14.

Morales-Medina, J. C., Griffiths, N. H., Flores, G., Mastranzo, V. M., and Iannitti, T. (2017). Cerebrolysin reduces mechanical allodynia in a rodent model of peripheral inflammation. *Neuroscience Letters, 642*, 27-30.

Mori, M. P., Penjweini, R., Knutson, J. R., Wang, P. Y., and Hwang, P. M. (2022). Mitochondria and oxygen homeostasis. *The FEBS Journal, 289*(22), 6959-6968.

Muresanu, D. F., Livint Popa, L., Chira, D., Dabala, V., Hapca, E., Vlad, I., Vacaras, V., Popescu, B. O., Chereches, R., Strilciuc, S., and Brainin, M. (2022). Role and Impact of Cerebrolysin for Ischemic Stroke Care. *Journal of Clinical Medicine, 11*(5).

Mut-Salud, N., Alvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aranega, A., and Rodriguez-Serrano, F. (2016). Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016*, 6719534.

Nagata, T., Lefor, A. K., Hasegawa, M., and Ishii, M. (2015). Favipiravir: a new medication for the Ebola virus disease pandemic. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness, 9*(1), 79-81.

Nakai, K., and Tsuruta, D. (2021). What Are Reactive Oxygen Species, Free Radicals, and Oxidative Stress in Skin Diseases? *International Journal of Molecular Sciences, 22*(19).

Nakajima, Y., Inokuchi, Y., Nishi, M., Shimazawa, M., Otsubo, K., and Hara, H. (2008). Coenzyme Q10 protects retinal cells against oxidative stress in vitro and in vivo. *Brain Research, 1226*, 226-233.

Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., and Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019*, 9613090.

Nasa, P., Shrivastava, P., Kulkarni, A., Vijayan, L., and Singh, A. (2021). Favipiravir Induced Nephrotoxicity in Two Patients of COVID-19. *The Journal of the Association of Physicians of India, 69*(1), 90.

Naseri, A., Seyedi Sahebari, S., and Hosseini, M.-S. (2021). Pharmacotherapy of COVID-19: Considerations for Pregnancy and Breastfeeding. *Journal of Obstetrics, Gynecology and Cancer Research, 7*(1), 1-6.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., and Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry, 178*, 687-704.

Nishikawa, M., Hashida, M., and Takakura, Y. (2009). Catalase delivery for inhibiting ROS-mediated tissue injury and tumor metastasis. *Advanced Drug Delivery Reviews, 61*(4), 319-326.

Nithila, P., Raghavendrababu, N., Padmavathi, Y., Neena, G., Sushma, K., and Poojitha, A. (2022). New Ftir Method Development and Validation for Quantitative Analysis of Favipiravir in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of Current Pharmaceutical Research, 14*(5), 25-29.

Oestereich, L., Ludtke, A., Wurr, S., Rieger, T., Munoz-Fontela, C., and Gunther, S. (2014). Successful treatment of advanced Ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Research, 105*, 17-21.

Oğuz, E. F., ve Erel, Ö. (2023). İnsan Organizmasında, Reaktif Oksijen Türlerinin ve Serbest Radikallerin Oluşumu; Moleküler Çeşitliliği ve Biyokimyasal Özellikleri. *Turkiye Klinikleri Pulmonary Medicine-Special Topics, 16*(3), 1-8.

Ozcan, D., Ozcelik, F., Mammadov, R., Aktas, M., Altindag, F., Alkan, A. A., Karapapak, M., Altuner, D., and Suleyman, H. (2024). Biochemical and histopathological evaluation of systemic and ocular toxicity of favipiravir in rats. *Cutaneous and Ocular Toxicology, 43*(2), 105-112.

