



T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

FAVİPİRAVİRİN SIÇANLARDA DOZ İLİŞKİLİ MESANE
TOKSİSİTESİ. BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK
BULGULAR

Ömer Faruk DEMİR

Danışman: Prof. Dr. Bahadır SÜLEYMAN

TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Temmuz 2025
Her Hakkı Saklıdır.

**T.C.
ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**FAVİPİRAVİRİN SIÇANLARDA DOZ İLİŞKİLİ MESANE
TOKSİSİTESİ. BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK
BULGULAR**

Ömer Faruk DEMİR

Danışman: Prof. Dr. Bahadır SÜLEYMAN

**TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN
Temmuz 2025
Her Hakkı Saklıdır.**

Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Favipiravirin Sıçanlarda Doz İlişkili Mesane Toksisitesi. 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 olarak elde edildiğini, bu çalışmanın özünde olmayan materyal ve bulguları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi beyan ederim. 02/07/2025

Ömer Faruk DEMİR

ÖZET

Doktora Tezi

FAVİPİRAVİRİN SIÇANLARDA DOZ İLİŞKİLİ MESANE TOKSİSİTESİ. BİYOKİMYASAL VE HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Ömer Faruk DEMİR

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bahadır SÜLEYMAN

Amaç: Favipiravirin sıçanlarda doza bağımlı mesane toksisitesine etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Deney hayvanları sağlıklı (SG), 100 mg/kg favipiravir (FAV-100), 200 mg/kg favipiravir (FAV-200), 400 mg/kg favipiravir (FAV-400) olarak dört gruba ayrıldı. Hayvan gruplarına sırası ile favipiravir 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarda oral yoldan gavaj ile mideye verildi. SG grubuna ise sadece distile su oral gavaj ile (1 ml) uygulandı. Bu prosedür günde iki kez bir hafta boyunca tekrarlandı.

Bulgular: Biyokimyasal deney sonuçlarımız, Favipiravirin sıçan mesane dokusunda doza bağımlı bir şekilde Malondialdehit (MDA) ve Total Oksidan Status (TOS) gibi endojen oksidan parametrelerin artmasına, Total Glutasyon (tGSH), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Total Antioksidan Status (TAS), Katalaz (CAT) gibi antioksidanların azalmasına yol açtığı izlenmiştir. Histopatolojik olarak değerlendirildiğinde FAV 400 grubunda inflamasyon şiddeti diğer gruplara kıyasla en yüksek düzeydeyken, doz arttıkça inflamasyon şiddetinin arttığı izlenmiştir.

Sonuç: Favipiravirin dozu arttıkça, sıçanların mesane dokularındaki oksidan düzeylerin arttığı, antioksidan düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, favipiravirin sıçanlarda doza bağımlı olarak mesane toksisitesine neden olduğu görülmüştür.

2025, 85 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Favipiravir, Mesane Toksisitesi, Oksidan

ABSTRACT

Phd Thesis

DOSE DEPENDENT BLADDER TOXICITY EFFECTS OF FAVIPIRAVIR IN RATS. BIOCHEMICAL AND HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION

Ömer Faruk DEMİR

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

Supervisor: Prof. Dr. Bahadır SÜLEYMAN

Aim: This study is to investigate the effect of favipiravir on dose-dependent bladder toxicity in rats biochemically and histopathologically.

Materials and Methods: Experimental animals were divided into four groups as healthy (HG), 100 mg/kg favipiravir (FAV-100), 200 mg/kg favipiravir (FAV-200), and 400 mg/kg favipiravir (FAV-400). Favipiravir was administered orally by gavage to the animal groups at doses of 100, 200 and 400 mg/kg, respectively. In the SG group, it was administered by gavage only distilled water (1 ml). This procedure was repeated twice daily for a week.

Results: Our biochemical results showed that Favipiravir dose-dependently increased endogenous oxidant parameters such as Malondialdehyde (MDA) and Total Oxidant Status (TOS), Total glutathione (tGSH), Superoxide Dismutase (SOD) and Total Antioxidant Status (TAS) , Catalase (CAT) demonstrated that antioxidants decreased in rat bladder tissue. When evaluated histopathologically, the severity of inflammation was at the highest level in the FAV 400 group compared to the other groups, while the severity of inflammation increased as the dose increased.

Conclusion: As the dose of favipiravir increased, the oxidant levels increased and the antioxidant level decreased in the bladder tissues of the rats. In line with these results, it was observed that favipiravir caused a dose-dependent bladder toxicity effect in rats.

2025, 85 Pages

Keywords: Antioxidant, Bladder Toxicity, Favipiravir, Oxidant

TEŞEKKÜR

Bütün doktora eğitimim boyunca ve tez çalışmam sürecinde bilgi ve deneyimlerini her zaman benimle paylaşan, bana yol gösteren çok kıymetli danışmanım Prof. Dr. Bahadır SÜLEYMAN'a;

Doktora eğitim sürecim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN, Prof. Dr. Durdu ALTUNER, Prof. Dr. Taha Abdulkadir ÇOBAN, Doç. Dr. Renad MAMMADOV, Doç. Dr. Aslı Özbek BİLGİN'e;

Doktora eğitimim boyunca tecrübelerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Zeynep SÜLEYMAN, Dr. Öğr. Üyesi Seval BULUT, Doç. Dr. Reşit ÇOŞKUN, Dr. Öğr. Üyesi Bülent YAVUZER, Dr. Osman Kağan ÇAKIR'a;

Hayatımın her anında maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Ömer Faruk DEMİR

Temmuz, 2025

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Tez Kabul ve Onay.....	i
Bilimsel Etiğe Uygunluk.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Favipiravir	3
2.1.1. Yapısı ve Etki Mekanizması.....	3
2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri.....	4
2.1.3. Favipiravirin Antiviral Etkileri.....	5
2.1.4. Favipiravirin Yan Etkileri.....	6
2.1.5. Favipiravir İlaç Etkileşimleri.....	7
2.1.6. Favipiravirin Mesane ve Ürogenital Sistem Üzerindeki Etkisi	7
2.2. Mesane	8
2.2.1. Mesanenin Embriyolojisi.....	9
2.2.2. Mesanenin Anatomisi	10
2.2.3. Mesanenin Histolojisi.....	11
2.3. Serbest Radikaller	12
2.3.1. Serbest Radikal Kaynakları	13
2.3.1.1.Endojen Kaynaklar	13
2.3.1.2. Ekzojen Kaynaklar	14
2.3.2.Reaktif Oksijen Türleri.....	15
2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri.....	19
2.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Biyolojik Etkileri	21
2.4.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Etki Mekanizmaları.....	21

2.5. Oksidatif Stres	23
2.5.1. Mesane ve Oksidatif Stres	24
2.6. Antioksidanlar	24
2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar	25
2.6.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD)	26
2.6.2. Non Enzimatik Antioksidanlar	27
2.7. Oksidanlar	30
2.7.1. Malondialdehit (MDA)	30
2.7.2 Myeloperoksidaz (MPO)	31
3.MATERYAL VE METOD.....	32
3.1. Deney Hayvanları.....	32
3.2. Etik İlkeler ve Onay	32
3.3. Kullanılan İlaçlar.....	32
3.4. Deney Grupları.....	33
3.5. Deney Prosedürü	33
3.6. Kullanılan Alet ve Kimyasal Maddeler.....	33
3.7. Mesane Dokusunun Biyokimyasal Analizi.....	35
3.8. Numunelerin Hazırlanması	35
3.9. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini.....	36
3.9.1. Malondialdehit Tayini (MDA)	36
3.9.2. Total Glutasyon Tayini (tGSH)	36
3.9.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Tayini (SOD).....	36
3.9.4. Katalaz Aktivitesinin Tayini (CAT)	37
3.9.5. Total Oksidan Status Tayini (TOS).....	37
3.9.6. Total Antioksidan Status Tayini (TAS).....	37
3.10. Histopatolojik Analizler	38
3.11. İstatistiksel Analizler.....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	40
4.1.1. MDA Analiz Sonuçları.....	40
4.1.2. tGSH Analiz Sonuçları	41
4.1.3. SOD Analiz Sonuçları	43
4.1.4. CAT Analiz Sonuçları	44
4.1.5. TOS Analiz Sonuçları.....	45

4.1.6. TAS Analiz Sonuçları.....	45
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	47
5.TARTIŞMA.....	54
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR.....	61
EKLER.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	73



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Favipiravir (T-705) Kimyasal Yapısı	4
Şekil 2.2. Mesane Fonksiyonunun Nöroanatomik Temelleri	9
Şekil 2.3. Mesane Anatomisi (Netter Anatomi Atlası).....	11
Şekil 2.4. Mesane Dokusunun Histolojisi (Renkli Histoloji Atlası, Sayfa: 35)	12
Şekil 4. 1. Sıçanların Mesane Dokularındaki MDA Seviyesi	40
Şekil 4. 2. Sıçanların Mesane Dokularındaki tGSH Seviyesi.....	41
Şekil 4. 3. Sıçanların Mesane Dokularındaki SOD Aktivitesi	43
Şekil 4. 4. Sıçanların Mesane Dokularındaki CAT Aktivitesi	44
Şekil 4. 5. Sıçanların Mesane Dokularındaki TOS Seviyesi.....	45
Şekil 4. 6. Sıçanların Mesane Dokularındaki TAS Seviyesi	46
Şekil 4.7. Sağlıklı Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu.....	49
Şekil 4.8. FAV-400 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu ...	50
Şekil 4.9.FAV-400 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu	51
Şekil 4.10. FAV-200 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile boyanmış Mesane Dokusu..	52
Şekil 4.11. FAV-100 Gruba ait Hematoksilen-Eozin ile boyanmış Mesane Dokusu	53

TABLÖLER LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Oksijenin İndirgenmesi.....	14
Tablo 2.2. Serbest Radikal Ekzojen Kaynakları	15
Tablo 2.3. Reaktif Oksijen Türleri	16
Tablo 2.4. Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları	17
Tablo 2.5. Reaktif Nitrojen Türleri ve Özellikleri	20
Tablo 3.4.1. Kullanılan Cihazlar ve Firma Listesi	33
Tablo 3.4.2. Kullanılan Kimyasalların Listesi	34
Tablo 4.1. Biyokimyasal parametrelerin Analizi	42
Tablo 4.2. Sıçan Mesane Dokularından Elde Edilen Histopatolojik Verilerin Değerlendirilmesi.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	Yüzde
X	Ortalama
SD	Standart Sapma
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

4-HNE	4-Hidroksinonenal
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
Cmax	Maksimum Plazma Konsantrasyonu
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETZ	Elektron Taşıma Sistemi
EVD	Ebola Virüs Hastalığı
FAV-100	Favipiravir-100 mg/kg
FAV-200	Favipiravir-200 mg/kg
FAV-400	Favipiravir-400 mg/kg
GSH	Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş Glutasyon
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MDA	Malondialdehit
O ₂ ^{·-}	Süperoksit Anyonu
RNA	Ribonükleik Asit
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri

ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
T1/2	Yarı Ömür
TAS	Total Antioksidan Status
TOS	Total Oksidan Status
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
XO	Ksantin Oksidaz



1. GİRİŞ

Favipiravir, standart antiviral tedavilere yanıt vermeyen influenza tedavisi için 2014 yılında Japonya'da onaylandı (Łagocka ve ark., 2021). Toyama Chemical Co. Ltd. tarafından influenza virüsüne karşı geliştirilen favipiravir, nöraminidaz ve M2 inhibitörlerine dirençli olan Influenza A ve Influenza B virüsü suşlarına karşı güçlü antiviral aktivite göstermiştir (Furuta ve ark., 2017). Favipiravir, virionun M2 iyon kanalını inhibe eden antiviraller (amantadin ve rimantadin) veya viral nöraminidaz (oseltamivir, zanamivir, peramivir ve laninamivir) gibi mevcut antivirallerden farklı olarak öncelikle virüsün hücrelere giriş ve çıkışını önler (Furuta ve ark., 2005). Favipiravir, kimyasal yapısından beklendiği gibi bir pürin analogu olarak, işlev görerek guanozin ve adenozin'in yerini alır (Furuta ve ark., 2013). Favipiravir, yeni oluşan viral RNA sürecine, hatalı bir viral RNA bağımlı RNA polimeraz oluşumuna neden olarak dahil olur (Drugs and Lactation Database, 2023). Favipiravir, temel olarak antiviral etkisini, RNA bağımlı RNA polimeraz'a bağlanıp, bu enzimi inhibe ederek viral genomun transkripsiyon ve replikasyonunu engelleyerek gösterir (Furuta ve ark., 2005). RNA bağımlı RNA polimeraz alanları insan hücrelerinde mevcut olmadığından ve RNA virüsleri arasında korunduğundan, RNA viral polimerazlarını hedef alan bu farklı spesifik mekanizma, favipiravir'i çekici bir ilaç adayı haline getirmektedir (Furuta ve ark. 2013). Pürin nükleik asit analogu olan favipiravir, ABD'de yeni koronavirüs hastalığı olan COVID-19'a karşı test edilmiştir (Du ve Chen, 2020; Beigel ve ark., 2020). Favipiravir ayrıca Ebola virüsü hastalığı (EVD) ve şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2 (SARS-CoV-2) enfeksiyonunun tedavisinde de kullanılmıştır (Furuta ve ark., 2013). Favipiravir, 200 mg içeren film kaplı tabletler halinde üretilmiştir (Łagocka ve ark. 2021). Japonya'da influenza için onaylanmış favipiravir tedavisi beş gün olup, ilk gün yükleme doz olarak günde iki kez 1600 mg'dır (Furuta ve ark., 2017). Takip eden dört gün boyunca idame doz olarak günde iki kez 600 mg favipiravir uygulanmıştır (Łagocka ve ark., 2021). Ebola virüsünde etkin favipiravir dozu, ilk gün 6000 mg, 2-10. günlerde 2400 mg olarak belirlenmiştir (Du ve Chen, 2020); bu nedenle, COVID-19 enfeksiyonunda da yüksek dozlarda kullanımı tavsiye

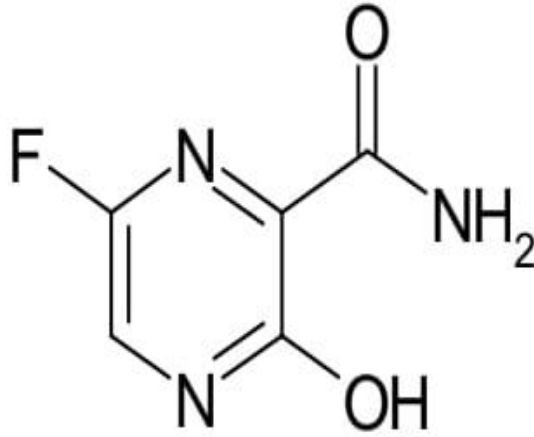
edilmektedir (Beigel ve ark., 2020). Klinikte favipiravir, COVID-19 tedavisi için her 12 saatte bir 1600–1800 mg bir yükleme dozu kullanılmış ve bunu her 12 saatte bir 600–800 mg idame dozu izlemiştir (Rattanaumpawan ve ark., 2022). Ancak, favipiravirin yüksek dozlarda kullanımı toksik etkilere yol açmaktadır (Chiu ve ark., 2022). Deliryum, halüsinasyon, konvülsiyon, serum ürik asit ve transaminaz düzeylerinde artış, beyaz küre ve nötrofil düzeyinde azalma, bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal, ciltte kızarıklık, kaşıntı ve nefrotoksisite, favipiravir ilişkili toksik etkilerdir (Chen ve ark., 2020; Doğan ve ark., 2021). Yüksek dozlarda favipiravirin kardiyak yan etki olarak QTc mesafesini uzattığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Chinello ve ark., 2017; Naksuk ve ark., 2020). Bilici S. ve arkadaşları, favipiravire bağlı oksidatif ve inflamatuvar karaciğer hasarının doz artışı ile şiddetlendiğini göstermişlerdir (Bilici S. ve ark., 2023). Ayrıca, favipiravirin teratojenik olduğu ve gebelikte kullanımının kontrendike olduğu saptanmıştır (Hayden ve Shindo, 2019). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, favipiravir kullanımına bağlı toksisitenin oksidatif strese ileri geldiğini göstermektedir (Balci ve ark., 2022; Gunaydin-Akyildiz ve ark., 2022). Kara ve arkadaşları, favipiravir ilişkili oksidatif stresin organ dokusunda malondialdehid (MDA) düzeyinin artmasından, glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi endojen antioksidan düzeylerinin azalmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (Kara ve ark., 2022). Literatürden edinilen bilgiler, favipiravir ilişkili organ ve doku hasarının patogenezinde oksidatif stresin major faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir. Literatürde ayrıca, favipiravirin mesane dokusuna etkisini araştıran bilgilere rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı; artan dozlarda favipiravir uygulanan sıçanların mesane dokusunda olası oksidatif hasar şiddetinin ilaç dozu ile ilişkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Favipiravir

2.1.1. Yapısı ve Etki Mekanizması

Favipiravir (T-705; 6-floro-3-hidroksipirazin-2-karboksamid) pürin analogu bir antiviral ajan olarak Toyama Chemical Co. Ltd. tarafından 2014 yılında geliştirilmiştir (Furuta ve ark., 2005). Favipiravir (T-705), T-1105 ve T-1106 analogları gibi bir pirazin karboksamid türevidir; moleküler formülü ve özellikleri Şekil 2.1’ de verilmiştir (Report on the Deliberation Results, 2020). Favipiravir, öncelikle virionun M2 iyon kanalını inhibe eden antiviraller (amantadin ve rimantadin) veya viral nöraminidaz (oseltamivir, zanamivir, peramivir ve laninamivir) gibi mevcut antivirallerden farklı olarak, öncelikle virüsün hücrelere giriş ve çıkışını önler (Furuta ve ark., 2005). T-705, ön ilaç olarak hücre içerisine alınır. Hücre içerisine alındıktan sonra ribozillenip fosforile edilerek aktif metaboliti T705-RTP’ ye dönüşür. T 705- RTP, RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) için substrat görevi alır (Furuta ve ark., 2017). T 705-RTP, doğrudan RdRp enzimi ile etkileşime girerek bu enzimi inhibe eder. RdRp enziminin inhibe edilmesi virüsün replikasyon ve transkripsiyon sürecini engeller (Furuta ve ark., 2013). Ayrıca Favipiravir, guanozin ve adenozin’in yerini alarak yeni oluşan viral RNA’ya yanlış bazların dahil edilmesine neden olur. Bu durum, yeni oluşan viral RNA sürecinde hatalı RdRp enzimi oluşmasına, çeşitli mutasyonların gelişmesine neden olarak virüs için ölümcül etkilere yol açar (Furuta ve ark., 2017).



Şekil 2.1. Favipiravir (T-705) Kimyasal Yapısı

Moleküler formül: C₅H₄FN₃O₂

Moleküler ağırlık: 157,10 g/mol

Kimyasal adı: 6-Floro-3-hidroksipirazin-2-karboksamid

2.1.2. Farmakokinetik Özellikleri

Favipiravir, gastrointestinal yan etki risklerini azaltmak için tok karna alınması önerilmektedir (Report on the Deliberation Results, 2020). Favipiravirin oral biyoyararlanımı % 95 olup düşük dağılım hacime (15-20 L) sahiptir (Avigan review report,2020). Favipiravir oral alımı takiben 2 saat sonra maksimum plazma konsantrasyonu'na ulaşır. Yarılanma ömrü 2.5-5 saat olup bu süre içerisinde favipiravirin plazma konsantrasyonu eliminasyona bağlı olarak azalır (Report on the Deliberation Results, 2020). Tekrarlayan çoklu dozlar sonrasında maksimum plazma konsantrasyonu'na (C_{max}) ulaşma süresi ve yarı ömür (T_{1/2}) artar. Favipiravirin %54'ü plazma proteinlerine bağlanarak taşınır (Avigan review report,2020). Favipiravir, lineer olmayan, zaman ve doz bağımlı farmakokinetiğe sahiptir (Hayden F ve ark.,2018). Favipiravir, aldehit oksidaz ve ksantin oksidaz ile karaciğerde metabolize edilir; eş zamanlı olarak aldehit oksidaz tarafından inhibe edilir. Favipiravir bu süreçte aldehit oksidaz enzimini inhibe etme yeteneğine de sahiptir. Bu durum, hem kendi metabolizmasını hem de aynı enzim yoluyla metabolize edilen diğer ilaçların farmakokinetiğini etkileyebilir Bu yüzden yeterli plazma konsantrasyonu'na ulaşmak

için başlangıçta yükleme dozları halinde uygulanır. Oluşan metabolitler böbrek yoluyla hidroksillenmiş formlar olarak atılır (Madelain ve ark., 2016).

2.1.3. Favipiravirin Antiviral Etkileri

Favipiravir, Toyama Chemical Co. Ltd. tarafından influenza virüsüne karşı geliştirilen favipiravir, nöraminidaz ve M2 inhibitörlerine dirençli olan İnfluenza A ve İnfluenza B virüsü suşlarına karşı güçlü antiviral aktivite göstermiştir (Furuta ve ark., 2017). Favipiravir, virionun M2 iyon kanalını inhibe eden antiviraller (amantadin ve rimantadin) veya viral nöraminidaz (oseltamivir, zanamivir, peramivir ve laninamivir) gibi mevcut antivirallerden farklı olarak öncelikle virüsün hücrelere giriş ve çıkışını önler (Furuta ve ark., 2005). Viral RNA içerisine alındıktan sonra ribozillenip fosforile edilerek aktif metaboliti T705-RTP' ye dönüşür. T705-RTP, RNA virüslerinin RdRp enzimini inhibe ederek etki gösterdiği için başta İnfluenza virüsleri olmak üzere Arena virüs, Flavivirüs, Bunyavirüs gibi RNA virüslerine karşı etkili olduğu gözlenmiştir (Du ve Chen, 2020). Favipiravirin, [H1N1], [H3N2] gibi İnfluenza A virüsü, kuşlardan izole edilen [H5N1] suşları, domuzdan izole edilen [H1N2] suşları ve İnfluenza B virüsü dahil olmak üzere toplam 53 tip İnfluenza virüsüne karşı etkinliği saptanmıştır (Sleeman ve ark., 2010). Japonya'da İnfluenza için onaylanmış favipiravir tedavisi beş gün olup, ilk gün yükleme doz olarak günde iki kez 1600 mg'dır. Takip eden dört gün boyunca idame doz olarak günde iki kez 600 mg favipiravir uygulanmıştır (Furuta ve ark., 2017).