Ozen, B., Us, Z., Toplu, A., Vizdiklar, C., Selalmaz, Y., Culpan, Y., Asik, Z. T., Kaskal, M., Acikgoz, B. N., Gulcebi Idriz Oglu, M., Karaalp, A., Onat, F., Yananli, H. R., and Gulhan, R. (2024). Favipiravir does not appear to be a major teratogen: Case series from Turkiye. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction, 53*(1), 102693.

Ozkizilcik, A., Sharma, A., Feng, L., Muresanu, D. F., Tian, Z. R., Lafuente, J. V., Buzoianu, A. D., Nozari, A., Wiklund, L., and Sharma, H. S. (2023). Nanowired delivery of antibodies to tau and neuronal nitric oxide synthase together with cerebrolysin attenuates traumatic brain injury induced exacerbation of brain pathology in Parkinson's disease. *International Review of Neurobiology, 171*, 83-121.

Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., and Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6*(3), 331-336.

Özmen, İ. (2009). Glukoz 6-Fosfat dehidrogenaz üzerine bazı sitotoksik kimyasalların etkisi. *Süleyman Demirel University Faculty of Arts and Science Journal of Science, 4*(1), 112-119.

Öztürk Kesebir, A. (2021). Tiyazol Türevlerinin Glutatyon Redüktaz Üzerindeki İnhibitör Etkilerinin Belirlenmesi. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering, 21*(6), 1315-1323.

Pakkenberg, B., and Gundersen, H. J. (1997). Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age. *Journal of Comparative Neurology, 384*(2), 312-320.

Pardridge, W. M. (2019). Blood-Brain Barrier and Delivery of Protein and Gene Therapeutics to Brain. *Frontiers in Aging Neuroscience, 11*, 373.

Pei, J., Pan, X., Wei, G., and Hua, Y. (2023). Research progress of glutathione peroxidase family (GPX) in redoxidation. *Frontiers in Pharmacology, 14*, 1147414.

Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S.

T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., Pearl, E. J., Petersen, O. H., Rawle, F., Reynolds, P., Rooney, K., Sena, E. S., Silberberg, S. D., Steckler, T., and Wurbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLOS Biology, 18*(7), e3000410.

Perez-Torres, I., Soto, M. E., Guarner-Lans, V., Manzano-Pech, L., and Soria-Castro, E. (2022). The Possible Role of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in the SARS-CoV-2 Infection. *Cells, 11*(13), 1982.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., and Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry, 30*(1), 11-26.

Pilkington, V., Pepperrell, T., and Hill, A. (2020). A review of the safety of favipiravir - a potential treatment in the COVID-19 pandemic? *Journal of Virus Eradication, 6*(2), 45-51.

Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry, 97*, 55-74.

Plosker, G. L., and Gauthier, S. (2009). Cerebrolysin: a review of its use in dementia. *Drugs & Aging, 26*(11), 893-915.

Pmda. Evaluation and Licensing Division, P. a. F., and Safety Bureau Ministry of Health, L. a. W. (2014). Report on the Deliberation Results: Avigan Tablet 200 mg. Date Access: 1 February 2022. Retrieved from https://www.pmda.go.jp/files/000210319.pdf

Poljsak, B., Suput, D., and Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013*, 956792.

Pourmemar, E., Majdi, A., Haramshahi, M., Talebi, M., Karimi, P., and Sadigh-Eteghad, S. (2017). Intranasal Cerebrolysin Attenuates Learning and Memory Impairments in D-galactose-Induced Senescence in Mice. *Experimental Gerontology, 87*(Pt A), 16-22.

Preeti Kumaran, M., Dafin Fior, M., Aruna, S., Herbert, M., and Hari Shanker, S. (2012). Cerebrolysin, a Mixture of Neurotrophic Factors Induces Marked Neuroprotection in Spinal Cord Injury Following Intoxication of Engineered Nanoparticles from Metals. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets, 11*(1), 40-49.

Prescribing information. (2024). Erisim Tarihi: 01.06.2024, Erişim adresi: https://www.cerebrolysin.com/cerebrolysin/about-cerebrolysin#perscribing-information

Puzanowska-Tarasiewicz, H., Kuzmicka, L., and Tarasiewicz, M. (2009). [Biological function of some elements and their compounds. II. Selenium, selenate, selenium organic compounds]. *Polski Merkuriusz Lekarski, 27*(159), 249-252.

Qu, J., Kaufman, Y., and Washington, I. (2009). Coenzyme Q10 in the human retina. *Investigative Ophthalmology & Visual Science, 50*(4), 1814-1818.

Radi, R., Turrens, J. F., Chang, L. Y., Bush, K. M., Crapo, J. D., and Freeman, B. A. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *The Journal of Biological Chemistry, 266*(32), 22028-22034.

Raine, C. (2005). Diagnosis and management of otologic cerebrospinal fluid leak. *Otolaryngologic Clinics of North America, 38*(4), 583-595, vii.

Rejdak, K., Sienkiewicz-Jarosz, H., Bienkowski, P., and Alvarez, A. (2023). Modulation of neurotrophic factors in the treatment of dementia, stroke and TBI: Effects of Cerebrolysin. *Medicinal Research Reviews, 43*(5), 1668-1700.

Rochette, L., Dogon, G., Rigal, E., Zeller, M., Cottin, Y., and Vergely, C. (2022). Lipid Peroxidation and Iron Metabolism: Two Corner Stones in the Homeostasis Control of Ferroptosis. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(1).

Rong, J., Zhao, C., Xia, X., Li, G., Haider, A., Wei, H., Chen, J., Xiao, Z., Li, Y., Zhou, X., Xu, H., Collier, T. L., Wang, L., and Liang, S. H. (2023). Evaluation of [(18)F]Favipiravir in Rodents and Nonhuman Primates (NHP) with Positron Emission Tomography. *Pharmaceuticals (Basel), 16*(4), 524.

Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., and Dosio, F. (2021). Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules, 26*(7), 1844.

Saito, Y., Tanaka, A., Node, K., and Kobayashi, Y. (2021). Uric acid and cardiovascular disease: A clinical review. *Journal of Cardiology, 78*(1), 51-57.

Sakka, L., Coll, G., and Chazal, J. (2011). Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases, 128*(6), 309-316.

Schauer, E., Wronski, R., Patockova, J., Moessler, H., Doppler, E., Hutter-Paier, B., and Windisch, M. (2006). Neuroprotection of cerebrolysin in tissue culture models of brain ischemia: post lesion application indicates a wide therapeutic window. *Journal of Neural Transmission, 113*(7), 855-868.

Schmidt, R., Strahle, U., and Scholpp, S. (2013). Neurogenesis in zebrafish - from embryo to adult. *Neural Development, 8*, 3.

Schwab, M., Schaller, R., Bauer, R., and Zwiener, U. (1997). Morphofunctional effects of moderate forebrain ischemia combined with short-term hypoxia in rats--protective effects of Cerebrolysin. *Experimental and Toxicologic Pathology, 49*(1-2), 29-37.

Scibior, D., and Czeczot, H. (2006). [Catalase: structure, properties, functions]. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej (Online), 60*, 170-180.

Seydi, E., Rahemi, M., Esmaily, H., Arjmand, A., and Pourahmad, J. (2023). Mitochondrial transplantation attenuates toxicity in rat renal proximal tubular cells caused by Favipiravir. *J Pharm Pharmacol, 75*(11), 1458-1466.

Sharaf El Din, U. A. A., Salem, M. M., and Abdulazim, D. O. (2017). Uric acid in the pathogenesis of metabolic, renal, and cardiovascular diseases: A review. *Journal of Advanced Research, 8*(5), 537-548.

Sharma, H. S., Zimmermann-Meinzingen, S., and Johanson, C. E. (2010). Cerebrolysin reduces blood-cerebrospinal fluid barrier permeability change, brain pathology,

and functional deficits following traumatic brain injury in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1199*(1), 125-137.