Literatürde favipiravirin başka virüslere karşı etkili olduğu çalışmalarda mevcuttur. 2014-2015 yıllarında Güney Afrika'da gözlenen Ebola virüs salgınında favipiravirin Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) önerdiği tedavi rejimine eklendiği hastalarda virüs yükünde azalma, ölüm oranlarında azalma ve uzamış hayatta kalım süreleri izlenmiştir (Bai ve ark., 2016). Sissoko ve arkadaşlarının Ebola virüsünde favipiravir tedavisi uyguladığı düşük viral yüklü grupta ölüm oranları kontrol grubuna göre %33 daha düşük izlenmiş olmakla beraber istatistiki olarak anlamlı sonuçlanmamıştır (Sissoko ve ark., 2016). Guedj ve arkadaşları, favipiravirin Ebola virüsünde RNA zincir sonlanmasında hataya neden olarak virüsün yok edilmesini sağladığından, Ebola virüs hastalığında etkili bir tedavi olabileceği sonucuna varmışlardır (Guedj ve ark., 2018). Ebola virüsünde etkin favipiravir dozu, ilk gün yükleme dozu 6000 mg, 2-10. günlerde 2400 mg idame dozu olarak belirlenmiştir (Du ve Chen, 2020).

Favipiravirin Rinovirüs, Poliovirüs, Respiratuar Sinsityal virüs gibi diğer RNA virüslerine etkili olduğu bildirilmiştir (Furuta ve ark., 2002). COVID-19 pandemisiyle birlikte favipiravir birçok ülkede tedavi seçeneği olarak yerini almıştır. Klinikte favipiravir, COVID-19 tedavisi için her 12 saatte bir 1600–1800 mg bir yükleme dozu kullanılmış ve bunu her 12 saatte bir 600–800 mg idame dozu izlemiştir (Rattanaumpawan ve ark., 2022).

2.1.4. Favipiravirin Yan Etkileri

Favipiravirin tedavi etkinliği açısından yüksek doz kullanımı, beraberinde çeşitli yan etkiler gelişmesine de yol açar. Japonya’da yapılan bir çalışmada, favipiravirin COVID-19 tedavisi için önerilen dozlardan daha düşük kullanıldığı hasta grubunun %20’sinde yan etkiler saptanmıştır (Ives M., 2020). Yapılan bu çalışmada yan etkiler rölatif olarak düşük saptanmış olup hiperürisemi, ishal ve düşük nötrofil düzeyleri ile artmış ALT, AST serum düzeyleri en sık rastlanan yan etkiler olmuştur. Bununla beraber, daha seyrek olarak bulantı, kusma, karın ağrısı, kaşıntı, deliryum gibi psikiyatrik semptomlar görülebildiği ve bunların iyi tolere edilebildiği bildirilmiştir (Avigan Tablets, 2021). Favipiravir, düşük dozlarda daha iyi tolere edilebilen hafif yan etkilere yol açarken, artan dozlarla yan etkilerin sıklığında artış gözlenmiştir (Avigan Tablets, 2021). Favipiravirin kreatin klerensi <30 ml /dk olan hastalarda dikkatli kullanılması gerektiği bildirilmiş olup nefrotoksisite riski mevcuttur (Sanders ve ark., 2020). Yüksek dozlarda favipiravirin kardiyak yan etki olarak QTc mesafesini uzattığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Chinello ve ark 2017; Naksuk ve ark 2020). Japon ilaç güvenlik bürosu, favipiravir’in teratojenik etkileri olduğunu; bu yüzden hamile bireylere verilmesinin uygun olmadığını ilaç onay aşamasında belirtmiş olup, favipiravir kullanan erkeklerin de bir hafta boyunca kontrasepsiyon yöntemi kullanmalarını önermiştir. Ayrıca başka bir ilaçla tedavi mümkünse favipiravir kullanılmamasını tavsiye etmiştir (Report on the Deliberation Results, 2020). Konstantinova ve arkadaşlarının favipiravir ve yapısal analoglarıyla ilgili yayınladığı çalışmada favipiravirin yüksek dozlarda kullanılmasının, düşük biyoyararlanıma sahip olmasının, artmış sistemik toksisite ve teratojeniteye neden olmasının klinikte kullanılmak üzere daha az zararlı analoglarının keşfedilmesine ihtiyaç oluşturduğu sonucuna varmışlardır (Konstantinova ve ark., 2022). Favipiravirin mesane üzerinde herhangi bir yan etki oluşturduğuna yönelik bilgiye literatürde rastlamadık.

2.1.5. Favipiravir İlaç Etkileşimleri

Favipiravirin bazı ilaçlarla birlikte kullanımı yan etkilerinde artışa neden olmaktadır. Pirazinamid ile birlikte kullanımı serum ürik asit düzeylerini anlamlı şekilde artırmakta; bu durum hiperürisemi ve gut atakları açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle favipiravir ile pirazinamidin birlikte kullanımı önerilmemektedir. Teofilin ile eş zamanlı kullanıldığında, favipiravir serum konsantrasyonlarında artış gözlenmiş ve bu durum sistemik yan etkilerin şiddetinde artışa yol açmıştır. Asiklovir ile birlikte uygulandığında, favipiravirin aktif forma dönüşüm sürecinde gecikme meydana gelmekte ve bu durum antiviral etkinliğin azalmasına neden olmaktadır (Catherine ve ark., 2020). Favipiravir aldehit oksidaz enzimini inhibe etme yeteneğine sahiptir. Bu durum, hem kendi metabolizmasını hem de aynı enzim yoluyla metabolize edilen diğer ilaçların farmakokinetiğini etkileyebilir. Demir E. ve arkadaşları yaptığı çalışmada favipiravir ve metotreksat birlikte kullanılan hastada, favipiravirin aldehit oksidaz inhibisyonunun metotreksat eliminasyonunu azalttığı ve hepatotoksisite gelişimine neden olduğunu saptamışlardır (Demir E. ve ark.,2021).

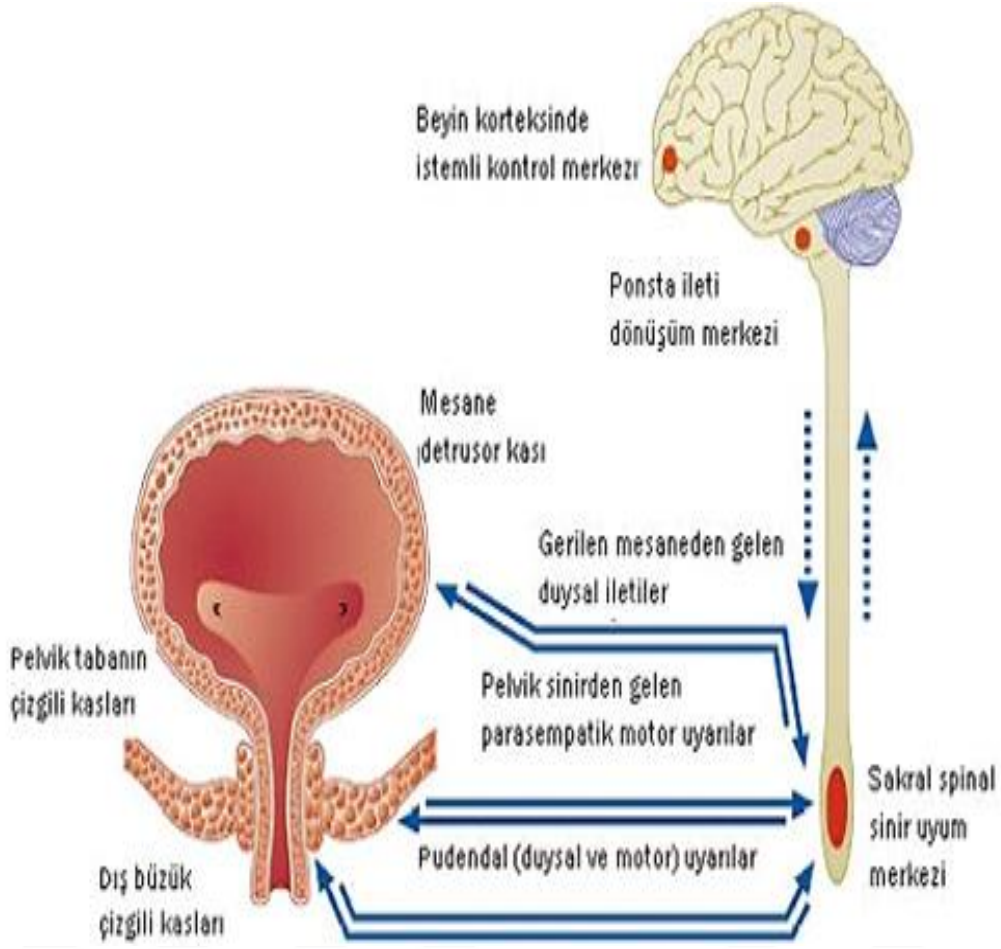
2.1.6. Favipiravirin Mesane ve Ürogenital Sistem Üzerindeki Etkisi

Favipiravir, özellikle COVID-19 pandemisi sırasında dünya genelinde yaygın biçimde kullanılan, RNA virüslerine karşı etkili bir antiviral ajan olarak öne çıkmıştır. İlacın kullanımına dair birçok organ ve sistem üzerinde toksik etkiler bildirilmiş olmasına rağmen, mesane üzerindeki etkilerine yönelik literatürde yeterli veri bulunmamaktadır. Yapılan literatür taramalarında favipiravirin mesaneye özgü toksik etkilerine dair doğrudan bir yayına rastlanmamıştır. Ancak mevcut çalışmalar, favipiravire bağlı organ ve doku hasarlarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Madelain ve ark 2016; Kara ve ark., 2023). Favipiravir, karaciğerde ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz enzimleri tarafından metabolize edilmekte olup, daha sonra büyük oranda böbrekler yoluyla idrarla atılmaktadır (Madelain ve ark., 2016). İdrar yoluyla atılan ilaç metabolitlerinin, mesanede birikebilme potansiyeli nedeniyle, mesane dokusu üzerinde toksik etki oluşturabileceği düşünülmektedir. Mesanenin ürotelyum adı verilen iç yüzeyi, bu tür toksik bileşiklere karşı fiziksel ve biyokimyasal bir bariyer görevi görmekle birlikte; ilaç metabolitleri, serbest radikaller, enfeksiyon ajanları ve kimyasallar gibi çeşitli zararlı faktörlerin etkisiyle bu bariyer bütünlüğü

bozulabilir (Wein, 2005). Kara ve arkadaşlarının 2023 yılında gerçekleştirdiği deneysel bir çalışmada, favipiravir uygulamasının karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinde bozulmaya, aynı zamanda oksidatif stres kaynaklı histopatolojik değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada, favipiravirin apoptotik hücre ölümünü artırdığı (Kaspaz-3 artışı ve Bcl-2 azalması), inflamasyonu tetiklediği ve renal reabsorbsiyon süreçlerini olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Kara ve ark., 2023). Favipiravirin en yaygın advers etkilerinden biri olan hiperürisemi, ilacın ürik asidin renal atılımını azaltması ile ilişkilendirilmiştir (Report on the Deliberation Results, 2020). Artan ürik asit seviyeleri hem böbrek hem de alt üriner sistemde olumsuz etkilere neden olabileceğinden, bu durum mesane sağlığı açısından da dolaylı risk faktörü oluşturabilir.

2.2. Mesane

Böbrekler tarafından oluşturulan idrar, çift taraflı üreterler ile mesaneye gelerek miksiyon oluşana dek burada toplanır. Mesane, idrar için depolama görevi gören subperitoneal, içi boş kaslı bir organdır. Mesane boşken pelvis minorda bulunur ve idrarla doldukça karın boşluğuna doğru uzanım gösterir. Mesanenin idrarı depolama kapasitesi yaklaşık olarak 500 ml'dir (Anafarta ve ark., 1998). Mesanenin alt ucunda bulunan üretradan idrarın atılması hem otonom hem de merkezi sinir sistemi ile birlikte nöro-hormonal sistem tarafından koordine edilen oldukça karmaşık bir fizyolojik süreçtir (Lanzotti ve ark., 2023). Mesane fonksiyonları üzerindeki bu hassas denetim; parasempatik, sempatik, somatik sinirler ve nörohormonal aracı moleküllerin (asetilkolin, noradrenalin, ATP, nitrik oksit vb.) etkisiyle yürütülür. Bu sistemlerin etkileşimi sayesinde detrüsr kasının kasılması, iç ve dış sfinkterlerin koordineli şekilde açılıp kapanması sonucu mesanede depolanan idrar üretraya atılır.



Şekil 2.2. Mesane Fonksiyonunun Nöroanatomik Temelleri

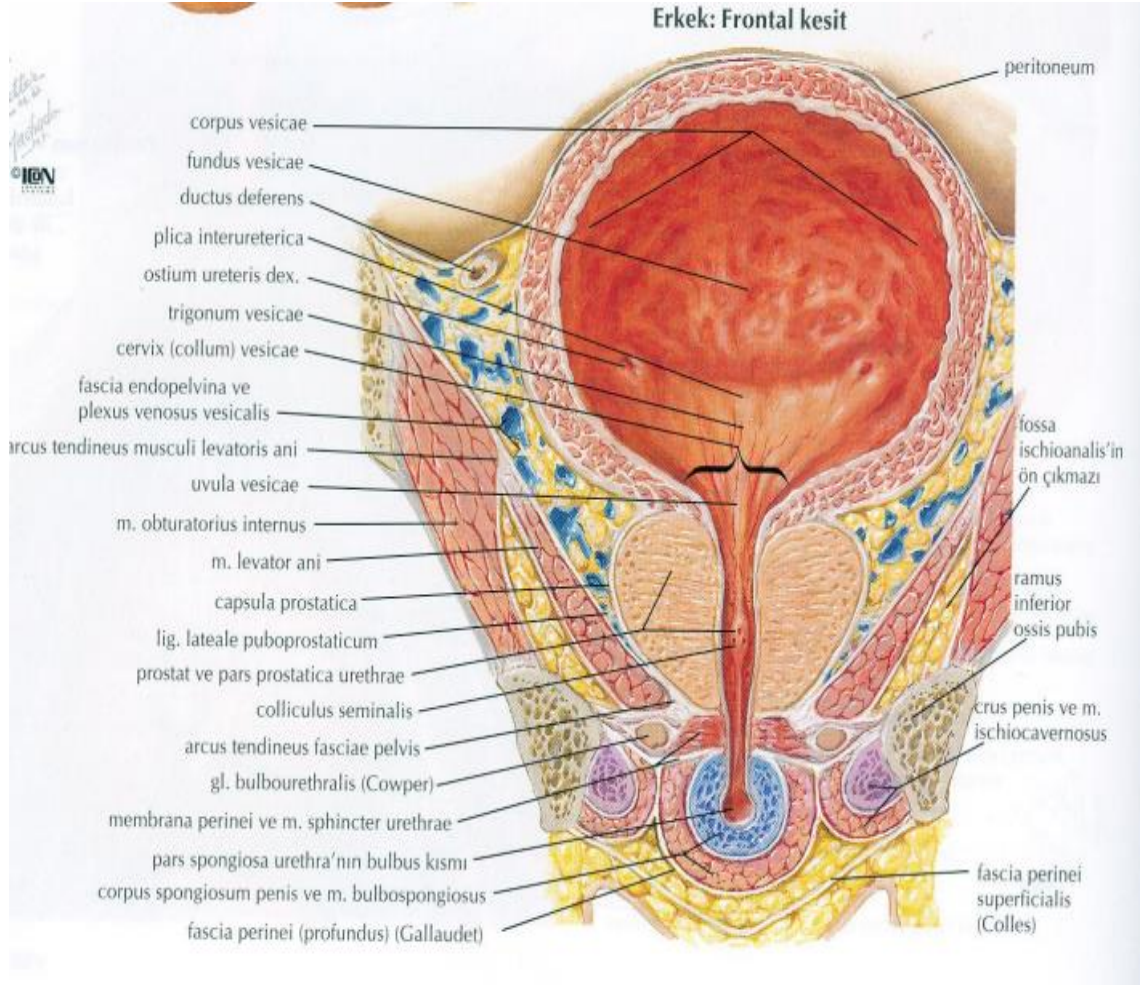
2.2.1. Mesanenin Embriyolojisi

Mesanenin embriyolojik gelişimi dördüncü haftada başlar. Ürogenital septum, kloakayı önde ürogenital sinüs ve arkada rektum olmak üzere iki parçaya böler. Ürogenital sinüs, mesane ve üretrayı oluşturmak üzere büyümeye devam eder. Embriyolojik olarak mesane epitelinin büyük bölümü, ürogenital sinüsün vezikal parçasını döşeyen endodermal hücrelerden türemektedir. Ancak trigon bölgesi, mezonefrik kanalın distal uçları ile üreter tomurcuğu arasındaki birleşmeyle oluştuğundan, başlangıçta mezoderm kökenlidir. Bu bölge, mezonefrik kanal dokusuna ait mezodermal hücrelerle döşelidir. Gelişimin ilerleyen evrelerinde, ürogenital sinüsün endodermal hücreleri, trigonun yüzey epitelini oluşturan mezodermal hücrelerin yerini alır. Böylece hem trigon hem de mesanenin diğer kısımları homojen bir endodermal ürotelyum ile kaplanır. Bu süreç, embriyonik gelişim sırasında farklı kökenli dokular arasında gerçekleşen dinamik

hücrel değişimlerin bir örneğidir ve normal mesane morfogenezi açısından kritik öneme sahiptir (Moore ve ark., 2019; Sadler, 2012).

2.2.2. Mesanenin Anatomisi

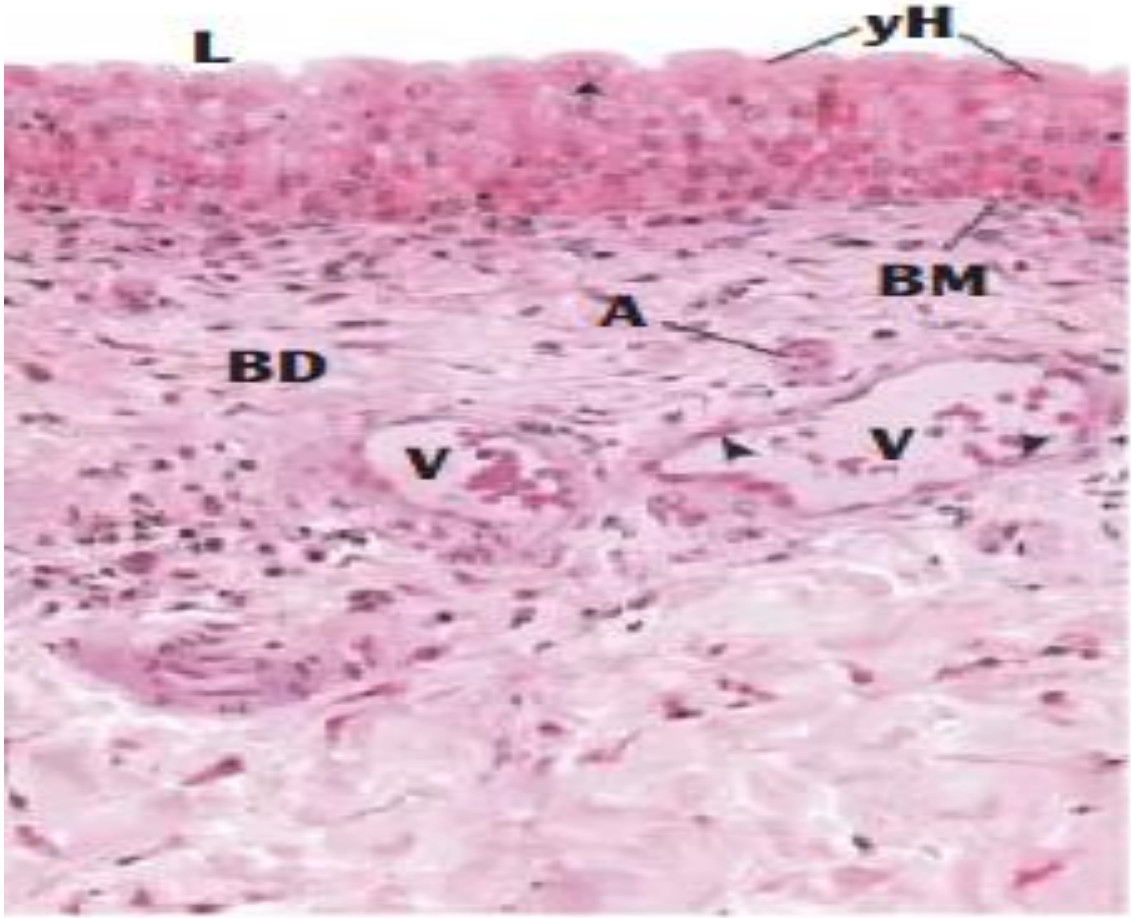
Mesane, idrarın geçiçi olarak depolanmasını ve gerektiğinde aralıklı olarak boşaltılmasını sağlayan içi boş muskuler bir organdır. Yetişkinlerde pelvis minörde yer alırken, çocuklarda daha yukarıda lokalizedir (Moore, 1992). Mesanenin apex bölgesine doğru yönelir, urachus kalıntısı olan medyan umbilikal ligaman ile göbek ön duvarına uzanır. Mesanenin korpus bölümü en büyük kısmıdır, idrar depolama işlevini görür. Mesanenin fundus bölümü taban kısmı olup burada ureterler mesaneye açılır. Mesanenin alt kısmı serviks (boyun) kısmı olup mesanenin üretraya açıldığı yerdir. İçte mukoza, ortada muskuler tabaka ve dışta seroza olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (Moore, 1992). Mesanenin muskuler tabakası dışta longitudinal, ortada sirküler ve içte longitudinal olarak, üç katman halinde dağılım göstererek detrüsör kasını oluşturmaktadır. Bu üç kas tabakasının lifleri mesane boynuna doğru internal sfinkteri oluştururlar (Tanagho ve McAninch, 2009). İnternal sfinkter gerçek bir dairesel sfinkter değildir; üretranın düz kas yapılanmasını teşkil etmek üzere distal yöne doğru giden detrüsör kasının iç içe girmiş kas liflerinin oluşturduğu bir kalınlaşmadır (Junqueira L.C ve ark., 2005). Düz kas lifleri submukozal olarak üretra boyunca uzanarak dış sfinkter yapısına katılır. Dış sfinkter ise somatik sinirler tarafından uyarılan pelvik kasların bir parçasıdır. İç sfinkterden farklı olarak istemli çizgili kas liflerinden oluşmaktadır.