Sheffler, Z. M., Reddy, V., and Pillarisetty, L. S. (2024). Physiology, Neurotransmitters. In *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30969716

Shenoy, S. S., and Lui, F. (2024). Neuroanatomy, Ventricular System. In *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30422527

Shiraki, K., and Daikoku, T. (2020). Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections. *Pharmacology & Therapeutics, 209*, 107512.

Sleeman, K., Mishin, V. P., Deyde, V. M., Furuta, Y., Klimov, A. I., and Gubareva, L. V. (2010). In vitro antiviral activity of favipiravir (T-705) against drug-resistant influenza and 2009 A(H1N1) viruses. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 54*(6), 2517-2524.

Slimen, I. B., Najar, T., Ghram, A., Dabbebi, H., Ben Mrad, M., and Abdrabbah, M. (2014). Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *International Journal of Hyperthermia, 30*(7), 513-523.

Smither, S. J., Eastaugh, L. S., Steward, J. A., Nelson, M., Lenk, R. P., and Lever, M. S. (2014). Post-exposure efficacy of oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model. *Antiviral Research, 104*, 153-155.

Snell, R. S. (2000). *Clinical anatomy for medical students*: Lippincott Williams & Wilkins.

Soh, M., Hifumi, T., Isokawa, S., Shimizu, M., Otani, N., and Ishimatsu, S. (2020). Neuroleptic malignant syndrome in patients with COVID-19. *The American Journal of Emergency Medicine, 38*(10), 2243 e2241-2243 e2243.

Solar, P., Zamani, A., Kubickova, L., Dubovy, P., and Joukal, M. (2020). Choroid plexus and the blood-cerebrospinal fluid barrier in disease. *Fluids and Barriers of the CNS, 17*(1), 35.

Solaymani-Dodaran, M., Ghanei, M., Bagheri, M., Qazvini, A., Vahedi, E., Hassan Saadat, S., Amin Setarehdan, S., Ansarifar, A., Biganeh, H., Mohazzab, A., Khalili, D., Hosein Ghazale, A., Reza Heidari, M., Taheri, A., Khoramdad, M., Mahdi Asadi, M., Nazemieh, M., Varshochi, M., Abbasian, S., Bakhtiari, A., Mosaed, R., Hosseini-Shokouh, S. J., Shahrokhi, M., Yassin, Z., Ali Zohal, M., Qaraati, M., Rastgoo, N., Sami, R., Javad Eslami, M., Asghari, A., Namazi, M., Ziaie, S., Jafari-Moghaddam, R., Kalantari, S., Memarian, M., Khodadadi, J., Hossein Afshari, M., Momen-Heravi, M., Behzadseresht, N., Reza Mobayen, A., Mozafari, A., Movasaghi, F., Haddadzadeh Shoushtari, M., and Moazen, J. (2021). Safety and efficacy of Favipiravir in moderate to severe SARS-CoV-2 pneumonia. *International Immunopharmacology, 95*, 107522.

Sood, S., Bhatia, G. K., Seth, P., Kumar, P., Kaur, J., Gupta, V., Punia, S., and Tuli, H. S. (2021). Efficacy and Safety of New and Emerging Drugs for COVID-19: Favipiravir and Dexamethasone. *Current Pharmacology Reports, 7*(2), 49-54.

Soto Conti, C. P. (2021). Bilirubin: The toxic mechanisms of an antioxidant molecule. *Archivos Argentinos de Pediatría, 119*(1), e18-e25.

Steiner, P. (2019). Brain Fuel Utilization in the Developing Brain. *Annals of Nutrition and Metabolism, 75 Suppl 1*, 8-18.

Stralin, P., Karlsson, K., Johansson, B. O., and Marklund, S. L. (1995). The interstitium of the human arterial wall contains very large amounts of extracellular superoxide dismutase. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 15*(11), 2032-2036.

Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., Jiang, F., and Peng, Z. Y. (2019). Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019*, 5080843.

Sugita, Y., Kondo, T., Kanazawa, A., Itou, T., and Mizuno, Y. (1993). [Protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil--detection of hydroxyl radicals with salicylic acid]. *No To Shinkei, 45*(4), 325-331.

Suleyman, H., and Ozcicek, A. (2019). Molecular Mechanism of Ischemia Reperfusion Injury. *Archives of Basic and Clinical Research, 2*(1), 25-27.

Takashita, E., Ejima, M., Ogawa, R., Fujisaki, S., Neumann, G., Furuta, Y., Kawaoka, Y., Tashiro, M., and Odagiri, T. (2016). Antiviral susceptibility of influenza viruses isolated from patients pre- and post-administration of favipiravir. *Antiviral Research, 132*, 170-177.

Teng, H., Li, C., Zhang, Y., Lu, M., Chopp, M., Zhang, Z. G., Melcher-Mourgas, M., and Fleckenstein, B. (2021). Therapeutic effect of Cerebrolysin on reducing impaired cerebral endothelial cell permeability. *Neuroreport, 32*(5), 359-366.

Terasaki, T. (2021). [Molecular Mechanism Underlying the Function and Disintegration of the Central Nerve System Barrier Unraveled by Proteo-typing of Membrane Proteins]. *Brain and Nerve, 73*(1), 59-78.

Thau, L., Reddy, V., and Singh, P. (2024). Anatomy, Central Nervous System. In *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31194336

Tirmikçioğlu, Z. (2021). Evaluation of Updated Therapeutic Options For COVID-19 in Pregnancy and Lactation. *Bezmialem Science, 9*(1), 78-83.

Tonge, C., Bektasoglu, P. K., Gulmez, A., Turkoglu, M. E., Arikok, A. T., Erguder, B. I., Gurer, B., and Kertmen, H. (2023). Cerebrolysin Amelioration of Spinal Cord Ischemia/ Reperfusion Injury in Rabbit Model. *Turkish Neurosurgery, 33*(6), 1017-1027.

Tsikas, D. (2024). Acetazolamide and human carbonic anhydrases: retrospect, review and discussion of an intimate relationship. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 39*(1), 2291336.

Uchida, Y., Goto, R., Usui, T., Tachikawa, M., and Terasaki, T. (2022). Blood-arachnoid barrier as a dynamic physiological and pharmacological interface between cerebrospinal fluid and blood. In *Drug Delivery to the Brain: Physiological Concepts, Methodologies and Approaches* (pp. 93-121): Springer.

Vaghef, L., Farajdokht, F., Erfani, M., Majdi, A., Sadigh-Eteghad, S., Karimi, P., Sandoghchian Shotorbani, S., Seyedi Vafaee, M., and Mahmoudi, J. (2019). Cerebrolysin attenuates ethanol-induced spatial memory impairments through

inhibition of hippocampal oxidative stress and apoptotic cell death in rats. *Alcohol, 79*, 127-135.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., and Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry, 266*(1-2), 37-56.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39*(1), 44-84.

Vitek, L., Hinds, T. D., Jr., Stec, D. E., and Tiribelli, C. (2023). The physiology of bilirubin: health and disease equilibrium. *Trends in Molecular Medicine, 29*(4), 315-328.

Wang, J. W., Chen, S. D., Zhang, X. L., and Jonas, J. B. (2016). Retinal Microglia in Glaucoma. *Journal of Glaucoma, 25*(5), 459-465.

Wang, Q., Wen, X., and Kong, J. (2020). Recent Progress on Uric Acid Detection: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry, 50*(4), 359-375.

Wang, Y., Branicky, R., Noe, A., and Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology, 217*(6), 1915-1928.