Şekil 2.3. Mesane Anatomisi (Netter Anatomi Atlası)

2.2.3. Mesanenin Histolojisi

Mesane duvarı, içten dışa doğru mukoza, musküler tabaka ve seroza olmak üzere 3 katmandan oluşur (Junqueira ve ark., 2005). Mesane lümeni, 4-8 kattan oluşan esnek yapılı, küboid şekilli epitel hücreleri ile döşelidir. Mesane gerildiği zaman şekilleri küboidden yassıya geçiş yaparak geçişçi epitel adını alır. Lamina propria; mukoza altında yer alan submukozal tabaka olarak adlandırılır. Lamina propria gevşek bağ dokusu ve kapiller damarları içerir (Baykara, 1998). Mesane mukozası, kas tabakasına trigonda direk olarak, trigon dışında gevşek submukoza tabakasıyla bağlanmıştır. Muskularis propria olarak da adlandırılan musküler tabaka, detrusor kas düz kas liflerinden oluşmuş tabakadır. En içteki ve en dıştaki kas lifleri, longitudinal düzlemde yer almaya eğilimli olmakla beraber tabakalar ayırt edilemez. Tunika seroza; mesane ile birlikte diğer pelvik organların dış tabakası adventisya adı verilen membran ile sarılmıştır. İçerisinde kan damarları, küçük sinirler ve çok küçük ganglionlar bulunur (Eroschenko, 2000).



Şekil 2.4. Mesane Dokusunun Histolojisi (Renkli Histoloji Atlası, Sayfa: 35)

Mesane çok katlı epitelin özel bir türü olan değişici epitel ile döşenmiştir. Bu örnekte, bazıları çift çekirdekli (ok) olan büyük, yuvarlak, şemsiye şekilli (yH), lümene (L) bitişik hücrelerden anlaşıldığı gibi içi boş, gergin olmayan mesaneden alınmıştır. Bazal membran (BM) üzerindeki epitel hücreleri oldukça küçüktür, fakat yüzeye doğru göç ederken boyutları artar ve armut biçimi alırlar. Mesane gerildiğinde, epitelin kalınlığı azalır ve hücreler daha çok yassı benzeri ya da yassı biçim alırlar. Bağ dokusu-epitel ara yüzü düzdür, çok az girinti ve çıkıntı içerir. Epitelin hemen altındaki bağ dokusu (BD), bu bölgedeki arterlerin (A) ve venlerin (V) kesitlerinden de anlaşılabileceği gibi damardan zengindir. Bu damarların, kabarık çekirdekleri (ok uçlar) ile tanınan, tek katlı yassı endotel örtüsünden oluşmaktadır.

2.3. Serbest Radikaller

Hücrelerde metabolizma sonucu serbest radikal olarak toksik oksijen metabolitleri meydana gelir. Bu meydana gelen serbest radikaller, vücutta antioksidanlar denilen çeşitli maddelerle zararsız hale getirilmeye çalışılır. Denge serbest radikaller lehine bozulursa, vücutta çeşitli hastalıkların oluşumuna zemin hazırlayan bir süreç başlar (Del Maestro ve ark., 1980). Serbest radikaller, son yörüngesinde eşlenmemiş bir veya daha fazla elektron bulunduran, dolayısıyla diğer bileşiklerle tepkimelere açık reaktif,

kararsız, düşük moleköl ağırlıklı ve kısa ömürlü bileşiklerdir (Barber ve Harris, 1994). Serbest radikal türevleri; reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olmak üzere ikiye ayrılır.

2.3.1. Serbest Radikal Kaynakları

Serbest radikaller, organizmada hem endojen hem de ekzojen kaynaklardan oluşabilirler. Endojen kaynaklar arasında normal metabolik süreçler, özellikle mitokondriyal solunum zinciri, inflamasyon, fagositoz ve bazı enzimatik reaksiyonlar yer alır. Öte yandan, serbest radikaller çevresel faktörlere bağlı olarak dışarıdan da vücuda alınabilir. Bu ekzojen kaynaklar arasında hava kirliliği, radyasyon, sigara dumanı, bazı ilaçlar, pestisitler, ağır metaller ve endüstriyel kimyasallar sayılabilir (Nagendrappa, 2005). Bu reaktif moleküller, oksidatif stres oluşturarak hücrel yapılar zarar verebilir ve birçok kronik hastalığın patogeneğinde rol oynar.

2.3.1.1. Endojen Kaynaklar

Aerobik solunum sürecinde, mitokondride gerçekleşen elektron taşıma zinciri (ETZ) boyunca moleküler oksijen (O_2), kademeli olarak suya (H_2O) indirgenir (Tablo 2.1). Bu indirgenme işlemi sırasında, bazı elektronlar oksijene tam aktarılmadan önce sızabilir ve bu da çeşitli reaktif ROS türlerinin oluşumuna yol açar. Bu süreçte oluşan başlıca ROS ürünleri; süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi moleküllerdir (Reilly ve ark., 1991). Bu türler, hücre içi redoks dengesi üzerinde belirgin bir etkiye sahip olup, kontrolsüz birikimleri durumunda oksidatif strese neden olabilirler.

Tablo 2.1.Oksijenin İndirgenmesi

Adım	Bileşik	Reaksiyon	Açıklama
1	Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$)	$O_2 + 1e^- \rightarrow O_2^{\cdot-}$	İlk indirgenme ürünü, serbest radikal.
2	Hidroperoksil radikali ($HO_2^{\cdot}$)	$O_2^{\cdot-} + H^+ \rightarrow HO_2^{\cdot}$	Süperoksitin protonlanmış hali, lipitte çözünür.
3	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	$HO_2^{\cdot} + 1e^- + H^+ \rightarrow H_2O_2$	Radikal olmayan ama reaktif bileşik.
4	Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	$H_2O_2 + 1e^- \rightarrow OH^- + \cdot OH$	Fenton reaksiyonu ile oluşur, çok toksiktir.
5	Su (H_2O)	$\cdot OH + 1e^- + H^+ \rightarrow H_2O$	Nihai ve zararsız ürün.

Aktive olmuş nötrofillerden açığa çıkan hipoklorik asit (HOCl) ise güçlü bir oksidandır. HOCl demir tuzları ve süperoksit radikalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini meydana getirir (Klebanoff, 1980). Vücutta bulunan çeşitli enzimlerle olan reaksiyonlar sırasında serbest radikaller oluşabilir. Plazma membranlarında siklooksijenaz ve lipooooksijenaz enzimleri, peroksizomlarda bulunan oksidazlar, endoplazmik retikulumda bulunan sitokrom p450 sistemleri bunlara örnek gösterilebilir (Jabs ve ark., 1995; Lefer, 1985). L-Arginin ve oksijenden nitrik oksit sentaz enzimi aracılığıyla oluşan Nitrik oksit (NO), membranlardan kolayca geçebilen gaz yapıda olması ve eşlenmemiş elektronlara sahip olması nedeniyle RNS olarak adlandırılan grupta yer alır (Bruckdorfer, 2005).

2.3.1.2. Ekzojen Kaynaklar

Karbonmonoksit, ozon, benzen gibi hava kirleticiler, kloroform gibi su kirleticiler, sigara dumanı, egzoz dumanı, alkol, halothan ve parasetamol, böcek ilaçları gibi bazı ilaçlara maruziyet, temizlik ürünleri, boya, tiner ekzojen olarak serbest radikal oluşmasına katkıda bulunurlar (Phaniendra ve ark., 2015).

Tablo 2.2. Serbest Radikal Ekzojen Kaynakları

Kaynak	Açıklama
Ultraviyole (UV) ışınları	Güneş ışığına uzun süre maruz kalma, deri hücrelerinde ROS üretimini artırır.
İyonizan radyasyon	Radyoterapi, nükleer maddeler veya röntgen gibi radyasyon kaynakları serbest radikal üretir.
Sigara dumanı	Tütün ürünlerinde binlerce toksik kimyasal bulunur; bunlar oksidatif strese neden olur.
Hava kirliliği	Egzoz gazları, ozon, sülfür dioksit gibi maddeler serbest radikal oluşumuna yol açar.
Alkol tüketimi	Karaciğerde etanolün metabolizması sırasında ROS oluşur.
İlaçlar	Bazı kemoterapötikler ve diğer ilaçlar metabolizma sırasında ROS üretir.
Ağır metaller	Kurşun, civa, kadmiyum gibi metaller antioksidan enzimleri inhibe eder ve ROS üretimini artırır.

2.3.2.Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijenin tam olarak indirgenememesi sonucu oluşan, hücresel yapı ve fonksiyonlara zarar verme potansiyeline sahip oksijen türevleridir. ROS türleri tablo 2.3'te gösterilmiştir (Sies, 1997, Groot, 1994). Fizyolojik koşullarda düşük konsantrasyonlarda üretildiklerinde ROS'lar, hücre içi sinyal iletimi, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve immün yanıt gibi yaşamsal süreçlerde rol oynarlar. Ancak, üretimlerinin artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması durumunda, oksidatif stres meydana gelir. Bu süreçte ROS, DNA, proteinler ve lipitler gibi temel biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel hasara yol açarak hücre ölümüne ve çeşitli hastalıkların gelişimine katkı sağlar (Valko ve ark., 2007). ROS kaynakları tablo Tablo 2.4' te gösterilmiştir (Carroll, 1987).

Tablo 2. 3. Reaktif Oksijen Türleri

Formül	Adı	Açıklama
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit radikali	Tek elektron redükte durumda
$HO_2^{\cdot}$	Perhidroksi radikali	Protonlanmış $O_2^{\cdot-}$, oldukça lipide çözünür
H_2O_2	Hidrojen peroksit	İki elektron redükte durumda, $O_2^{\cdot-}$ veya O_2 'den oluşur
$HO^{\cdot}$ ($\cdot OH$)	Hidroksil radikali	Üç elektron redükte durumda, çok reaktiftir
$RO^{\cdot}$ ($LO^{\cdot}$)	Alkoksil radikali	Oksijen merkezli organik radikal
$OO^{\cdot}$ ($LOO^{\cdot}$)	Peroksil radikali	Genelde organik hidroperoksitten oluşur
$ROOH$ ($LOOH$)	Organik hidroperoksit	—
1O_2	Singlet moleküler oksijen	Birincil eksite durum
RO^*	Eksite karbonil	—
$HOCl$	Hipokloröz asit	Miyeloperoksidaz ile nötrofillerde oluşur

Tablo 2. 4. Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları

Kaynak	Açıklama	Örnek Enzim/Süreç
Mitokondriyal Taşıma	Elektron Oksidatif fosforilasyon sırasında kaçak elektronlar süperoksit üretir	Kompleks I ve III
Enflamasyon	Bağışıklık hücreleri, patojenlere karşı ROS üretir	NADPH oksidaz, MPO
Enzimatik Reaksiyonlar	ROS, bazı enzimlerin katalitik aktivitesi sırasında oluşur	Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz
Peroksizomal Metabolizma	Uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonu sırasında H_2O_2 oluşur	Açıl-KoA oksidaz
Sitokrom P450 Sistemleri	İlaçların ve toksinlerin metabolizmasında ROS üretimi görülebilir	CYP450 enzimleri
İzokimyasallar / Toksinler	Sigara dumanı, hava kirliliği ve çeşitli kimyasallar ROS üretimini tetikler	Benzopiren, polisiklik aromatikler
UV/Iyonizan Radyasyon	Radyasyon, su moleküllerini iyonlaştırarak serbest radikal oluşturur	$\cdot OH$, H_2O_2
Metal Reaksiyonlar	Katalizli Demir ve bakır gibi metallerin redoks döngüsü ROS üretimine neden olabilir	Fenton Reaksiyonu

2.3.2.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot -}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot -}$) bir oksijen molekülünden bir elektron kaybetmiş, vücutta çeşitli fizyolojik olaylar sonrasında gelişen reaktif oksijen türevleridir (Sies, 1997). ($O_2^{\cdot -}$) üretimi mitokondriyal solunum, enflamasyon durumlarında ve enzimatik süreçlerle gerçekleşir. Ancak aşırı üretimi durumunda, oksidatif stres ve hücrel hasar gibi olumsuz sonuçlara neden olabilir. Süperoksit üretimi başlıca aşağıdaki biyolojik süreçlerde gözlenmektedir:

- Mitokondriyal Solunum: Mitokondride gerçekleşen elektron taşıma zinciri (ETZ) sırasında, taşınan bazı elektronlar oksijen ile doğrudan reaksiyona girerek

süperoksit radikali oluşturabilirler. Bu durum, fizyolojik olarak kaçınılmaz bir yan ürün niteliğindedir (Sies, 1997).

- Enflamasyon: İnflamatuvar yanıt sırasında, bağışıklık hücreleri (özellikle nötrofiller ve makrofajlar), mikroorganizmalarla savaşmak amacıyla reaktif oksijen türleri, özellikle süperoksit radikali üretirler. Bu süreç, patojen savunması açısından önemli olmakla birlikte, çevre dokulara da zarar verebilir.
- Enzimatik Reaksiyonlar: Bazı enzimler doğrudan süperoksit radikali üretebilir veya bu türlerin oluşumuna katkıda bulunabilir. Örneğin, NADPH oksidaz enzimi, özellikle fagositik hücrelerde, zar yüzeyinde süperoksit üretimini sağlamak üzere özelleşmiştir. Bunun yanında ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz gibi enzimler de ROS üretiminde rol alabilir.

Bu süreçler, normal fizyolojik sınırlar içinde kaldığında hücre fonksiyonları için gereklidir. Ancak süperoksit üretiminin artması ya da antioksidan sistemlerin yetersiz kalması durumunda, oluşan oksidatif stres DNA, protein ve lipit yapılarında hasara yol açabilir (Sies, 1997).

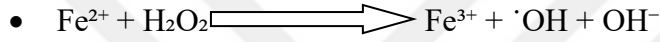
2.3.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit radikalının bir elektron alması sonucu peroksit radikali oluşur. Peroksit'in daha sonra iki hidrojen atomu ile birleşmesiyle H_2O_2 oluşur. Bununla beraber, hücre içerisinde H_2O_2 'nin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu olarak adlandırılan iki süperoksit molekülünün iki proton alarak H_2O_2 ve moleküler oksijeni oluşturmasıyla sonuçlanan kimyasal reaksiyondur (Sies, 2014). Hidrojen peroksit (H_2O_2), yapısında eşleşmemiş elektron içermemesi nedeniyle teknik olarak bir serbest radikal değildir. Ancak, ROS sınıfı içinde yer alır çünkü yüksek reaktiviteye sahip ve hücre biyokimyası üzerinde etkili bir oksidan ajandır. Hücre içinde başta süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla süperoksit radikalının detoksifikasyonu sırasında oluşur. H_2O_2 , özellikle Fenton reaksiyonu gibi metal katalizli redoks süreçlerinde hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi son derece reaktif radikallerin oluşumuna zemin hazırlar. Bu nedenle, serbest radikal biyokimyasında önemli ve merkezi bir rol oynar (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Ayrıca hücresel sinyal iletiminde ikincil haberci olarak da görev yapabilir.

2.3.2.3. Hidroksil Radikali ($\cdot\text{OH}$)

Hidrojen peroksitin demir (Fe^{2+}), bakır (Cu^{2+}) gibi metallerle parçalanması ile (Fenton reaksiyonu) veya süperoksit radikalının hidrojen peroksitle reaksiyona girmesi sonucu (Haber-Weiss reaksiyonu) oluşur (Sies, 2014). Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu aşağıda gösterilmiştir. Hidroksil radikali, hücrel hasara neden olabilen en güçlü reaktif oksijen türü olarak bilinir. Bu reaktif oksijen türü, DNA, proteinler ve lipitler gibi biyomoleküllerle etkileşime girerek oksidatif stres sürecinde önemli rol alır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Fenton reaksiyonu, demir (Fe^{2+}) iyonlarının hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyona girerek oldukça reaktif olan hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) üretmesiyle tanımlanır.



Haber-Weiss reaksiyonu, süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ile hidrojen peroksit (H_2O_2) arasında gerçekleşen ve hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) oluşumuna neden olan bir tepkimedir.



2.3.3. Reaktif Nitrojen Türleri

RNS, nitrojen içeren ve yüksek kimyasal reaktiviteye sahip moleküllerden oluşur. Bu türler, biyolojik sistemlerde hem fizyolojik hem de patolojik süreçlerde önemli roller oynar. RNS; sinyal iletimi, bağışıklık yanıtı, hücrel savunma mekanizmaları gibi süreçlerde görev alırken, aşırı üretimi durumunda hücrel yapılara zarar vererek nitratif stres oluşturabilir (Pacher ve ark., 2007). RNS'lerin başlıca üyeleri arasında nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$), peroksinitrit (ONOO^-), nitrotirozin, azotdioksit (NO_2) ve S-nitrozotiyol gibi moleküller yer alır. Bu türler, özellikle ROS ile etkileşime girerek DNA, protein ve lipidlerde hasara neden olabilir. Ayrıca, ROS ile birlikte etki göstererek oksidatif-nitratif stresin gelişmesinde rol alırlar.

Tablo 2.5. Reaktif Nitrojen Türleri ve Özellikleri

Formül	Adı	Açıklama
NO [•]	Nitrik oksit	Hücre sinyalleşmesinde görevli, aynı zamanda serbest radikal; fazla üretildiğinde toksiktir.
NO ₂ [•]	Azot dioksit	NO'nun oksitlenmesiyle oluşur, reaktif ve zararlıdır.
ONOO ⁻	Peroksinitrit	NO ve süperoksit (O ₂ ^{-•}) birleşmesiyle oluşur, protein ve DNA hasarına yol açabilir.
N ₂ O ₃	Di-azot trioksit	NO ve NO ₂ 'nin birleşmesiyle oluşur, proteinlerde nitrozilasyona neden olabilir.
NO ₃ ⁻	Nitrat	NO'nun son oksidasyon ürünlerinden biridir, reaktifliği düşüktür.
NO ₂ ⁻	Nitrit	NO'nun oksidasyonu sonucu oluşur, asidik ortamda reaktif hale gelebilir.

2.3.3.1. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit (NO) molekülü, bir eşleşmemiş elektrona sahip gaz halinde bulunan suda az çözünen reaktif nitrojen türevidir (Moncada ve ark., 1991). NO sentezi, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından gerçekleştirilir. Üç ana NOS izoformu vardır. Endotelyal NOS (eNOS), endotelyal hücrelerde bulunur ve vazodilatasyondan sorumludur. Nöronal NOS (nNOS), sinir hücrelerinde bulunur ve sinir hücreleri arasındaki sinyallerin iletilmesine yardımcı olur. İndüklenebilir NOS (iNOS), bağışıklık hücrelerinde bulunur ve patojenlerle savaşmak için büyük miktarlarda NO üretiminden sorumludur (Förstermann ve Sessa, 2012).

2.3.3.2. Peroksinitrit (OONO⁻)

NO, süperoksit radikali (O₂^{-•}) ile hızla reaksiyona girerek peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturur. Peroksinitrit, güçlü bir oksidandır ve hücrelerde DNA, lipitler ve proteinler üzerinde ciddi hasarlara yol açabilir (Szabó ve ark., 2007). Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve amiotrofik lateral skleroz (ALS) ve multipl skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklarda peroksinitritin rolü olduğu düşünülmektedir. Bu hastalıklarda peroksinitrit, nöronlara zarar vererek hastalığın ilerlemesine katkıda

bulunur (Radi ve ark., 2013). Peroksinitrit'in, ateroskleroz, hipertansiyon ve kalp yetmezliği gibi kardiyovasküler hastalıklarda damar endotel hücrelerine ve düz kas hücrelerine zarar vererek hastalık oluşum sürecine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Ahmad ve ark., 2022).

2.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Biyolojik Etkileri

Hücrel metabolizmanın yan ürünleri olarak oluşan ROS, hücrel sinyal iletiminden patojenlere karşı savunmaya kadar çeşitli biyolojik süreçlerde yer alır. Reaktif oksijen türleri vücuttaki antioksidanlar tarafından detoksifiye edilerek vücutta dengede tutulurlar (Finkel ve Holbrook, 2000). ROS, fizyolojik miktarlarda hücrel yaşlanmayı ve apoptozisi indükleyerek antitümöral etkilere neden olacağı gibi, NADPH oksidaz yoluyla aşırı üretimi veya yetersiz detoksifikasyonu bu dengeyi bozarak oksidatif stres oluşumu ve onkogenezin indüklenmesine neden olabilir (Valko ve ark., 2007).

2.4.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Etki Mekanizmaları

ROS, hücre içi sinyal iletim yollarında ikinci haberci olarak görev yapar. ROS' ların büyük bir bölümü hücre içinde özellikle mitokondride üretilmesine rağmen, hücre içi sinyal üretiminden sorumlu olan kısmı plasma membran oksidaz enzimlerinin aktivitesi sonucu oluşarak hücrel yanıtları modifiye eder (Sauer ve ark., 2001). ROS üretimi arttığında, oksidatif strese neden olarak çeşitli hastalıkların oluşumuna yol açar. ROS, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunda rol alır. Oksidatif stresin NF- κ B ile ilgili aktiviteler üzerindeki etkilerini açıklamak için farklı oksidatif stres modelleri incelenmiş olup ROS'ların, NF- κ B sinyalini hem etkinleştirebildiği hem de baskılayabildiği gözlemlenmiştir. Bu şekilde, enflamasyon, hücre büyümesi ve apoptoz gibi süreçleri etkiler (Lingappan, 2018).

2.4.1.1. Reaktif Oksijen Türlerinin Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Moleküler oksijenin yüksek lipid çözünürlüğü nedeniyle biyomembranlarda ROS üretimi çok fazladır (Spiteller ve Afzal, 2014). Doymamış yağ asitlerinden zengin olan lipid membranlar ROS' lara duyarlıdır (Xiao ve ark., 2017). ROS, doymamış yağ asitlerindeki metilen gruplarına (CH_2) saldırarak bir hidrojen atomunu metilen gruptan ayrılmasına neden olarak lipid radikallerin oluşumunu sağlar. Bu süreç, peroksil radikallerin ($\text{ROO}^\cdot$) ve hidroperoksitlerin (LOOH) oluşumuyla devam eder. Bir lipid

peroksidasyonu zincir reaksiyonu başlar ve bu reaksiyon komşu lipid moleküllerine zarar vererek devam eder (Yin ve ark., 2011). Oluşan bu mebran lipid peroksidasyonuna yanıt olarak hücreler ya hayatta kalmayı ya da apoptozisi indükleyerek hücre ölümüne kadar giden süreci başlatmış olurlar (Kinnunen ve ark., 2012). Reaksiyon, lipid radikalleri, unstabil hidroperoksitler ve malondialdehit (MDA), 4-hidroksinonenal (4-HNE) oluşumuyla sonlanır. Oluşan bu ürünler çeşitli biyomoleküllerle etkileşime girerek vücutta toksik etkilere yol açarlar. MDA düzeylerinin spektrofotometrik olarak ölçümü lipid peroksidasyon göstergesi olarak 1979 yılından beri kullanılmaktadır (Ohkawa ve ark., 1979).

2.4.2. 2. Reaktif Oksijen Türlerinin DNA Üzerine Etkileri

ROS'ların, DNA üzerinde yaptığı hasar son yıllarda karsinogenezis üzerinde yapılan çalışmalarla aydınlatılmıştır. ROS, DNA üzerindeki nitrojen kaynakları ve deoksiribozlarla etkileşime girerek mutasyonlar, karsinogenez, apoptoz, nekroz, herediter hastalıklara neden olan oksidatif reaksiyonların oluşmasına zemin hazırlar (Srinivas ve ark., 2019). ROS, DNA'ya doğrudan saldırarak baz modifikasyonları, tek zincir kırıkları ve çift zincir kırıkları gibi hasarlara yol açabilir. ROS'lar, DNA bazlarını oksitleyerek mutasyonlara yol açabilir. Örneğin, 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) , DNA'nın guanin bazının oksidasyonu ile oluşur ve DNA'da oksidatif hasarın yaygın bir biyomarkeri olarak kullanılır (Kasai, 1997). İdrar, kan ve diğer biyolojik sıvılarda 8-OHdG seviyelerinin tespiti ve analizi, oksidatif stres araştırmalarında önemli bir yer tutar. Bu analizler, genellikle yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ve ELISA (enzim bağlı immünosorbent testi) gibi tekniklerle gerçekleştirilir (Cadet ve ark., 2003). Yüksek 8-OHdG düzeyleri, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma ve kanser gibi oksidatif stresle ilişkili birçok hastalığın göstergesi olarak kullanılır. Tek zincir kırıkları, replikasyon veya transkripsiyon sırasında ciddi sorunlara yol açarken, daha ciddi olan çift zincir kırıkları nekrozla sonuçlanabilir veya yanlış onarılsa mutasyonlara yol açabilir (Caldecott, 2008). Çift zincir kırıkları, kanser oluşumunda kritik bir rol oynar. Yüksek düzeyde ROS, hücrede geri döndürülemez hasarlara yol açarak apoptozis (programlanmış hücre ölümü) veya nekroz (kontROLSÜZ hücre ölümü) süreçlerini tetikleyebilir (Circu ve Aw, 2010). ROS'ların DNA'da sebep

olduğu mutasyonlar, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna veya onkogenlerin aktivasyonuna yol açarak kanser gelişimini tetikleyebilir (Klaunig ve Kamendulis, 2004).

2.4.2.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Proteinler Üzerine Etkileri

ROS'lar, proteinlerin aminoasit yan zincirleriyle reaksiyona girerek oksidatif hasar oluşumuna yol açarlar. Sistein aminoasitlerinde bulunan Tiyol grupları (-SH) ve Karbonil grupları ROS'ların ana hedefidir (Dalle-Donne ve ark, 2003). Proteinlerin oksidasyonu sonucu bazı aminoasit köklerinin karbonil türevlerine dönüşümü gerçekleşir. Oluşan bu karbonil türevleri proteinlerin fonksiyonlarını bozabilir ve hücrede toksik agregatların oluşmasına neden olabilir. Diyabet, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar, kalp ve damar sistemi hastalıklarının patogeneğinde protein oksidasyonu ürünlerinin fazla olduğu ve hücrede aşırı birikimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Stadtman, 2001). Tiyol ve karbonil düzeylerinin ölçümü hücresel oksidatif stresin ve ROS aktivitesinin değerlendirilmesi açısından anlamlıdır (Dalle-Donne ve ark, 2003).

2.5. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, organizmada serbest radikaller ve özellikle ROS ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin, ROS lehine bozulması sonucu ortaya çıkan bir durumdur (Sies, 1997). ROS, hücresel metabolizmanın doğal yan ürünleri olup, fizyolojik koşullarda hücre içi sinyal iletimi, proliferasyon, apoptoz ve immün yanıtlar gibi çeşitli süreçlerde önemli roller üstlenirler. Düşük düzeylerde üretildiklerinde, hücre homeostazının korunmasında görev alırlar. Ancak, ROS üretiminin artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması durumunda, bu moleküller DNA, protein ve lipidler gibi biyomoleküller üzerinde toksik etkiler oluşturarak oksidatif hasara neden olabilir. Bu hasar, hücre bütünlüğünün bozulmasına ve uzun vadede çeşitli dejeneratif hastalıkların, inflamasyonun ve kanserin gelişimine zemin hazırlayabilir. Artmış ROS seviyeleri; DNA hasarı, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu gibi etkilerle hücresel bütünlüğü bozar. Bu süreç, hasarın şiddetine bağlı olarak apoptoz (programlı hücre ölümü) veya nekroz (kontROLSÜZ hücre ölümü) ile sonuçlanabilir (Valko ve ark., 2007). Uzun süreli oksidatif stres, hücresel düzeyde kalıcı zararlara

neden olarak; kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok kronik hastalığın patogeneze katkı sağlar (Pizzino ve ark., 2017).

2.5.1. Mesane ve Oksidatif Stres

ROS'lar, mesane üzerinde toksik etkiler gösterir ve buna bağlı olarak interstisyel sistit, mesane kanseri gibi çeşitli hastalıkların patogeneze rol oynar (Kinn ve ark, 2002; Bostwick ve Shrigley, 2009). Oksidatif stres mesane dokusunun koruyucu tabakası olan glikozaminoglikan tabakanın hasarlanmasına yol açarak mesane epitelinin patojenlere olan koruyucu özelliğini bozar ve bu sayede interstisyel sistit gelişimine yol açar. ROS'lar, DNA bazlarına saldırır ve oksidatif hasara neden olarak mutasyonlara yol açabilir. ROS'lar, onkogenleri aktive edebilir ve tümör baskılayıcı genleri inaktive edebilir. Bu, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasına mesane kanseri oluşumuna neden olabilir (Bostwick ve Shrigley, 2009). Navarova J ve arkadaşlarının yaptığı siklofosfamidin indüklediği oksidatif strese karşı stobadinin koruyucu etkisine dair yaptıkları çalışmada mesane toksisitesinin oksidatif hasara sekonder geliştiği sonucuna varmışlardır (Navarova ve ark,1999).

2.6. Antioksidanlar

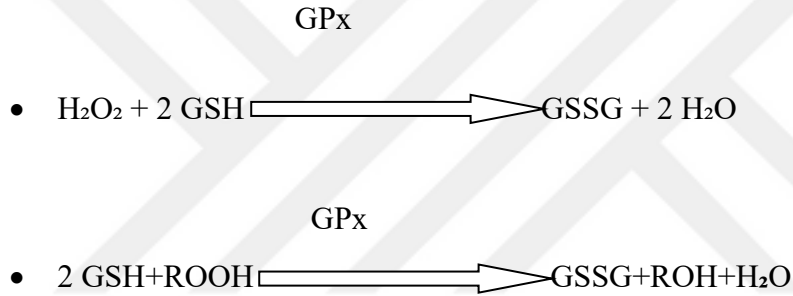
Antioksidanlar, vücutta oksidatif stres kaynaklı zararlı etkilere karşı koruyucu olan bileşiklerdir. Bu bileşikler, ROS nötralizasyonu yaparak hücreleri ve dokuları oksidatif strese karşı korur. DNA, proteinler ve lipitler gibi biyolojik yapıların oksidatif hasarını önler veya azaltırlar (Halliwell, 2007). Antioksidanlar, vücutta üretilenler gibi ekzojen olarak dışarıdan da alınabilirler (Lobo ve ark.,2010). Vücutta üretilen antioksidanlara örnek olarak glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi enzimler gösterilebilir (Scalbert ve ark., 2005). Glutatyon (tGSH), melatonin, selenyum, bilirubin, koenzim Q10 gibi enzimatik olmayan antioksidanlarda mevcuttur. Vücutta ekzojen olarak alınan antioksidanlara örnek olarak C vitamini, E vitamini, karotenoidler ve polifenoller gösterilebilir (Lobo ve ark., 2010). Antioksidanlar, vücutta serbest radikalleri temizlemenin yanında inflamasyon, hücresel hasar, hastalık patogeneze önemli rol oynarlar (Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark.,2007). Ayrıca, antioksidanlar hücre proliferasyonunu baskılayarak, apoptozisi aktive ederek kanser oluşumunu engelleme sürecinde önemli rol oynarlar (Fresco ve ark., 2006).

2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar

Enzimatik antioksidanlar, ROS ve serbest radikalleri doğrudan veya dolaylı yoldan etkisiz hale getirerek hücreyi oksidatif stresten koruyan biyolojik savunma sistemlerinin temel bileşenlerindendir (Birben ve ark., 2012). Bu enzimler, vücutta sürekli olarak sentezlenir ve genellikle hücre içi organellerde (özellikle mitokondri, sitoplazma ve peroksizomlarda) yüksek konsantrasyonlarda bulunurlar.

2.6.1.1 Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz (GPx), hücreleri ROS'lara karşı koruyan önemli bir antioksidan enzimdir. Hidrojen peroksit'i (H_2O_2), H_2O molekülüne indirgeyerek etki gösterir (Flohé, L. ve ark., 1984).



GPx'in başlıca görevi hidrojen peroksit (H_2O_2) ve çeşitli organik hidroperoksitleri zararsız bileşiklere dönüştürmek olan önemli bir enzimatik antioksidandır. GPx, bu detoksifikasyon sürecinde elektron kaynağı olarak indirgenmiş glutatyonu (GSH) kullanır. Reaksiyon sonucunda H_2O_2 , suya; organik peroksitler ise daha az toksik alkollere dönüştürülerek hücre yapılarının oksidatif hasardan korunması sağlanır. Bu yönüyle GPx, özellikle lipid peroksidasyonunun önlenmesinde ve hücrel redoks dengesinin sürdürülmesinde kritik bir rol oynar (Karabulut ve Gülay, 2016). Memelilerde bilinen 8 izoformu vardır. En yaygın olanı GPx1, sitoplazma'da yer alır (Brigelius-Flohe ve Flohe, 2020). Diğer izoformlar (GPx2, GPx3, GPx4...) farklı dokularda spesifik görevler üstlenir. Beytur L. ve ark. yaptığı deneysel çalışmalarda yüksek doz ve uzun süreli favipiravir uygulaması sonrasında GPx, SOD, CAT gibi enzimlerin düzeylerinde anlamlı azalmalar tespit edilmiştir (Beytur ve ark., 2023). Bu değişikliklerin artan oksidatif stresin göstergesi olduğu sonucuna varmışlardır.

2.6.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Hücrelerde oluşan zararlı süperoksit radikallerini ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüştürmek suretiyle detoksifiye eden önemli bir antioksidan enzimdir. SOD enzimleri içerdikleri metal kofaktörlere göre sınıflandırılmakta olup; sitozolde bulunan Cu/Zn-SOD (SOD1), mitokondride yer alan Mn-SOD (SOD2) ve ekstraselüler bölgede bulunan EC-SOD (SOD3) olmak üzere üç temel izoformu bulunmaktadır (Zelko ve ark., 2002). Rosen ve ark yaptığı çalışmada, SOD1 genindeki mutasyonların amiyotrofik lateral skleroz (ALS) ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır (Rosen ve ark., 1993). Düşük SOD aktivitesinin, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde yer aldığı bildirilmektedir (Younus, 2018). Famurewa ve arkadaşlarının çinko takviyesinin sıçanlarda siklofosfamidin indüklediği ürotoksisiteye olan etkisini araştırdığı çalışmada SOD seviyelerinin, CAT ve GPx aktivitelerinin azaldığı ve bu bulgular eşliğinde siklofosfamidin ürotoksisitesinin oksidatif stres kaynaklı olduğu sonucuna varmışlardır (Famurewa ve ark., 2021).

2.6.1.3. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT), hücre içi hidrojen peroksit (H_2O_2), su (H_2O) ve moleküler oksijen (O_2) bileşiklerine parçalayarak hücre içi redoks dengesinin korunmasına katkı sağlayan önemli bir antioksidan enzimdir. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde mevcut olup peroksizomlarda yoğun olarak bulunur (Chelikani ve ark., 2004). CAT, SOD ve GPx gibi enzimlerle birlikte çalışarak serbest radikal kaynaklı oksidatif reaksiyonları önlemekte etkilidir. Bu enzimdeki genetik mutasyonlar ya da aktivite azlığı, hücrelerde hidrojen peroksit birikimine neden olarak lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonunu tetikleyebilir. CAT aktivitesindeki bozulmalar; diyabet, kanser, Alzheimer hastalığı ve yaşa bağlı dejeneratif süreçler gibi birçok patolojik durumla ilişkilendirilmiştir (Kirkman ve Gaetani, 2007).

2.6.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (GR), hücre içi antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olan glutasyon sisteminin işlevselliğini sürdüren flavoprotein yapısında bir enzimdir. Bu enzim, oksitlenmiş glutasyon (GSSG)'u, yeniden indirgenmiş glutasyon (GSH) formuna dönüştürerek hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasını sağlar. GR, bu dönüşüm

sırasında NADPH'ı elektron kaynağı olarak kullanır. GSH/GSSG oranı, hücrel redoks durumunun önemli bir göstergesi olup, GR'nin aktivitesi bu dengeyi belirlemede kritik rol oynar. GR'nin yetersizliği veya inhibisyonu durumunda, hücre içi GSH düzeyleri azalır, GSSG birikir ve böylece hücreler oksidatif stresin zararlı etkilerine daha açık hale gelirler (Meister ve Anderson, 1983). GR'nin özellikle karaciğer, böbrek ve eritrositlerde yoğun olarak bulunduğu; oksidatif stresin yoğun olduğu durumlarda ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Brigelius-Flohé ve Maiorino, 2013). Bu nedenle, GR aktivitesi birçok dejeneratif hastalık, kanser, diyabet ve yaşlanma ile ilişkili süreçlerde önemli bir biyokimyasal belirteç olarak değerlendirilmektedir.

2.6.2. Non Enzimatik Antioksidanlar

Non-enzimatik antioksidanlar arasında glutatyon (GSH), vitamin E (alfa-tokoferol), vitamin C (askorbik asit), β -karoten, flavonoidler, ürik asit ve melatonin gibi biyoaktif moleküller yer alır (Pizzino ve ark., 2017). GSH, hem doğrudan serbest radikallerle reaksiyona girerek hem de glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin substratı olarak görev yapar (Lu Sc ve ark., 2013). Vitamin C, suda çözünebilen güçlü bir antioksidan olup, lipid peroksidasyonunu önlemede dolaylı etkilidir (Carr ve ark., 1999). Vitamin E, hücre membranlarının zar bütünlüğünü korumada önemli rol oynar (Brigelius-Flohé ve ark., 1999). Flavonoidler ve polifenoller gibi bitkisel kaynaklı moleküller, metal iyonlarını şelatlama, serbest radikal süpürme ve oksidatif zincir reaksiyonlarını durdurma gibi mekanizmalarla oksidatif hasarı sınırlarlar (Pizzino ve ark., 2017).

2.6.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan hücre içi konsantrasyonu fazla olan bir tripeptittir (Beutler ve ark., 1963). GSH, tiyol indirgenmiş (GSH) ve disülfid oksitlenmiş (GSSG) olmak üzere iki formda bulunur (Kaplowitz ve ark., 1985). Tiyol indirgenmiş GSH, tGSH'nin %95'inden fazlasını oluşturan formdur (Lu, 2013). GSH, hücre içinde bir yandan sürekli olarak yıkıma uğrarken, bir yandan da yeniden sentezlenir. Bu metabolik aktivite γ -glutamil siklusu olarak tanımlanmaktadır (Jendryazko ve ark., 1993). γ -Glutamil siklusu, aminoasitlerin hücre içine taşınmasında rol alır. GSH'ın vücutta bilinen birçok fonksiyonu mevcuttur. γ -Glutamil siklusu sayesinde glutatyon ekstraselüler aminoasitleri hücre içerisine taşıma görevini üstlenir

(Türkmen ve ark., 1996). GSH, ayrıca vücutta antioksidan savunma, çeşitli enzimlerin aktivasyonu ve inaktivasyonu, hücre siklusu ve apoptozis aşamasında, bağışıklık sisteminde düzenleyici roller üstlenir (Lu, 2013; Karabulut ve ark., 2016).

2.6.2.2. Vitamin E (Alfa-Tokoferol)

E vitamini (Alfa-Tokoferol), yağda çözünen bir vitamin olup önemli ekzojen antioksidanlardan biridir. E vitamini doğal olarak kuruyemişlerde, yeşil sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunur. Hücre zarındaki lipid bileşenleri oksidatif hasara karşı korumakta önemli rol oynar. E vitamini, özellikle serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonunu engelleyerek hücre zarının membran bütünlüğünü korumasına yardımcı olur (Niki ve ark., 2014). Bu antioksidan özelliği sayesinde yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve bazı kanser türleri gibi oksidatif stresle ilişkili birçok hastalığın patogenezinde koruyucu etki gösterebilir.

2.6.2.3. Vitamin C (Askorbik Asit)

Vitamin C (askorbik asit), suda çözünebilir güçlü bir antioksidan olup, vücutta oksidatif hasara karşı önemli bir savunma mekanizması oluşturur. Elektron verici özelliği sayesinde süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\cdot OH$), peroksil radikali ($ROO\cdot$) ve singlet oksijen (1O_2) gibi ROS'ları doğrudan nötralize edebilir (Carr ve ark., 1999; Padayatty ve ark., 2003). Ayrıca askorbik asit, diğer antioksidanların indirgenmiş formlarını yenileyerek sinerjik bir antioksidan etki de gösterir (Frei ve ark., 1989). Vitamin C'nin bu özelliği, hücre zarlarının lipid bileşenlerini oksidatif zarara karşı dolaylı olarak korur. Aynı zamanda pro-oksidan özellik gösteren geçiş metallerinin (örneğin Fe^{2+} ve Cu^{2+}) serbest formunu bağlayarak Fenton reaksiyonlarını inhibe eder ve hidroksil radikali oluşumunu engeller (Halliwell ve ark., 2015). Vitamin C düzeylerindeki azalma, oksidatif stres düzeyinin artması ile ilişkili bulunmuştur. Vitamin C eksikliğine bağlı gelişen bu oksidatif stresin kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, inflamatuvar hastalıklar ve bazı nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Jacob ve Sotoudeh, 2002). Askorbik asit, hücrel redoks dengesinin korunması ve oksidatif stresin biyokimyasal belirteçlerinin azaltılması açısından kritik öneme sahiptir.