Wang, Y., and Chen, L. (2020). Tissue distributions of antiviral drugs affect their capabilities of reducing viral loads in COVID-19 treatment. *European Journal of Pharmacology, 889*, 173634.

Waring, W. S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Qjm, 95*(10), 691-693.

Weller, R. O., Sharp, M. M., Christodoulides, M., Carare, R. O., and Mollgard, K. (2018). The meninges as barriers and facilitators for the movement of fluid, cells and pathogens related to the rodent and human CNS. *Acta Neuropathologica, 135*(3), 363-385.

Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., and Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of Nutrition, 134*(3), 489-492.

Wu, Y. H., Tseng, C. P., Cheng, M. L., Ho, H. Y., Shih, S. R., and Chiu, D. T. (2008). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency enhances human coronavirus 229E infection. *The Journal of Infectious Diseases, 197*(6), 812-816.

Yang, Y., Zhang, Y., Wang, Z., Wang, S., Gao, M., Xu, R., Liang, C., and Zhang, H. (2016). Attenuation of Acute Phase Injury in Rat Intracranial Hemorrhage by Cerebrolysin that Inhibits Brain Edema and Inflammatory Response. *Neurochemical Research, 41*(4), 748-757.

Yazici, G. N., Sunar, M., Suleyman, B., Abdulkadir Coban, T., Kemal Arslan, Y., and Suleyman, H. (2022). Effect of pycnogenol on ethanol-related oxidative retinal injury: an experimental study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 26*(14), 5225-5232.

Zaric, B. L., Macvanin, M. T., and Isenovic, E. R. (2023). Free radicals: Relationship to Human Diseases and Potential Therapeutic applications. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 154*, 106346.

Zelko, I. N., Mariani, T. J., and Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine, 33*(3), 337-349.

Zhang, B., Pan, C., Feng, C., Yan, C., Yu, Y., Chen, Z., Guo, C., and Wang, X. (2022). Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. *Redox Report, 27*(1), 45-52.

Zhang, C., Chopp, M., Cui, Y., Wang, L., Zhang, R., Zhang, L., Lu, M., Szalad, A., Doppler, E., Hitzl, M., and Zhang, Z. G. (2010). Cerebrolysin enhances neurogenesis in the ischemic brain and improves functional outcome after stroke. *Journal of Neuroscience Research, 88*(15), 3275-3281.

Zhao, H., Zhang, R., Yan, X., and Fan, K. (2021). Superoxide dismutase nanozymes: an emerging star for anti-oxidation. *Journal of Materials Chemistry B, 9*(35), 6939-6957.

Zhao, Z., Nelson, A. R., Betsholtz, C., and Zlokovic, B. V. (2015). Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell, 163*(5), 1064-1078.

Ziganshina, L. E., Abakumova, T., Nurkhametova, D., and Ivanchenko, K. (2023). Cerebrolysin for acute ischaemic stroke. *The Cochrane Database of Systematic Reviews, 10*(10), CD007026.

Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 03.11.2022-212779

T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-85748827-050.01.04-212779 03.11.2022
Konu : Etik Kurul Kararı (Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN)

Sayın Prof.Dr. Halis SÜLEYMAN

Oturum Tarihi	Oturum Saati	Oturum Sayısı
27.10.2022	15:00	2022/10

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu yukarıda belirtilen tarih ve saatte Kurul Başkanı Prof. Dr. Durdu ALTUNER başkanlığında, kurul üyelerinin katılımıyla toplanarak gündem konuları görüşülmüş ve aşağıdaki karar alınmıştır.

Bilgilerini ve gereğini rica ederim.

Karar 48 Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anadilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN'ın ***"Cerebrolysinin Sıçanlarda Favipiravir İle İndüklenen Beyin Hasarına Etkisi: Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme"*** başlıklı çalışması ile ilgili 26.09.2022 tarihli başvurusu ve ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi gereği etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine oy birliğiyle karar verildi.