2.6.2.4. β -Karoten

Beta-karoten, A vitamininin (retinol) provitamini olan lipofilik özellikte bir karotenoiddir. Vücutta A vitaminine dönüşebilme yeteneği dışında, serbest radikalleri etkisizleştirme kapasitesi sayesinde önemli bir antioksidan bileşen olarak görev yapar. Lipofilik yapısı sayesinde membranların içinde ve lipoproteinlerdeki serbest radikalleri temizleme görevi görür (Niki ve ark., 1995). Beta-karoten, özellikle sarı, turuncu ve koyu yeşil renkli sebze ve meyvelerde yoğun bulunur.

2.6.2.5. Flavonoidler

Fenolik yapıya sahip bir grup doğal madde olan flavonoidlerin kaynağı meyve, sebze, tahıl, çay ve şaraptır. Antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-mutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinin yanı sıra, hücrel enzim fonksiyonlarında rol alırlar (Panche ve ark., 2016). Ksantin oksidaz (XO), siklooksijenaz (COX), lipoksijenaz ve fosfoinozimid 3-kinaz enzimlerinin inhibitörü olarak görev alırlar (Hayashi ve ark., 1988; Walker ve ark., 2000).

2.6.2.6. Ürik Asit

Ürik asit, pürin nükleotidlerinin (adenin ve guanin) katabolizması sonucu oluşan son üründür ve başlıca karaciğer ve ince bağırsak hücrelerinde sentezlenir. Vücutta en yüksek konsantrasyonda bulunan non-enzimatik antioksidanlardan biridir. Özellikle kan plazmasında, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi reaktif türleri nötralize edebilir (Becker ve ark., 1993). Antioksidan etkisi sayesinde oksidatif stresin azaltılmasında rol oynar ve serbest radikallerin neden olduğu hücrel hasarın önlenmesine katkı sağlar (Ames ve ark., 1981). Bununla birlikte, hiperürisemi mevcutsa antioksidan etkiden ziyade pro-oksidan ve inflamatuvar etkilere yol açarak gut artriti, böbrek taşı, kardiyovasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir.

2.6.2.7. Melatonin

Melatonin, epifiz bezinden salgılanan ve başta sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde görev alan bir hormondur. Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar melatoninin güçlü bir antioksidan molekül olduğunu da ortaya koymuştur. Melatonin hem lipofilik hem de

hidrofilik ortamlarda etkili olması sayesinde, hücrede ROS'ları doğrudan etkisiz hâle getirebilir (Reiter ve ark., 2000). Ayrıca melatonin SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırarak endojen antioksidan savunma sistemini destekler. Diğer bazı antioksidanlardan farklı olarak melatonin ve metabolitleri, radikal nötralizasyon zincirine devam ederek “radikal süpürücü kaskad” etkisi gösterir (Tan ve ark., 2002). Bu özellikleriyle melatonin, oksidatif stresin neden olduğu apoptoz, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu gibi süreçlerin baskılanmasında önemli bir rol oynar.

2.7. Oksidanlar

Oksidanlar, biyolojik sistemlerde oluşan reaktif bileşikler olup, hücresel yapılar üzerinde hasara neden olabilecek potansiyele sahiptirler. Oksidatif stresin belirteçleri arasında yer alan malondialdehit (MDA) ve miyeloperoksidaz (MPO), lipid peroksidasyonu ve inflamatuvar yanıtların saptanmasında kullanılan iki önemli parametredir. MDA VE MPO, oksidatif hasarın düzeyini değerlendirmek açısından büyük önem taşır.

2.7.1. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle başlattığı lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan üç karbonlu reaktif bir aldehit olup, oksidatif stresin en yaygın ve toksik son ürünlerinden biridir (Del Rio ve ark., 2005; Ayala ve ark., 2014). MDA, hücre zarında bulunan çoklu doymamış fosfolipidlerin lipid peroksidasyonu sürecinde oluşan reaktif bir aldehit türevidir. Oluşan MDA, hücrenin temel bileşenlerinden olan proteinler, nükleik asitler ve enzimlerle kovalent bağlar oluşturarak biyomoleküler düzeyde hasara yol açabilir (Esterbauer ve ark., 1991). Bu özellikleri nedeniyle MDA, oksidatif stresin neden olduğu hücresel hasarın biyokimyasal belirteci olarak kabul edilmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalar, MDA'nın artmış düzeylerinin dejeneratif hastalıklar, inflamatuvar durumlar, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (Marnett, 1999; Dalle-Donne et al., 2006). Bu bağlamda MDA, oksidatif stresin varlığı ve şiddetinin değerlendirilmesinde sıkça kullanılan bir parametre haline gelmiştir. Deneysel çalışmalarda doku ve serumda artmış MDA seviyeleri, serbest radikal kaynaklı lipid peroksidasyonunun dolaylı bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Nitekim, Albano ve arkadaşları, parasetamol ile indüklenen hepatotoksisite modelinde hepatositlerde

oluşan oksidatif hasarı değerlendirirken MDA seviyelerini ölçmüş ve bu değerin lipid peroksidasyonunun spesifik bir göstergesi olduğunu vurgulamışlardır (Albano ve ark., 2004).

2.7.2 Myeloperoksidaz (MPO)

Miyeloperoksidaz (MPO), esas olarak nötrofillerin azurofil granüllerinde bulunan hem içeren bir enzimdir (Klebanoff, 2005). MPO inflamatuvar yanıt sırasında aktive edilen nötrofillerden salınır. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile klorür iyonlarını (Cl^-) kullanarak hipokloröz asit (HOCl) gibi son derece reaktif oksidan türlerinin oluşumunu katalizler. Bu güçlü oksidanlar, patojen mikroorganizmaların öldürülmesinde etkilidir. HOCl çok fazla üretildiğinde hücre zarında lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA hasarı ve kronik inflamasyon gibi zararlı etkilere yol açar (Klebanoff, 2005). HOCl'nin aşırı üretiminde olduğu gibi MPO'nun aşırı aktivasyonu da, çevre dokularda oksidatif doku hasarına ve kronik inflamasyona yol açabilir. Nicholls ve arkadaşlarının 2005 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, artmış MPO düzeyleri ile MPO kaynaklı oksidan metabolitlerin, aterosklerotik plak oluşumu ve plak ilerlemesi süreçlerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Nicholls et al., 2005). Bu bulgular, MPO'nun yalnızca bir inflamasyon belirteci değil, aynı zamanda ateroskleroz patogenezinde aktif rol oynayan bir faktör olduğunu ortaya koymuştur. Klinik çalışmalar da yüksek MPO düzeylerinin, kardiyovasküler hastalıkların gelişimi açısından güçlü bir prediktif biyobelirteç olduğunu desteklemektedir. Bu nedenle MPO, yalnızca patolojik sürecin bir parçası değil, aynı zamanda erken tanı ve risk değerlendirmesinde de kullanılabilecek önemli bir göstergedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda kullanılacak olan hayvanlar Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deney için ağırlıkları 280-290 gram arasında değişen toplam 24 adet albino Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Deneyler, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarlarında yapılmıştır. Sıçanlar, ortama alışabilmeleri için deneyden yedi gün önce, gruplar halinde barındırılmış, $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü ve $\% 50 \pm 20$ nem oranına sahip bir laboratuvar ortamında tel kafeslerde tutulmuştur. Bu süre içerisinde sıçanlar normal musluk suyu ve pelet yem ile beslendi.

3.2. 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: 28.09.2023 Oturum Saati: 15.00; Oturum Sayısı: 2023/09 Karar No: 33; Sayı: E-85748827-804.99-298118).

3.3. 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, Sağlık Bakanlığına bağlı Erzincan Mengücekgazi Eğitim ve Araştırma Hastanesinden (Türkiye) temin edildi.

3.4. Deney Grupları

Toplam 24 adet sıçan, her grupta altışar hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı:

1. Sağlıklı grup (SG)
2. 100 mg/kg favipiravir verilen grup (FAV-100)
3. 200 mg/kg favipiravir verilen grup (FAV-200)
4. 400 mg/kg favipiravir verilen grup (FAV-400)

3.5. Deney Prosedürü

Deneyin tatbiki için FAV-100 (n=6),FAV-200 (n=6) ve FAV-400 (n=6) hayvan gruplarına sırası ile Favipiravir 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarda oral yoldan sonda ile mideye verildi. SG (n=6) grubuna ise distile su oral yoldan (1ml) aynı yöntemle uygulandı. Bu prosedür günde iki kez bir hafta boyunca tekrarlandı.Bu süre sonunda, hayvanlar yüksek doz (50 mg/kg) tiopental anestezisi ile öldürüldü ve mesane dokuları çıkartıldı. Çıkarılan mesane dokularında MDA, tGSH, TOS ve TAS düzeyleri ölçüldü. SOD ve CAT enzimlerinin aktivitesi ölçüldü. Dokular histopatolojik olarak incelendi. Tüm gruplardan elde edilen veriler gruplar arasında karşılaştırma yapılarak değerlendirildi. Mesane doku örnekleri analiz zamanına kadar -80 °C’de saklandı.

3.6. Kullanılan Alet ve Kimyasal Maddeler

Deneyde kullanılan Cihazlar Tablo 3.6.1’de ve Kimyasal Maddeler Tablo 3.6.2’de sunulmuştur.

Tablo 3.6.1. Kullanılan Cihazlar ve Firma Listesi

Cihazlar	Firma
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 (Vortex)	Velp Scientifica
Otomatik pipet	Dragon Lab
Spektrofotometre	Multiskan Skyhigh

Tablo 3.6.2. Kullanılan Kimyasalların Listesi

Kimyasal Madde	Firma
Favipiravir (tablet)	Sağlık Bakanlığı
Tiyopental sodyum (flakon)	IE ULAGAY
Potasyum fosfat monobasic	SIGMA
Potasyum fosfat dibasic	SIGMA
Potasyum klorür	SIGMA
Hidroklorik asit	SIGMA
Sodyum hidroksit	SIGMA
MDA Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory
tGSH Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory
SOD Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory
CAT Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory
TOS Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory
TAS Analiz kiti BT LAB	Bioassay Technology Laboratory

3.7. Mesane Dokusunun Biyokimyasal Analizi

Deneyin analizi için mesane dokularından homojenatlar hazırlandı. Hazırlanan bu homojenatlardan süpernatantlar elde edildi. Elde edilen süpernatantlarda MDA, tGSH, TOS, TAS miktarları, SOD ve CAT enzim aktivitesi analiz kitleri kullanılarak saptandı.

3.8. Numunelerin Hazırlanması

Öncelikle potasyum fosfat monobasic ve potasyum fosfat dibasic ile 50 mM (pH=7.2) tampon karışımı hazırlandı. Daha sonra tüm dokular tek tek tartıldı. Tartılan dokular sıvı azot (nitrojen) eklenerek havanda hızlı bir şekilde öğütüldü. Öğütülen dokular eppendorf tüplerine alınarak dolapta buz içerisinde bekletildi. Bu işlemin ardından, her

bir pipette bulunan dokulara tampon karışımından eklendi. Her bir dokunun ağırlığı kadar tampon çözeltisi ilave edildi ve homojenatlar hazırlandı. Bütün dokular +4 °C'de 15000 Rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası tüm dokulardan süpernatantlar alındı ve -80 °C de buzdolabında saklandı. Daha sonra elde edilen süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı.

3.9. Biyokimyasal Parametrelerin Tayini

3.9.1. Malondialdehit Tayini (MDA)

MDA ölçümünde Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kiti kullanıldı. Numuneye MDA eklenerek antikorlara bağlanması sağlandı. Biotinile edilen Rat MDA antikoruna eklenerek numunedeki MDA ile birleşmesi sağlandı. Daha sonra Streptavidin-HRP eklendi ve biyotinile Rat MDA ile bağlandı. İnkübasyon sırasında bağlanmayan Streptavidin-HRP yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Tekrar substrat solüsyon eklendi ve MDA miktarıyla doğru orantılı olarak oluşan renk değişimi izlendi. Asidik solüsyon eklenip tepkime sonlandırıldıktan sonra absorbans 450 nm'de ölçüldü. MDA düzeyi (nmol/g doku) BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti (CAT No: E0156Ra) ile ölçülmüştür.

3.9.2. Total Glutasyon Tayini (tGSH)

Rat ELISA kitindeki kuyulara numuneler eklendi. Sonra biyotinile edilmiş antijen eklendi ve inkübasyona bırakıldı. Bağlanmayan antijenler yıkama ile uzaklaştırıldı. İnkübasyonun ardından Avidin-HRP eklendi. Bağlanmayan Avidin-HRP de yıkama ile uzaklaştırıldı. TMB substratı eklenerek renk gelişimi sağlandı. Tepkime asidik çözelti eklenerek sonlandırıldı ve sarı renge dönüşen absorbans 450 nm'de ölçüldü. tGSH düzeyi (nmol/g doku). BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti (CAT No: EA0113Ra) ile bulunmuştur.

3.9.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Tayini (SOD)

Rat SOD antikoruna ile kaplı olan SOD ELISA Kitine SOD eklendi ve antikorlarla bağlandı. Daha sonra biyotinile edilmiş Rat TOS Antikoru eklendi ve numunedeki SOD'a bağlanır. Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinile Rat SOD antikoruna bağlanır. İnkübasyon sırasında bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkanma adımıyla uzaklaştırılır.

Daha sonra bir substrat çözeltisi eklenir ve Rat SOD miktarıyla doğru orantılı olarak renk gelişimi meydana gelir. Tepkime asidik çözelti eklenerek sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür. SOD aktivitesi (U/g doku) BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti (CAT No: E0168Ra) ile saptanmıştır.

3.9.4. Katalaz Aktivitesinin Tayini (CAT)

Sıçanlar için üretilmiş olan CAT ELISA kiti (BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti) 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 mikropilaya 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 aktivitesi, numunelerin OD'sinin standart eğriyle karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir.

3.9.5. Total Oksidan Status Tayini (TOS)

Bu analizde kullanılan TOS ELISA Kiti Rat TOS antikoruna ile kaplıdır. Numunede bulunan TOS antikorlara bağlanır. Ardından biyotinile edilmiş Rat TOS Antikoru eklenir ve numunedeki TOS'a bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinile Rat TOS antikoruna bağlanır. İnkübasyon sırasında bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkanma adımıyla uzaklaştırılır. Daha sonra bir substrat çözeltisi eklenir ve Rat TOS miktarıyla doğru orantılı olarak renk gelişimi meydana gelir. Tepkime asidik çözelti eklenerek sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür. TOS düzeyi (nmol H₂O₂/gr doku) BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti (CAT No: E1512Ra) ile ölçülmüştür.

3.9.6. Total Antioksidan Status Tayini (TAS)

Bu analizde kullanılan TAS ELISA Kiti Rat TOS antikoruna ile kaplıdır. Numunede bulunan TAS antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinile edilmiş Rat TAS Antikoru

eklenir ve numunedeki TAS'a bağlanır. Daha sonra Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinile Rat TAS antikoruna bağlanır. İnkübasyon sırasında bağlanmamış Streptavidin-HRP yıkanma adımıyla uzaklaştırılır. Daha sonra bir substrat çözeltisi eklenir ve Rat TAS miktarıyla doğru orantılı olarak renk gelişimi meydana gelir. Tepkime asidik çözelti eklenerek sonlandırılır ve absorbans 450 nm'de ölçülür. TAS düzeyi ($\mu\text{mol TroloxEquiv/gr doku}$) BT Lab Zhejiang/Çin ELISA kiti (CAT No: E1710Ra) ile hesaplanmıştır.

3.10. Histopatolojik Analizler

Mesane doku örnekleri 72 saat boyunca %10 formaldehit ile fikse edilmiş, 24 saat boyunca çeşme suyu ile yıkanmış, fiksasyon işlemini takiben doku örnekleri 24 saat boyunca kasetlerde akan su altında yıkanmıştır. Örnekler daha sonra dokulardaki suyu uzaklaştırmak için değişen alkol dereceleriyle (%70, %80, %90 ve %100) muamele edilmiştir. Dokular daha sonra ksilolden geçirilmiş ve parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan 4-5 mikronluk kesitler alınmış ve hematoksilin-eozin (H & E) (Bancroft ve Gamble 2008) boyaması uygulanmıştır. Kesitler DP2-SAL firmware programı ve bir ışık mikroskobu (Olympus Inc., Tokyo, Japonya) kullanılarak fotoğraflanıp ve değerlendirilmiştir. Alınan seri kesitlerden semikantitatif skorlama için bir merkezi ve beş periferik alan seçilmiş ve her örnek için seçilen alanlarda dejenerasyon kriterleri skorlanmıştır. Mesane doku hasarı transizyonel epitel dejenerasyonu, dilate ve konjeste kan damarları, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem varlığı olarak tanımlanmıştır. Her örnekte her kriter için şu şekilde puanlanmıştır: 0, hasar olmadığını gösterir; 1, hafif hasar; 2, orta hasar; 3, ciddi hasar olduğunu gösterir. Histopatolojik değerlendirme ve skorlama, deney gruplarına kör olan bir patolog tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.11. İstatistiksel Analizler

Bütün istatistiksel veriler için IBM SPSS 22.0 (IBM Corp. Released 2013. Armonk, NY), grafikler için “GraphPad Prism 9” program kullanılmıştır. Biyokimyasal analizlerde grupların normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Veriler normal dağılım gösterdiğinden ve grup sayısı ikiden fazla olduğu için analizde one-way ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farkı belirlemek için ileri analizde Tukey HSD testi tercih edilmiştir. Deneylerden elde edilen

biyokimyasal sonuçlar “ortalama değer $\pm$ standart sapma” ($\bar{x} \pm SD$) olarak ifade edilmiştir. Ayrıca $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.

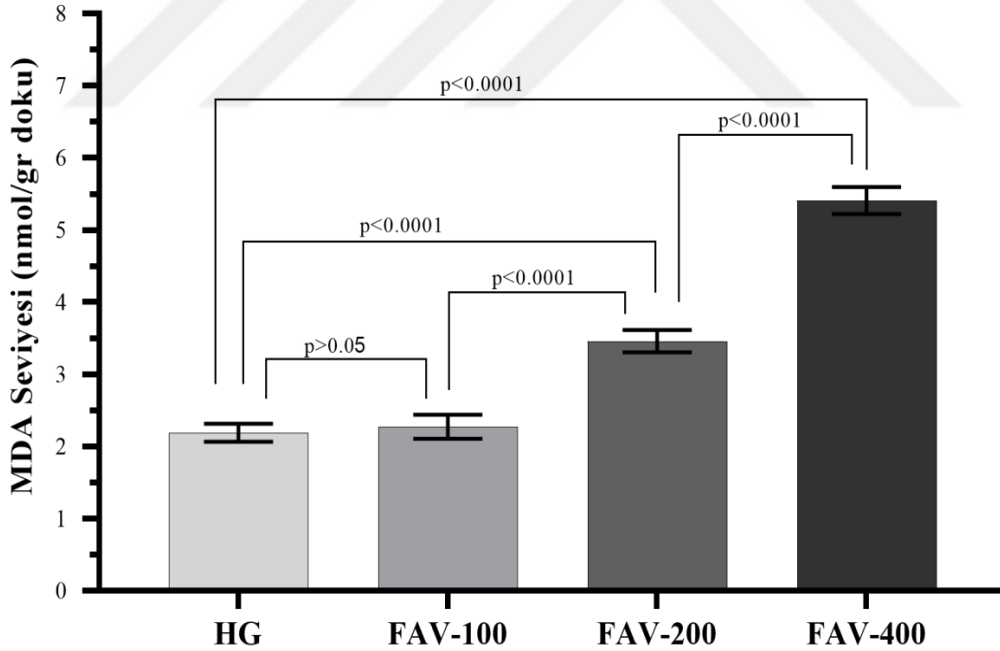


4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. MDA Analiz Sonuçları

Şekil 4.1 ve Tablo 4.1.'de görüldüğü üzere favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında MDA seviyesi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$). FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). MDA seviyeleri HG grubunda $2,19\pm0,12$ nmol/ gr doku iken FAV-100 grubunda $2,28\pm0,17$ nmol/ gr doku, FAV-200 grubunda $3,45\pm0,15$ nmol/ gr doku ve FAV-400 grubunda $5,41\pm0,19$ nmol/ gr doku olarak bulunmuştur.

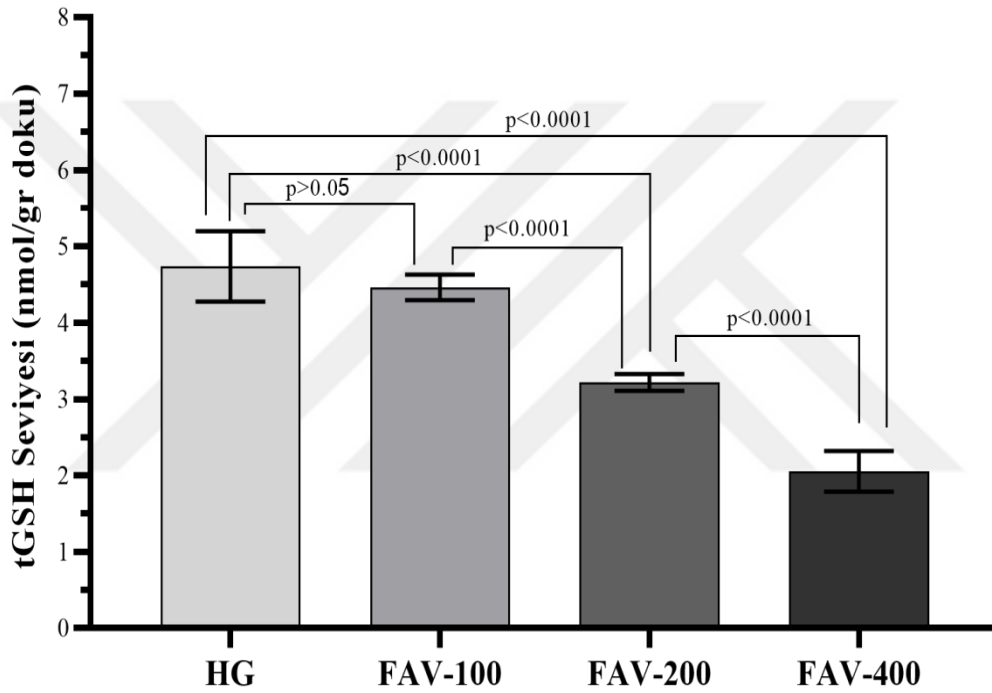


Şekil 4. 1. Sıçanların Mesane Dokularındaki MDA Seviyesi

MDA: Malondialdehit, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV-200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar "Ortalama $\pm$ Standart sapma" olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.0001$ ifade etmektedir, (N=6).

4.1.2. tGSH Analiz Sonuçları

Şekil 4.2 ve Tablo 4.1 'de favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında tGSH seviyesi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$). FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). tGSH seviyeleri HG grubunda $4,57\pm0,09$ nmol/ gr doku, FAV-100 grubunda $4,46\pm0,17$ nmol/ gr doku, FAV-200 grubunda $3,22\pm 0,11$ nmol/gr doku ve FAV-400 grubunda ise $2,05\pm0,27$ nmol/ gr doku olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 2. Sıçanların Mesane Dokularındaki tGSH Seviyesi

tGSH: Total Glutasyon, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV-200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar "Ortalama $\pm$ Standart sapma" olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.0001$ ifade etmektedir, (N=6).

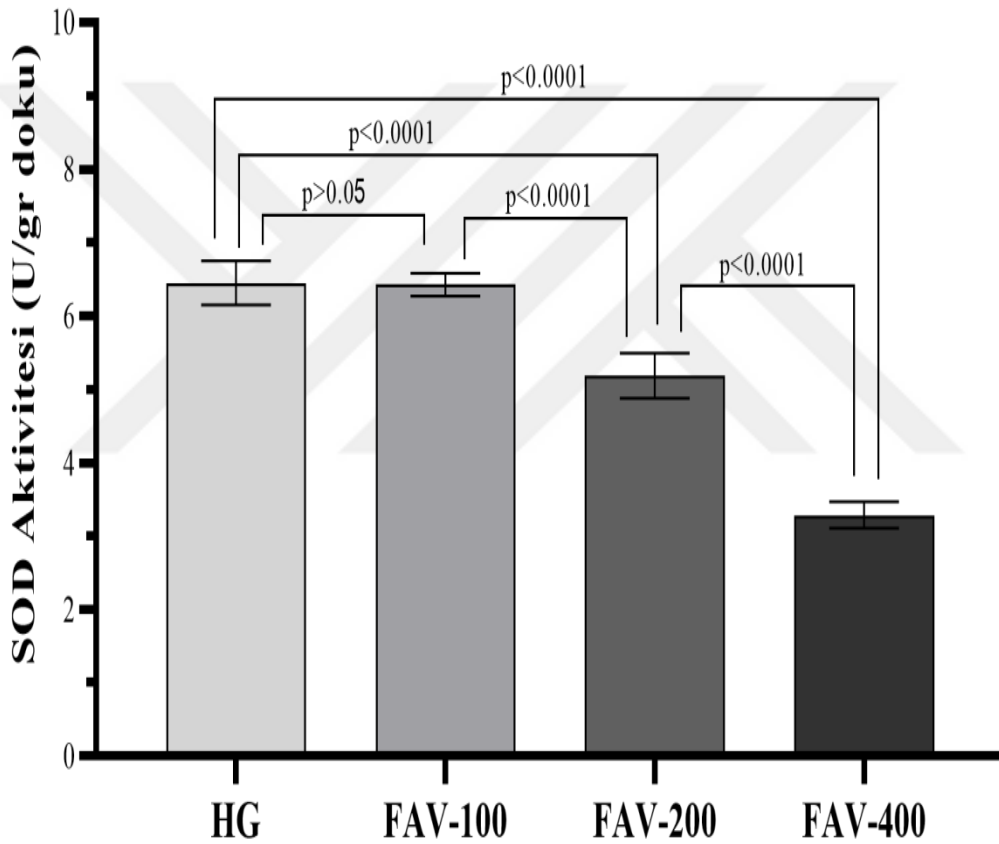
Tablo 4.1. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

DEĞİŞKENLER		MDA	tGSH	SOD	CAT	TOS	TAS
		(nmol/g doku)	(nmol/g doku)	(U/g doku)	(U/g doku)	(nmol H ₂ O ₂ /g doku)	(μmol TroloxEqui v/g doku)
Gruplar	HG	2.19±0.12 ^a	4.57±0.09 ^a	6.45±0.30 ^a	6.53±0.24 ^a	7.55±0.14 ^a	8.39±0.26 ^a
	FAV-100	2.28±0.16 ^a	4.46±0.17 ^a	6.42±0.16 ^a	6.30±0.15 ^a	7.34±0.31 ^a	8.17±0.24 ^a
	Ortalama (X±SD)	3.45±0.15 ^b	3.22±0.11 ^b	5.19±0.31 ^b	5.34±0.17 ^b	8.52±0.33 ^b	7.10±0.36 ^b
	FAV-400	5.41±0.19 ^c	2.05±0.27 ^c	3.29±0.18 ^c	3.34±0.44 ^c	9.97±0.29 ^c	5.22±0.35 ^c
CI 95%	En düşük	2,06	4,4	6,13	6,29	7,4	8,11
	En yüksek	2,32	4,75	6,76	6,79	7,7	8,66
	Ortalama	2,1	4,29	6,26	6,14	7,02	7,92
	FAV-100 En düşük	2,45	4,64	6,6	6,46	7,67	8,43
	FAV-100 En yüksek	3,3	3,1	4,86	5,15	8,17	6,72
	FAV-200 En düşük	3,62	3,33	5,51	5,52	8,87	7,47
	FAV-200 En yüksek	5,21	1,77	3,1	2,89	9,67	4,85
	FAV-400 En düşük	5,6	2,33	3,48	3,8	10,28	5,59

a, b ve c diğer gruplarla kıyaslandığında $p < 0.001$. SG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV-200: Favipiravir 200 mg/kg, FAV-400: Favipiravir 400 mg/kg. MDA: Malondialdehit, tGSH: Total Glutasyon, SOD: Superoksit Dismutaz, TOS: Total Oksidan Status, TAS: Total Antioksidan Status, CAT: Katalaz, CI: Güven aralığı, X: Ortalama, SD: Standart Sapma. ANOVA testinden sonra Post-hoc olarak Tukey HSD yapılmıştır.

4.1.3. SOD Analiz Sonuçları

Şekil 4.3 ve Tablo 4.1'e göre, favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında SOD aktivite düzeyi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$). FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). HG grubundaki SOD aktivitesi $6,45\pm0,3$ U/gr doku iken; FAV-100 grubunda $6,43\pm0,16$ U/gr doku olmuştur. SOD aktivitesi FAV-200 grubunda $5,19\pm0,31$ U/gr doku, FAV-400 grubunda ise $3,29\pm0,18$ U/gr doku olarak hesaplanmıştır.

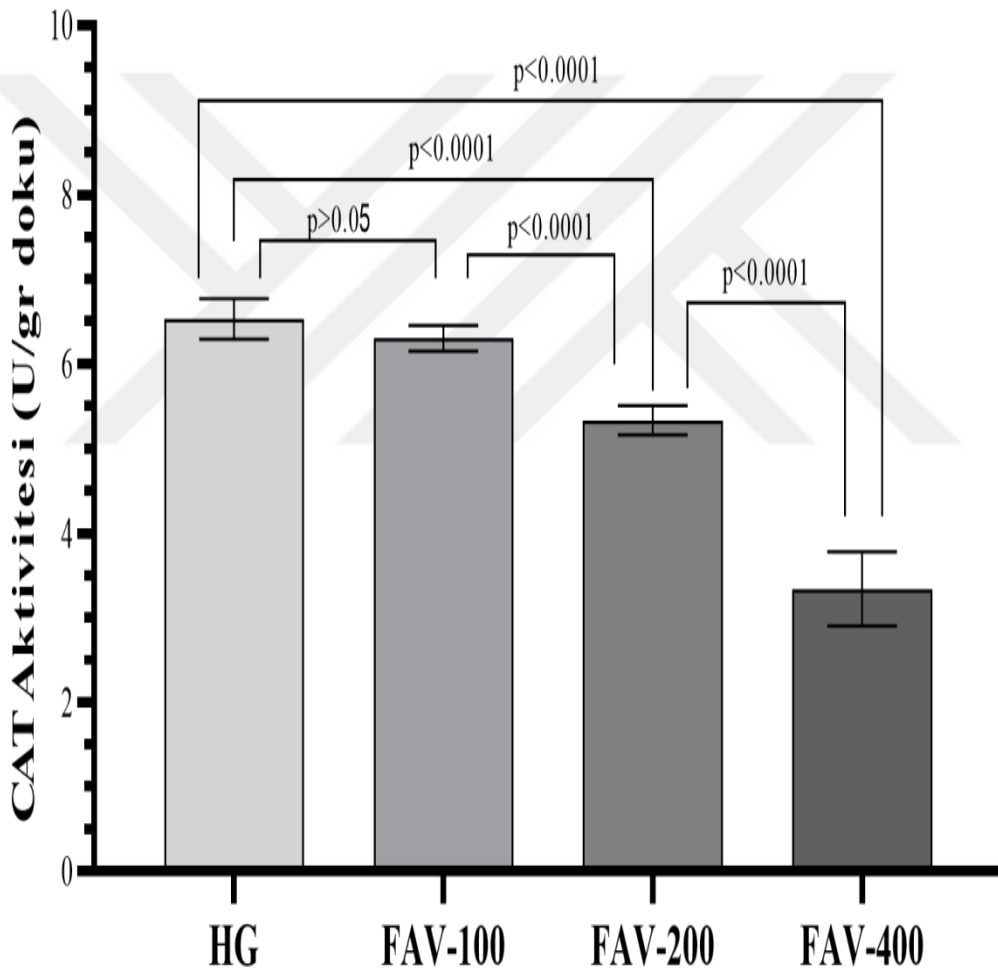


Şekil 4. 3. Sıçanların Mesane Dokularındaki SOD Aktivitesi

SOD: Süperoksit Dismutaz, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV-200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar "Ortalama $\pm$ Standart sapma" olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.001$ ifade etmektedir, (N=6).

4.1.4. CAT Analiz Sonuçları

Şekil 4. 4 ve Tablo 4. 1'e göre, favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında CAT aktivite düzeyi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$). FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). HG grubundaki CAT aktivitesi $6,53\pm0,24$ U/gr doku iken; FAV-100 grubunda $6,35\pm0,16$ U/gr doku olmuştur. CAT aktivitesi FAV-200 grubunda $5,34\pm0,17$ U/gr doku, FAV-400 grubunda ise $3,34\pm0,44$ U/gr doku olarak hesaplanmıştır.

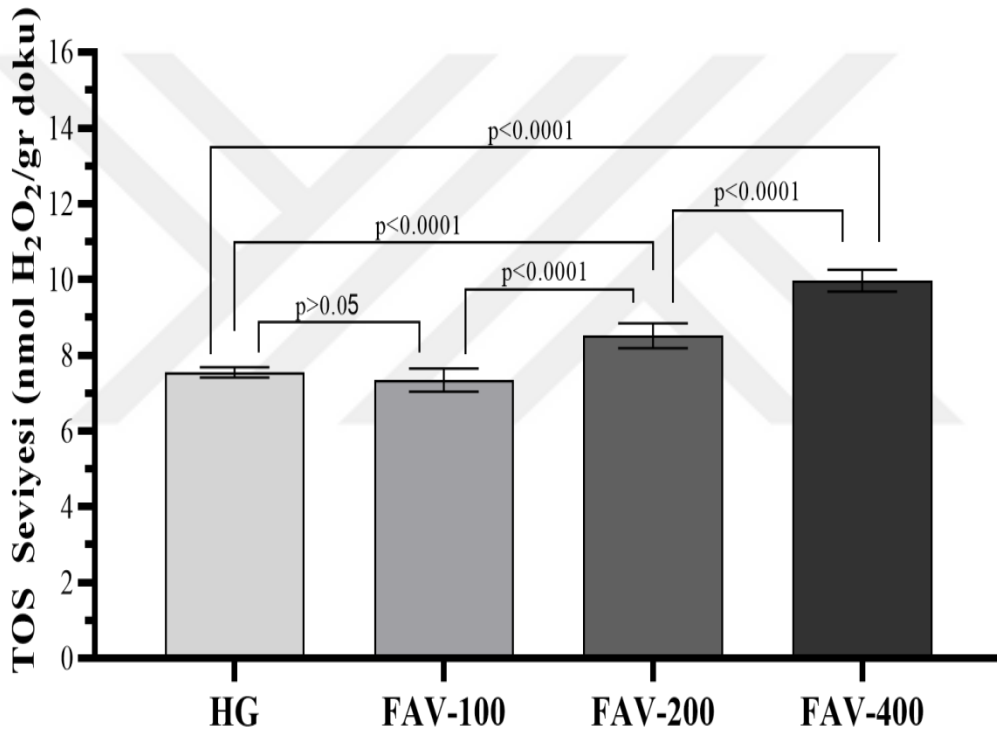


Şekil 4. 4. Sıçanların Mesane Dokularındaki CAT Aktivitesi

TAS: Total Antioksidan Status, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV- 200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar "Ortalama $\pm$ Standart sapma" olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.001$ ifade etmektedir, (N=6).

4.1.5. TOS Analiz Sonuçları

Şekil 4.5 ve Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi, favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında TOS seviyesi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$). FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). HG grubunda TOS $7,55\pm0,14$ nmol H_2O_2 /gr doku olurken; FAV-100 grubunda $7,34\pm0,31$ nmol H_2O_2 /gr doku olarak ölçülmüştür. FAV-200 grubunda $8,52\pm0,33$ nmol H_2O_2 /gr doku ve FAV-400 grubunda $9,98\pm0,29$ nmol H_2O_2 /gr doku olarak ölçülmüştür.



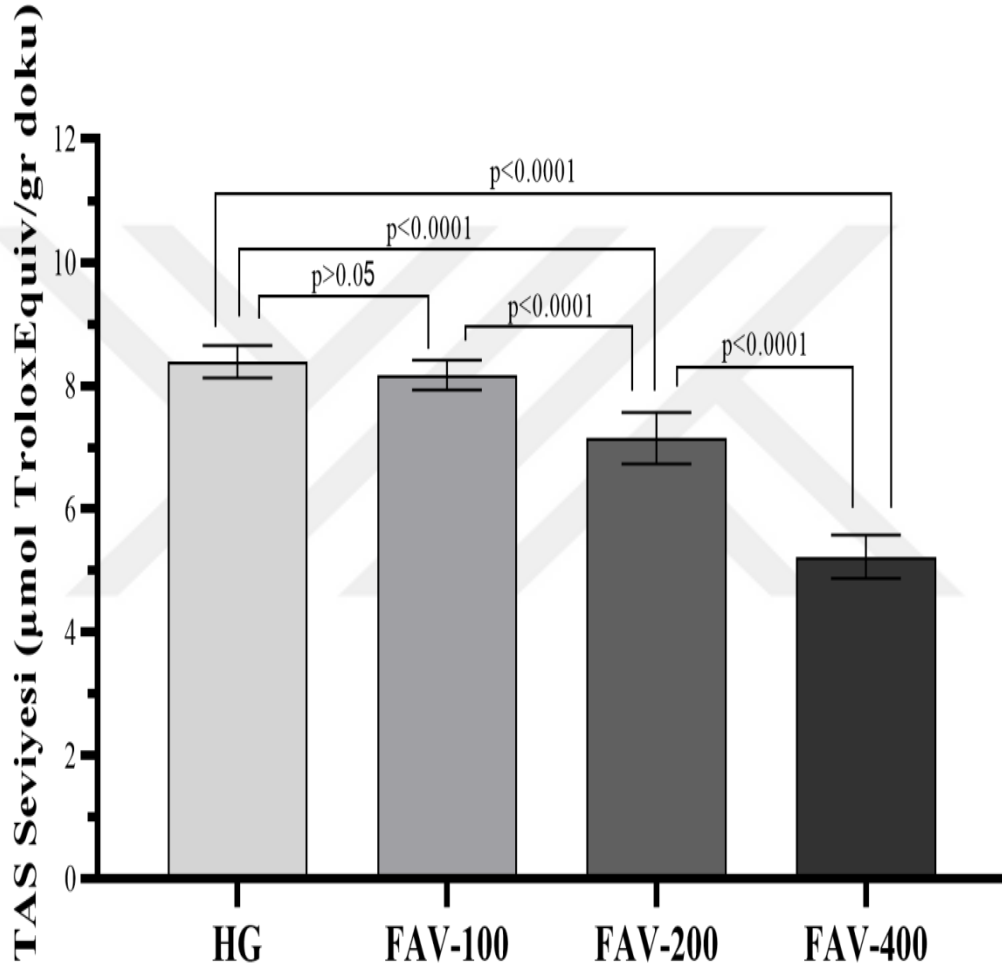
Şekil 4. 5. Sıçanların Mesane Dokularındaki TOS Seviyesi

TOS: Total Oksidan Status, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV- 200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar "Ortalama $\pm$ Standart sapma" olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.001$ ifade etmektedir, (N=6).

4.1.6. TAS Analiz Sonuçları

Şekil 4.6 ve Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi, favipiravir verilen FAV-200 ve FAV-400 gruplarında TAS seviyesi, HG 'ye göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p<0.001$).

FAV-100 grubu HG ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). HG grubunda TAS seviyeleri sırasıyla $8,39\pm0,26$ $\mu\text{mol TroloxEquiv/gr doku}$ olurken; FAV-100 grubunda $8,17\pm0,24$ $\mu\text{mol TroloxEquiv/gr doku}$ olarak ölçülmüştür. FAV-200 grubunda $7,1\pm0,36$ $\mu\text{mol TroloxEquiv/gr doku}$ ve FAV-400 grubunda $5,22\pm0,35$ $\mu\text{mol TroloxEquiv/gr doku}$ olarak ölçülmüştür.



Şekil 4. 6. Sıçanların Mesane Dokularındaki TAS Seviyesi

*TAS: Total Antioksidan Status, HG: Sağlıklı grup, FAV-100: Favipiravir 100 mg/kg, FAV- 200: Favipiravir 200 mg/kg, Favipiravir-400: Favipiravir 400 mg/kg. Sonuçlar “Ortalama $\pm$ Standart sapma” olarak ifade edildi. *, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.001$ ifade etmektedir, (N=6).*

4.2. Histopatolojik Bulgular

Mesane doku çalışmamızın histopatolojik incelemesinde mesane doku hasarı; transizyonel epitel dejenerasyonu, dilate ve konjeste kan damarları, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve ödem varlığı olarak tanımlanmıştır. Her örnekte her bir kriter için şu şekilde puanlanmıştır: 0, hasar olmadığını; 1, hafif hasar; 2, orta hasar; 3, şiddetli hasar olduğunu gösterir.

Sağlıklı grubun doku örneklerinde, çok katlı değişici mesane epitelinin (transizyonel epitel, ürotelyum), mukoza tabakasında izlenen lamina propria bağ doku alanları ve kas yapıları ile bu alanlardaki kan damarlarının normal yapılarda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).

FAV-400 gruba ait mesane dokularında ise küçük büyültmelerde yapılan incelemelerde, epitel dokusunun düzensiz olduğu, yer yer devamlılığını yitirip dökülmelerin mevcut olduğu ve nadir alanlarda eozinofilik materyal birikimlerin varlığı dikkat çekmektedir. Lamina propriada yer alan fibrillerin düzensiz olduğu ve bu alanların ödemli yapıda olduğu belirlenmiştir. Bağ doku ve kas dokusunun bulunduğu alanlardaki kan damarlarında da şiddetli dilatasyon ve konjesyon bulguları izlenmiştir (Şekil 4.8).

FAV-400 grubun büyük büyültmelerinde yapılan değerlendirmelerde ise mesane dokusu epitel tabakasında nekrotik alanların olduğu gözlenmiştir. Epitel hücrelerinde soluk boyanmış sitoplazmalı hipertrofik hücreler (nükleer atipi) izlenmiştir. Epitel altında devam eden bağ dokunun ödemli yapısı ve fibrillerdeki ayrılmalar oldukça belirgin izlenmiştir. Kan damarlarının çevresinde yoğun inflamatuvar hücrelerin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).

FAV 200 grubun doku örneklerinde, mesane epitelinin şiddetli gruba göre daha düzenli olduğu fakat hipertrofik hücrelerin varlığının orta şiddette devam ettiği görülmüştür. Mesane altında yer alan bağ doku alanlarında fibrillerin düzensizliği ve ödemli alanların orta düzeyde olduğu belirlenmiştir. Bu alanlardaki kan damarlarının orta şiddette dilate ve konjeste olduğu, şiddetli gruba göre inflamatuvar hücrelerin de orta seviyede bulunduğu izlenmiştir (Şekil 4.10).