Prof.Dr. Durdu ALTUNER
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BS54PS7BRC Belge Takip Adresi : https://ebys.ebyu.edu.tr/enVision/Validate_Doc.aspx
Adres:Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü Fatih Mahallesi, 24100, Erzincan
Telefon:444 8 024 – (0446) 226 66 66 Faks:(0446) 226 66 65
e-Posta:rektorluk@erzincan.edu.tr Web:https://ebyu.edu.tr/tr/
Kep Adresi:erzincanunv@hs02.kep.tr
Bilgi için: Şehriban AKKUŞ
Unvanı: Birim Evrak Sorumlusu
Tel No: (0446) 226 6666 - 10058

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Ek-2. Bilimsel Araştırma Projeleri Onay Formu

TC

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ

(Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi)

Konu:Yürürlüğe Giren Proje Öneriniz

Tarih
15.09.2023

Sayın : Prof.Dr. HALİS SÜLEYMAN

Aşağıda bilgileri özetlenen proje onerinize yönelik değerlendirme süreci tamamlanmış ve BAP Komisyonu tarafından desteklenmesi uygun görülen projeniz, proje sözleşmesinin Rektörlük Makamı tarafından onaylanmasıyla yürürlüğe girmiş bulunmaktadır.

Tebrik eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.

Saygılarımla,

Prof.Dr. VEDAT KARADENİZ
Koordinatör

Proje Başlığı: Cerebrolysinin sıçanlarda Favipiravir ile indüklenen beyin hasarına etkisi: Biyokimyasal ve Histopatolojik değerlendirme

Proje No: TDK-2023-926

Proje Türü: Doktora

Süresi: 12 ay

Başlama Tarihi: 15.09.2023

Onaylanan Bütçesi: 24992 TL

Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. HALİS SÜLEYMAN

Araştırmacı(lar): ÖĞRENCI BÜLENT YAVUZER

ÖZGEÇMİŞ

Bülent Yavuzer [redacted] tarihinde [redacted] doğdu. İlkokul eğitimini Erzincan Halitpaşa İlkokulunda, ortaokul eğitimini Erzincan Anadolu Lisesinde, lise eğitimini ise İstanbul Kadıköy Anadolu Lisesinde tamamladı. Tıp eğitimine 1993 ile 1999 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesinde devam ederek 27.07.1999 tarihinde mezun oldu. 2000 yılında Erzincan Merkez Çatalarmut Sağlık Ocağında pratisyen hekim olarak meslek hayatına başladı. 2001 yılında Erzincan 112 Komuta Kontrol Merkezinde pratisyen hekim olarak, 2002-2003 yıllarında Erzincan 112 Komuta Kontrol Merkezinde Başhekim olarak olarak görev yaptı. 2003-2004 yıllarında vatani görevini Samsun'da asteğmen ve Elazığ'da teğmen olarak tamamladı. 2004 yılında Erzincan İl Sağlık Müdürlüğünde 112 Acil Hizmetler Şube Müdürü olarak, 2004-2005 yıllarında Erzincan Merkez 4 Nolu Sağlık Ocağında, 2005-2006 yıllarında Erzincan SSK Hastanesi Acil kliniğinde, 2006-2010 yıllarında Erzincan Devlet Hastanesi Acil Kliniğinde pratisyen hekim olarak, 2010-2015 yıllarında Erzincan Merkez İzzetpaşa Aile Sağlığı Merkezinde Aile Hekimi olarak görev yaptı. 2015 yılından itibaren Erzincan [redacted] Aile Hekimi olarak görevine devam etmektedir. 2020 yılında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başlamıştır. Doktora eğitimi süresince çok sayıda bilimsel çalışma yürütmüştür. Uluslararası SCI-E indeksli dergilerde yayınlanmış 25 makalesi bulunan Bülent Yavuzer iyi düzeyde İngilizce biliyor. Evli ve iki erkek, iki kız çocuğu babasıdır.