FAV-100 olarak incelenen mesane doku örneklerinin histopatolojik değerlendirmesinde, mesane epitelinin sürekli ve sağlıklı gruba yakın olduğu izlenmiştir. Epitel altında seyreden bağ doku alanlarında ödemin hafif şiddette ve fibrillerin normal organizasyonda olduğu belirlenmiştir. Kan damarlarının genel yapısı sağlıklı gruba yakın; yer yer hafif düzeyde dilate damarların varlığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.11).

Tablo 4.2. Sıçan Mesane Dokularından Elde Edilen Histopatolojik Verilerin Değerlendirilmesi

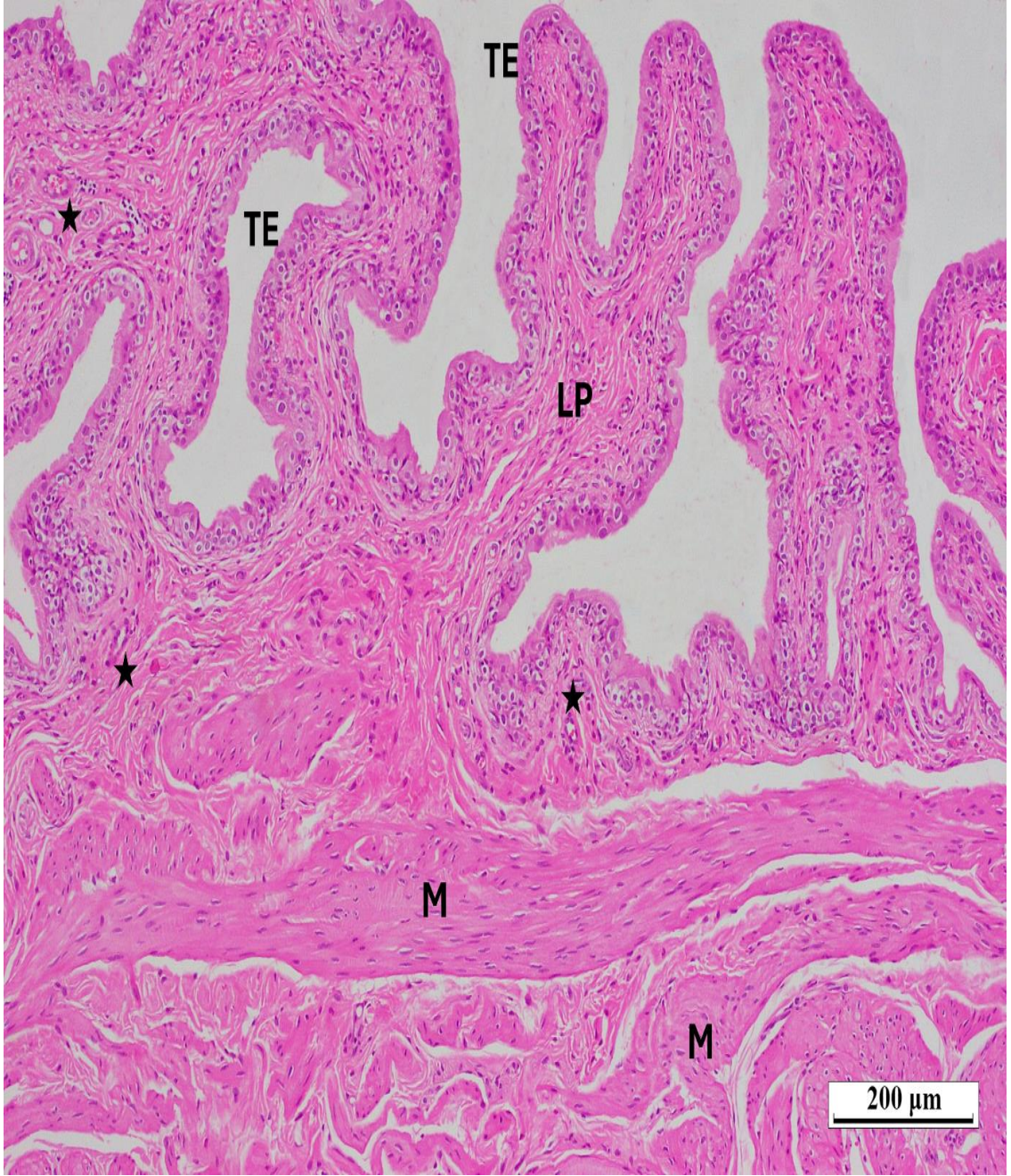
Gruplar	Median (Minimum-Maximum) – p değerleri			
	SG	FAV-100	FAV-200	FAV-400
Transizyonel Epitel Dejenerasyonu	0(0-0)	1(0-1) ^a	2(1-3) ^a	3(2-3) ^a
Dilate ve Konjeste Kan Damarları	0(0-0)	1(0-2) ^a	2(1-3) ^a	3(2-3) ^a
İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	0(0-0)	0(0-1) ^{a, b}	2(1-3) ^a	2(1-3) ^a
Ödem	0(0-0)	1(0-2) ^a	2(1-2) ^a	2(1-3) ^a

Dipnot: Sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart hatası ve medyan (minimum-maksimum) olarak sunulmuştur. İstatistiksel analizler Kruskal-Wallis testi ardından posthoc test olarak Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

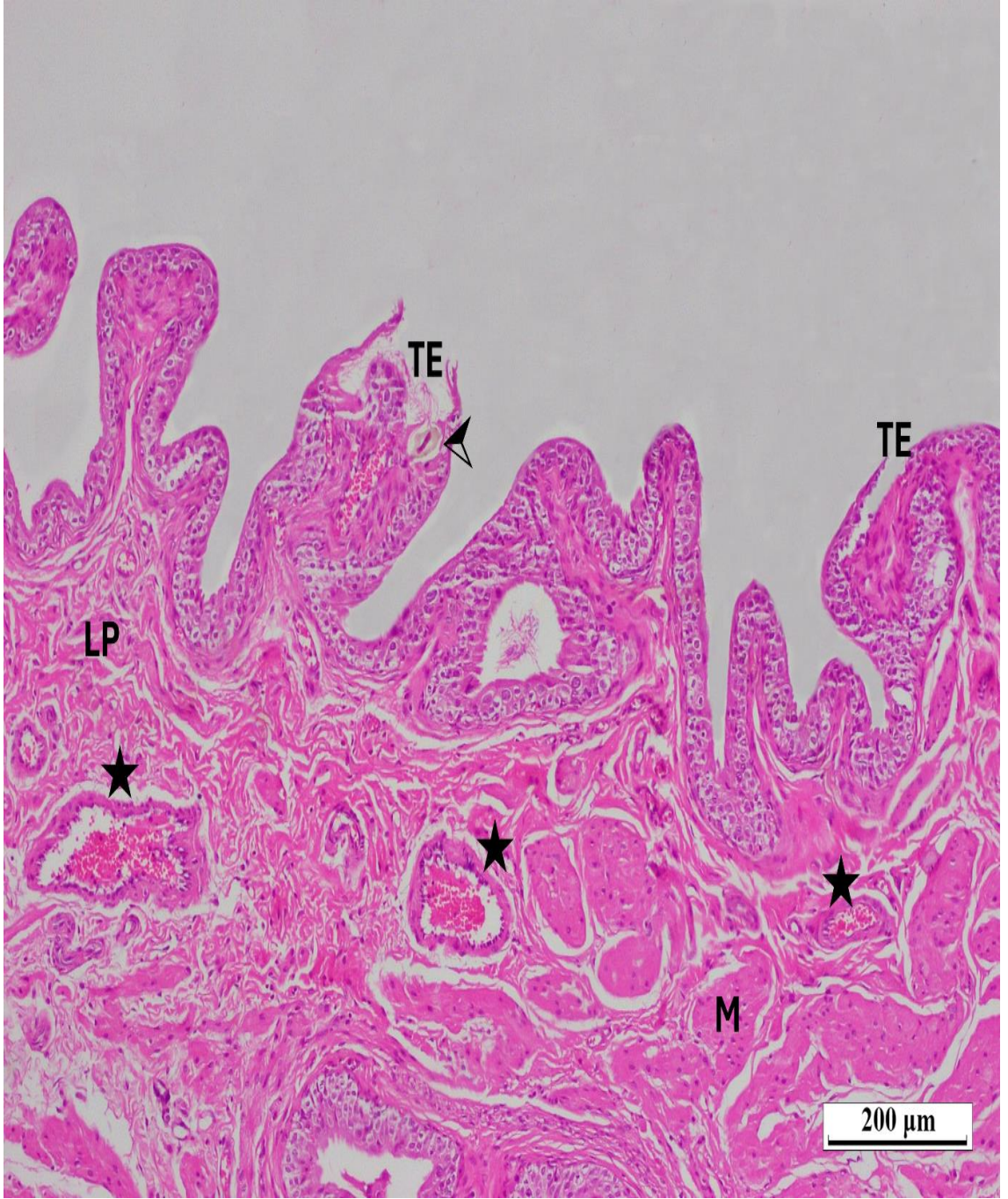
Değerler histopatolojik hasar derecelerini göstermektedir: 0: hiç yok; 1: hafif; 2: orta; 3: şiddetli hasar anlamına gelmektedir.

Sağlıklı grup (SG), Favipravir 100 mg/kg (FAV-100), Favipravir 200 mg/kg (FAV-200) ve Favipravir 400 mg/kg (FAV-400)

FAV-100, FAV-200 ve FAV-400 grupları kendi aralarında ve SG grubu ile karşılaştırıldığında $a=p<0.001$, FAV-100 grubu SG ile karşılaştırıldığında $b=p>0.05$ anlamına gelmektedir. Bütün gruplar için hayvan sayısı $n=6$ 'dır.

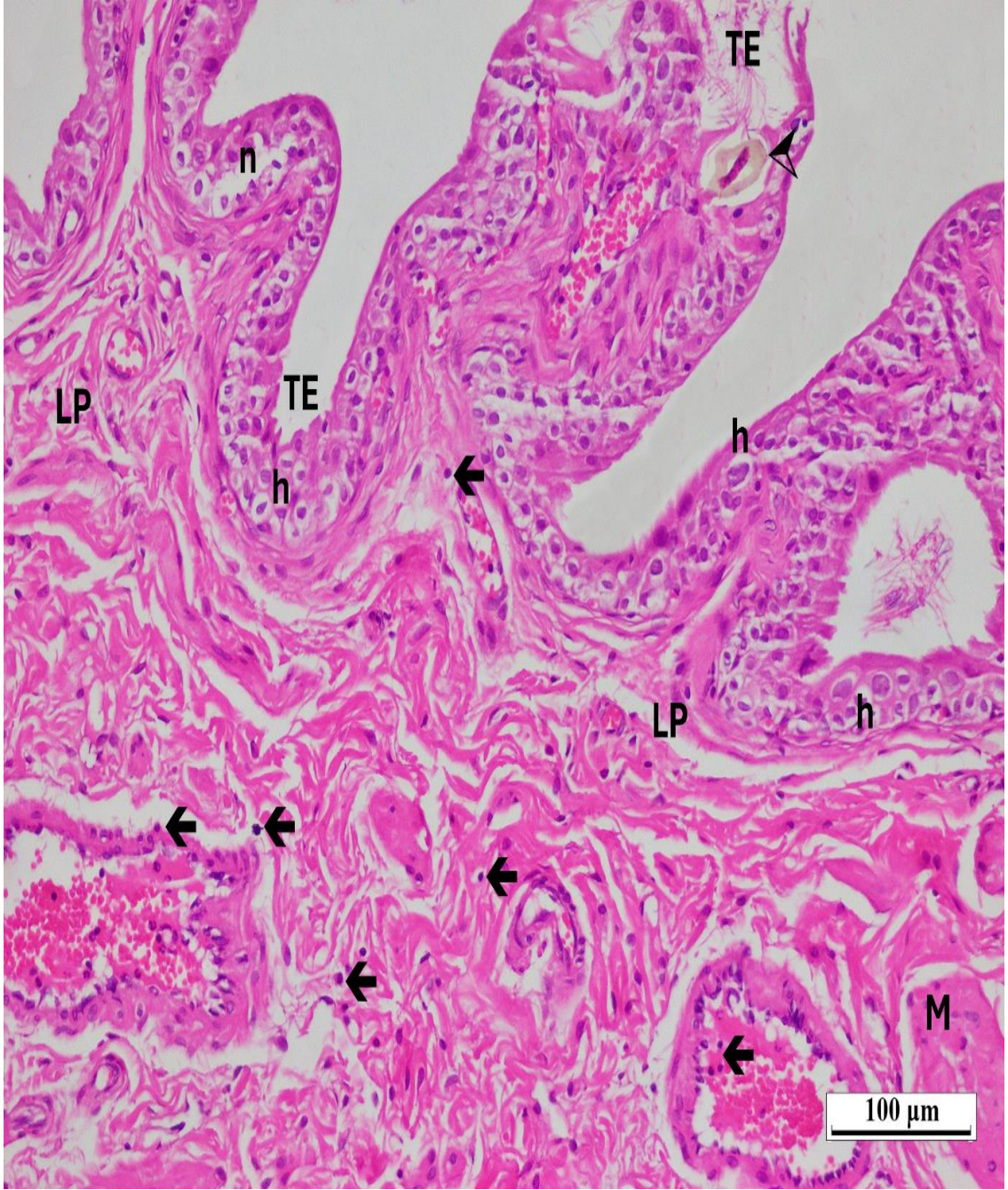


Şekil 4.7. Sağlıklı Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu
TE: Transizyonel epitel, LP: Lamina propria, M: Kas doku, ★: Kan damarı, X100.



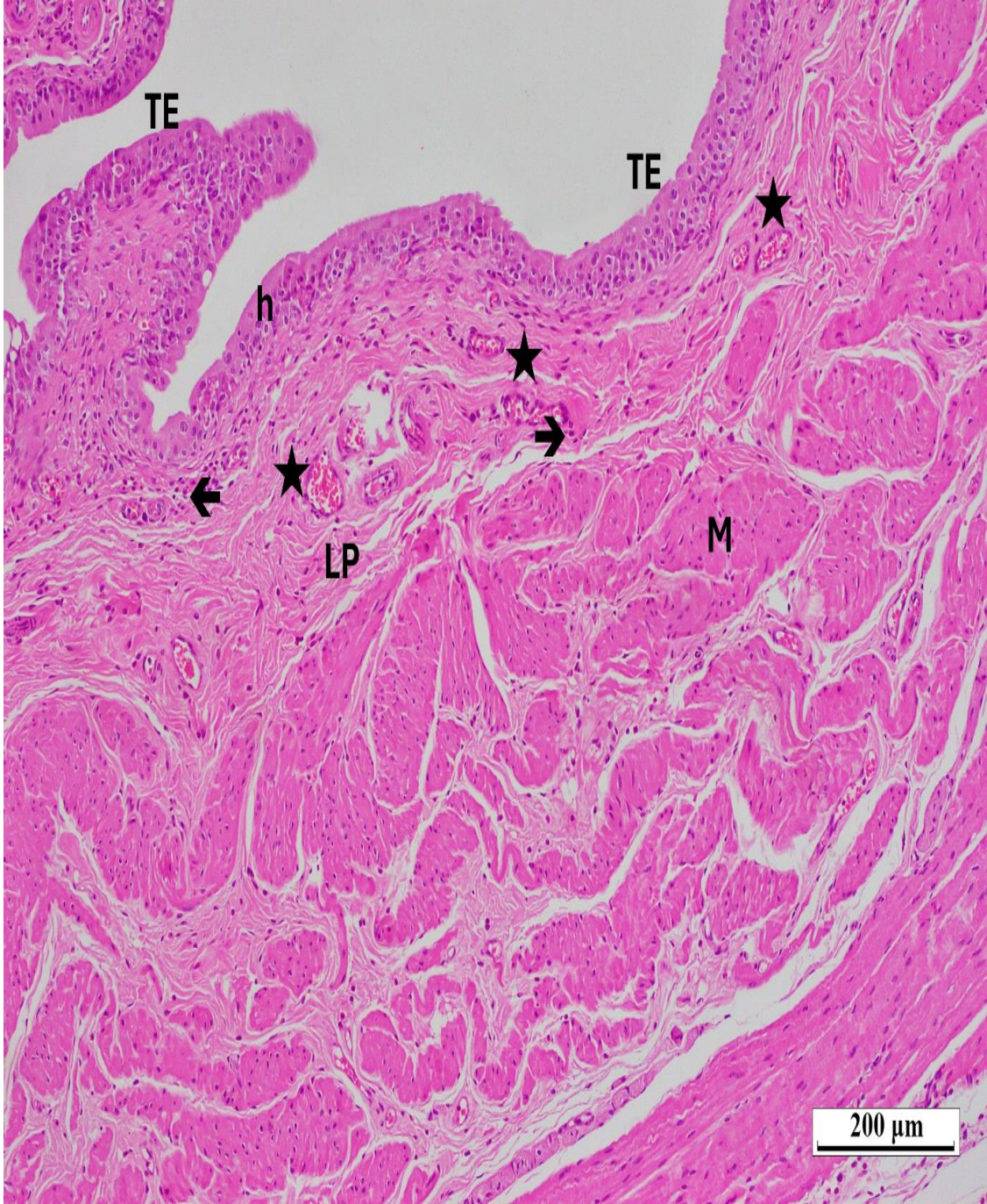
Şekil 4.8. FAV-400 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu

TE: Transizyonel epitelde dökülmeler, ➤: Eozinofilik birikim, *LP:* Ödemli bağ doku, *M:* Kas doku, ★: Şiddetli dilate ve konjeste kan damarları, X100.

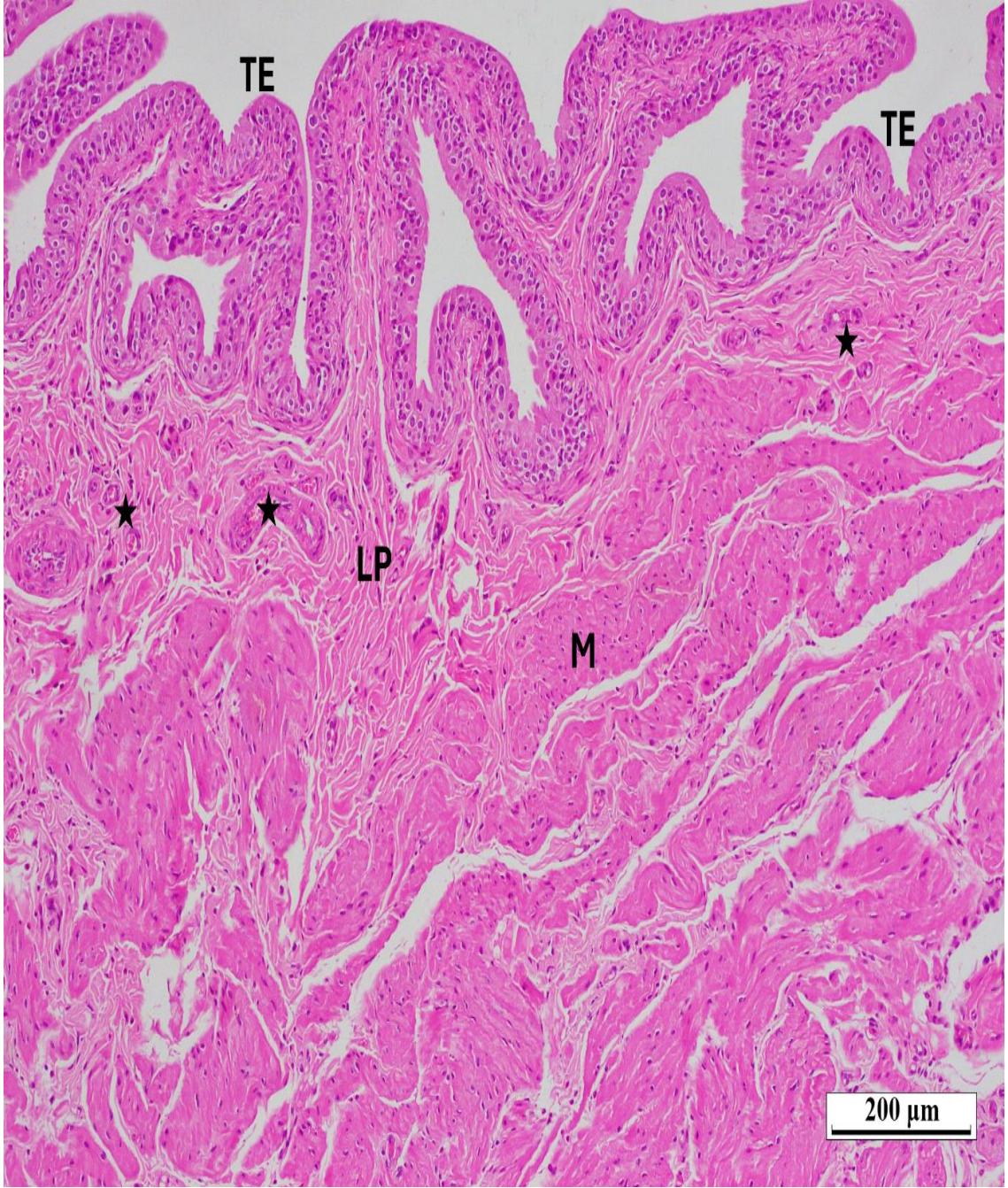


Şekil 4.9. FAV-400 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu

TE: Transizyonel epitelde dökülmeler, ➤: Eozinofilik birikim, *LP:* Ödemli bağ doku, *M:* Kas doku, ★: Şiddetli dilate ve konjeste kan damarları, *h:* Hipertrofik hücreler, *n:* Nekrotik alanlar, *ok:* İnflamatuvar hücre, X200.



Şekil 4.10. FAV-200 Gruba ait Hematoksilen – Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu
TE: Transizyonel epitel, LP: Ödemli bağ doku, M: Kas doku, ★: Orta düzeyde dilate ve konjeste kan damarları, h: Hipertrofik hücreler, ok: İnflamatuar hücre, X100.



Şekil 4.11. FAV-100 Gruba ait Hematoksilen-Eozin ile Boyanmış Mesane Dokusu
TE: Transizyonel epitel, LP: Hafif ödemli bağ doku, M: Kas doku, ★: Kan damarı, X100.

5. TARTIŞMA

Favipiravir, ilk olarak 2014 yılında influenza virüsünün tedavisi amacıyla onaylanmış, daha sonra çeşitli viral enfeksiyonlara karşı etkinliği araştırılmış ve birçok çalışmada olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Furuta et al., 2002). Özellikle COVID-19 pandemisi ile birlikte favipiravirin kullanımı dünya genelinde belirgin şekilde artmış ve en yaygın uygulama alanını bu dönemde bulmuştur. COVID-19 tedavisinde favipiravir genellikle, her 12 saatte bir 1600–1800 mg yükleme dozu ile başlanmakta; ardından her 12 saatte bir 600–800 mg idame dozu şeklinde uygulanmaktadır (Rattanaumpawanve ark., 2022). Bu yüksek doz rejimi, kısa süreli kullanımda etkili olmakla birlikte, özellikle karaciğer, böbrek ve kalp gibi hayati organlarda çeşitli yan etkilerin ortaya çıkmasına yol açabilmektedir. Bu etkiler arasında hepatotoksisite, renal fonksiyon bozuklukları, hiperürisemi ve kardiyak ritim değişiklikleri bildirilmektedir (Bilici ve ark., 2023). Yapılan deneysel çalışmalar, bu yan etkilerin büyük ölçüde doz ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Düşük dozlarda uygulanan favipiravir genellikle tolere edilebilir yan etkilere neden olurken, yüksek dozlarda ilaca bağlı toksik etki sıklığında anlamlı bir artış gözlenmiştir (Pilkington ve ark., 2020). Bu nedenle favipiravir uygulamalarında doz optimizasyonu, hasta takibi ve organsal toksisite açısından izlem son derece önemlidir.

Literatürü incelediğimiz zaman çeşitli organlar üzerine favipiravirin toksik etkilerine yönelik çalışmalarla karşılaşmamıza rağmen mesane üzerine yapılan herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda, favipiravirin mesane üzerinde toksik etkisinin olup olmadığını mesane dokusu üzerinde biyokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirdik. Doku hasarına giden süreç incelendiğinde vücutta oksidan ve antioksidanların arasında var olan dengenin oksidanlar lehine artmış olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Del Maestro ve ark., 1980). Oksidanlar, ROS ve serbest radikaller aracılığıyla lipid peroksidasyonu (LPO), protein oksidasyonu ve DNA hasarına yol açarak hücresel disfonksiyon ve toksisiteye neden olur. Antioksidanlar bu

molekülleri nötralize ederek oksidatif stresin yol açtığı biyomoleküler hasarı önler ve hücrel homeostazı korur. Bilindiği gibi, MDA seviyesi LPO'nun bir biyobelirtici olarak oksidatif stresin derecesini gösterir; yüksek MDA seviyeleri artmış oksidatif hasarı ve yetersiz antioksidan savunmayı işaret eder (Gutteridge, 1995). Deney sonuçlarımızdan anlaşılabacağı gibi, FAV-200 ve FAV-400 mg/kg dozlarında uygulanan favipiravir gruplarında MDA seviyesi sağlıklı grubunkine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artmış bulunmuştur. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında favipiravir dozu arttıkça MDA seviyelerinin de arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlarımız, mesane dokusunda oksidatif stres şiddeti favipiravirin doz artışına paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi, MDA oksidatif stresin değerlendirilmesinde güvenilir bir oksidan parametredir. Literatürde MDA'nın oksidan bir parametre olduğu ROS artışı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Suleyman ve Ozcicek, 2020). Oksidatif stres MDA ölçümü ile değerlendirmemizin nedeni, organ ve dokularda ROS'un kısa ömürlü olması ve ölçümünün zor olmasıdır. Güler G. ve arkadaşlarının çalışmasında sıçan mesanesinde akut idrar retansiyonu sonrası gelişen oksidatif stres, LPO ürünü olan MDA seviyelerinin ölçümü yapılarak indirek yollardan değerlendirilmiştir (Güler ve ark., 2004). Navarova ve arkadaşlarının yaptığı siklofosfamidin indüklediği oksidatif strese karşı stobadinin koruyucu etkisine dair yaptıkları çalışmada siklofosfamidin mesane toksisitesinin oksidatif hasara sekonder geliştiği sonucuna varmışlardır (Navarova ve ark., 1999). Ayhanci ve arkadaşlarının selenoproteinlerin sıçanlarda siklofosfamidin indüklediği mesane toksisitesine yönelik yaptığı çalışmada, siklofosfamid verilen grupla selenoprotein verilen grup kıyaslandığında; selenoprotein verilen grupta MDA seviyelerinin belirgin olarak azaldığı, mesane dokusundaki antioksidan GSH seviyelerinde belirgin artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Ayhanci ve ark., 2010).

Bilindiği gibi tGSH, vücutta endojen olarak üretilen glisin, glutamat ve sistein aminoasitlerinden oluşan tripeptid yapıda bir antioksidandır (Dickinson ve Forman, 2002). tGSH, membranları lipid peroksidasyona karşı korumada, ağır metaller ve ilaçlar gibi ksenobiyotik bileşikler gibi endojen metabolik ürünlerin detoksifikasyonunda rol oynayarak oksidatif stresin önlenmesinde önemli görev üstlenir (Exner ve ark., 2000). Güneş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antioksidanların mesane için koruyucu bir etkiye sahip olduğu, antioksidanların eksikliğinin ise artmış mesane patolojileriyle

ilişkili olduğu saptanmıştır (Güneş ve ark., 2020). Çalışmamızda FAV-200 ve FAV-400 gruplarındaki sıçanların mesane dokularında tGSH seviyeleri sağlıklı grubunkinden anlamlı düşük bulunmuştur. Ayrıca, tGSH seviyesi, favipiravir doz artışıyla azaldığı saptanmıştır. Favipiravir 200 mg/kg dozda tGSH seviyesi 100 mg/kg dozuna göre daha anlamlı azaltmış, ancak tGSH seviyesi en düşük bulunan grup 400 mg/kg dozda uygulanan grup olmuştur. Favipiravirin özellikle yüksek dozlarda kullanılmasıyla oluşan toksik etkilerle ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir. Bayrakçeken K. ve arkadaşları favipiravirin oküler toksik etkilerine yönelik yaptığı çalışmada, favipiravir verilen grupta yüksek MDA, düşük tGSH seviyeleri, SOD ve CAT aktivitelerinde azalma olduğunu böylece favipiravirin oküler toksisiteye yol açtığını sonucuna varmışlardır (Bayrakçeken ve ark., 2023). Rouissi ve arkadaşlarının hidroksitirozol ekstrelerinin sıçanlarda sisplatin ilişkili mesane toksisitesine koruyucu etkisini araştırdığı çalışmada sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre tGSH seviyelerinin azalmış olduğu sonucuna varmışlardır. Sisplatinin reaktif metaboliti olan akroleinin tGSH ile etkileşime girmesinin tGSH seviyelerinde azalmadan sorumlu olduğunu gözlemlemişlerdir (Rouissi ve ark., 2011).

Vücutta ROS'lara bağlı gelişen oksidatif hasarı önlemekle görevli antioksidanlardan biri süperoksit dismutaz (SOD) enzimidir (Kangralkar ve ark 2010). Bu enzim, süperoksit anyon serbest radikalini (O_2^-) moleküler oksijene ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'ye dönüştürür (Yasui ve Baba, 2006). Deney sonuçlarımıza göre, 100 mg/kg favipiravir verilen hayvanların mesane dokularındaki SOD aktivitesi sağlıklı grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı gelmemiştir. FAV-400 mg/kg dozundaki SOD aktivitesi, 200 mg/kg dozundakine göre belirgin azalmış olup istatistiksel olarak anlamlıdır. Deney sonuçlarımızdan da anlaşılabileceği gibi, favipiravirin artan dozlarda uygulanması enzimatik antioksidan belirteç olan SOD aktivitesini doza bağlı olarak inhibe etmiş ve oksidatif hasara neden olmuştur. Famurewa ve arkadaşlarının çinko takviyesinin sıçanlarda siklofosfamidin indüklediği ürotoksisiteye olan etkisini araştırdığı çalışmada SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin azaldığı, tGSH seviyelerinin azaldığı bununla birlikte LPO ürünü olan MDA değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Yine aynı çalışmada, bu bulgular eşliğinde siklofosfamidin ürotoksitesinin oksidatif stres kaynaklı olduğu sonucuna varmışlardır (Famurewa ve ark., 2021).

Çalışmamızda mesane dokusunda tayin edilen bir diğer biyokimyasal parametre Katalaz (CAT) enzimidir. CAT vücutta yoğun olarak karaciğer, böbrek ve eritrositlerde bulunur (Chelikani ve ark., 2004). CAT, SOD ve GPx gibi enzimlerle birlikte serbest radikal kaynaklı oksidatif hasarı önlemekte etkilidir (Heck ve ark.,2010). Bilici ve arkadaşlarının favipiravirin karaciğer üzerine olan toksik etkisini incelediği araştırmada, yüksek dozlarda verilen favipiravirin karaciğer dokusunda tGSH seviyelerinde azalma, SOD ve CAT aktivitelerinde azalmaya neden olduğu sonucuna varmışlardır (Bilici ve ark.,2023). Rouissi ve arkadaşlarının hidroksitirozol ekstresinin sıçanlarda sisplatin ilişkili mesane toksisitesine koruyucu etkisini araştırdığı çalışmada sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre tGSH seviyelerinin azalmış olduğu, CAT aktivitesinde belirgin azalma olduğu sonucuna varmışlardır (Rouissi ve ark., 2011). Deney sonuçlarımıza göre, 100 mg/kg favipiravir verilen hayvanların mesane dokularındaki CAT aktivitesi sağlıklı grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı gelmemiştir ($p>0,05$). FAV-400 mg/kg dozundaki CAT aktivitesi, 200 mg/kg dozundakine göre belirgin azalmış olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

Organ ve dokularda toplam oksidan ve antioksidan parametreleri birlikte değerlendirmek için TOS ve TAS ölçümü kullanılır (Wu ve ark.,2017). TOS, vücuttaki toplam oksidan yükünü belirler. Türk ve arkadaşlarının matür ve immatür senil kataraktlı hastalarda oksidatif strese yönelik yaptığı araştırmada kataraktlı hastaların aköz hümor sıvılarında TOS seviyelerinin artmış, TAS seviyelerinin ise azalmış olduğunu tespit etmişlerdir (Türk M. ve ark.,2017). Literatür taramalarında favipiravirin mesane dokusunda toksisite yaptığına dair çalışmaya rastlanmamıştır. Deney sonuçlarımıza göre, 100 mg/kg favipiravir verilen hayvanların mesane dokularındaki TOS seviyeleri sağlıklı grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı gelmemiştir ($p>0,05$). FAV-400 mg/kg dozundaki TOS seviyeleri, 200 mg/kg dozundakine göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,001$).

Oksidatif stresin belirlenmesinde TOS ile birlikte kullanılan parametre TAS'tır. TAS, vücutta serbest radikallere karşı koruyucu rol üstlenen toplam antioksidan kapasiteyi ölçen parametredir (Silvestrini ve ark., 2023). 100 mg/kg favipiravir verilen hayvanların mesane dokularındaki TAS seviyelerinin sağlıklı grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı gelmemiştir ($p>0,005$). Çalışmamızda FAV-400 grubunda

TAS seviyelerinin sağlıklı gruba göre daha düşük olduğunu saptanmıştır. Literatürde, favipiravirin toksik etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar mevcuttur. Balcı ve arkadaşları tarafından favipiravirin, düşük doz olarak 100 mg/kg ve yüksek doz olarak 400 mg/kg uygulanan sıçanların over dokuları incelenmiştir. Çalışmada, TAS ve tGSH seviyelerinin her iki doz grubunda da azaldığı; buna karşılık, MDA ve TOS seviyelerinin arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca over dokusunda oksidatif hasarın geliştiği histopatolojik olarak gösterilmiştir (Balci ve ark., 2022). Bununla beraber, favipiravirin mesane toksisitesine yönelik literatürde bir çalışmaya rastlanmadı.

Literatürden elde ettiğimiz bilgiler ve çalışmamızda oksidan strese yönelik incelediğimiz biyokimyasal parametreler ışığında mesane dokusunun oksidatif strese yatkın olduğu favipiravirin artan dozlarda uygulanması sonrasında ise mesane dokusunda oksidatif hasar geliştiği sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmamızda biyokimyasal parametreler haricinde favipiravirin farklı dozlarda uygulandığı sıçan gruplarının mesane dokularını histolojik olarakta incelenmiştir. Favipiravirin mesane toksisitesi üzerine yapılan çalışmalara literatürde rastlanmamış olup mesane toksisitesi ve diğer ilaçlar üzerine çeşitli klinik ve deneysel araştırmalar yapılmıştır. Abd-Allah ve arkadaşlarının sıçanlarda siklofosfamidin indüklediği mesane toksisitesine taurin'in koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada 150 mg/kg tek doz siklofosfamid uygulaması sonrasında sıçanların mesane dokuları histopatolojik olarak incelediklerinde belirgin konjesyon, dem ve ektravazasyon tespit etmişlerdir. Ayrıca mesanenin epitelyum dokusunun belirgin deskuamatif hasar, lamina propria da şiddetli inflamasyon, fokal erozyonlar, makroskobik ve histopatolojik inceleme ile belirlenen yer yer lenfosit infiltrasyonu ile ilişkili polimorfonükleer lökositler gözlemlemişlerdir (Abd-allah ve ark., 2005). Taurin'in yedi günlük replasmanını takiben tedavinin birinci gününde dem azalmasına bağlı olarak mesane ağırlığında azalma, vasküler konjesyon ve hemorajide belirgin azalma tespit etmişlerdir (Abd-allah ve ark., 2005). Favipiravirin artan doz uygulamalarında mesane dokusunu incelediğimiz çalışmamızda 100 mg/kg dozda favipiravir uyguladığımız grubun mesane dokusunda epitelin srekliplik seyrettiği ve sağlıklı gruba benzer görünümde olduğu, bağ dokusunun hafif ödemli olduğu gözlenmiştir. Doza bağlı olarak 200 mg/kg dozda favipiravir uyguladığımız grubun mesane dokusunda orta derecede ödemli bağ doku, orta derecede dilate ve konjeste kan damarları izlenmiştir. Ayrıca kan damarlarının çevresinde orta seviyede inflamatuvar

hücreler izlenmiştir. 400 mg/kg gibi daha yüksek dozda mesane epitelyum dokusunun devamlılığında bozulma ve yer yer nekrotik alanlar izlenmiştir. Kan damarlarının çevresinde yoğun inflamatuvar hücreler ve nükleer atipi izlenmiştir. Ayrıca favipiravir dozu arttıkça artan histopatolojik hasar şiddeti, yine favipiravir dozu arttıkça oksidan parametrelerin seviyelerinde artma ve antioksidan parametrelerin seviyelerinde azalma olması biyokimyasal deney sonuçlarımızla histopatolojik bulgularımızın örtüştüğünün göstergesidir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışmamızda biyokimyasal bulgular eşliğinde yaptığımız değerlendirme sonucunda favipiravir 100-200-400 mg/kg dozlarında verilen sıçanların mesane dokusunda MDA ve TOS skorlarının anlamlı olarak yüksek olduğu; tGSH, TAS, SOD ve CAT skorlarının ise azalması oksidatif hasara neden olmuştur. Favipiravir artan dozlarda verilerek histopatolojik olarak mesane dokusu incelenmiştir. Favipiravirin mesane dokusunda dozu arttıkça epitelyum dokusunun düzensizliğinde artma, lamina propria tabakasında ödem; bağ ve kas doku düzeyindeki damarlarda dilatasyon ve konjesyon da artma, bu damarların etrafında artmış inflamatuvar hücreler ve epitelyum tabakasında nükleer atipi gelişimine neden olduğu tespit edilmiştir. Biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler benzer sonuç vermiştir. Bununla birlikte, favipiravir toksisitesi üzerine yeterli sayıda klinik çalışma olmaması, ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğunun göstergesidir. Mesane dokusu üzerine favipiravirin toksisitesine yönelik bu çalışmamız alanında bir ilk olma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamızın klinik çalışmalara öncülük etmesini ve toksisiteyi azaltma adına yeni ilaç kombinasyonlarının geliştirilmesine katkıda bulunmasını amaçlıyoruz.

KAYNAKLAR

- Ahmad, R. (2022). Peroxynitrite induced cytotoxicity and detection in cardiovascular, neurodegenerative and inflammatory disorders. *International Journal of Health Sciences (Qassim)*, 16(6), 1–2.
- Albano, E., Poli, G., Chiarotto, E., Biasi, F., and Dianzani, M. U. (1983). Paracetamol-stimulated lipid peroxidation in isolated rat and mouse hepatocytes. *Chemico-Biological Interactions*, 47(3), 249–263.
- Anafarta, K., Baykara, M., ve Beydinç, C. (1998). Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. In K. Anafarta, O. Göğüş, & N. Arıkan (Eds.), *Temel Üroloji* (pp. 1–28). Güneş Kitabevi.
- Avigan Tablets 200 mg. (2021). [https:// www.cdc.gov.tw/File/Get/ht8jUiB_MI-aKnlwstwzvw](https://www.cdc.gov.tw/File/Get/ht8jUiB_MI-aKnlwstwzvw) Erişim Tarihi: 21.06.2020.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438.
- Ayhanci, A., Yaman, S., Sahinturk, V., Uyar, R., Bayramoglu, G., Senturk, H., Altuner, Y., Appak, S., and Gunes, S. (2010). Protective effect of seleno-L-methionine on cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity in rats. *Biological trace Element Research*, 134(1), 98–108.
- Bai, C. Q., et al. (2016). Clinical and virological characteristics of Ebola virus disease patients treated with favipiravir (T-705)-Sierra Leone, 2014. *Clinical Infectious Diseases*, 63, 1288–1294.
- Balci, S., Colluoglu, C., Yavuzer, B., Bulut, S., Altindag, F., Akbas, N., & 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.
- Barber, D., & Harris, S. (1994). Oxygen free radicals and antioxidants: A review. *American Pharmacy*, 9, 26–35.
- Bayrakçeken, K., Akgöz, H., Ağgül, A. G., Altındağ, F., and Süleyman, H. (2023). Biochemical and Histopathological Evaluation of The Effect of Thiamine Pyrophosphate on Favipiravir-Induced Degenerative Corneal and Scleral Damage in Rats: Research Article. *Acta Medica Ruha*, 1(3), 228–238.
- Becker B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radical Biology & Medicine*, 14(6), 615–631.
- Beytur, L., ve ark. (2023). Favipiravir-induced oxidative damage and antioxidant response in rat liver. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 33(4), 293–300.
- Bilici, S., Altuner, D., Süleyman, Z., Bulut, S., Sarıgül, C., Gulaboglu, M., and Suleyman, H. (2023). Favipiravir-induced inflammatory and hydropic degenerative liver injury in rats. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*.

- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *The World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19.
- Bostwick, D. G., and Shrigley, J. R. (2009). Mesane kanseri patogenezi ve oksidatif stres. *World Journal of Urology*, 27(4), 401–407.
- Brigelius-Flohé, R., and Traber, M. G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *The FASEB Journal*, 13(10), 1145–1155.
- Brigelius-Flohé, R., and Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(5), 3289–3303.
- Brigelius-Flohe, R., and Flohe, L. (2020). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants & Redox Signaling*, 33(7), 498–516
- Bruckdorfer, R. (2005). The basics about nitric oxide. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(1–2), 3–31.
- Cadet, J., Douki, T., Gasparutto, D., and Ravanat, J. L. (2003). Oxidative damage to DNA: Formation, measurement, and biological significance. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 131, 1–87.
- Caldecott, K. W. (2008). Single-strand break repair and genetic disease. *Nature Reviews Genetics*, 9(8), 619–631.
- Carr, A. C., and Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 69(6), 1086–1107.
- Carroll, E.C. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Annals of Internal Medicine*, 107, 526–545.
- Catherine, M., Neil, S., Brian, G., and Wayne, N. (2020). Favipiravir and remdesivir appear to be relatively unencumbered with drug-drug interactions. *Anesthesia Patient Safety Foundation*.
- Chelikani, P., Fita, I., and Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 61(2), 192–208.
- Chen, C., Zhang, Y., Huang, J., Yin, P., Cheng, Z., Wu, J., ... and Zhang, J. (2020). Favipiravir versus arbidol for COVID-19: A randomized clinical trial. *medRxiv*.
- Chinello, P., Petrosillo, N., Pittalis, S., et al. (2017). QTc interval prolongation during favipiravir therapy in an Ebolavirus-infected patient. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(12), e0006034.
- Circu, M. L., and Aw, T. Y. (2010). Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(6), 749–762.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., and Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329(1–2), 23–38.

- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., and Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52(4), 601–623.
- Del Maestro, R., Thow, H. H., Bjark, J., Planker, M., and Arfors, K. E. (1980). Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiologica Scandinavica, Suppl.* 492, 43–47.
- Demir, E., Sütçüoğlu, O., Demir, B., Ünsal, O., and Yazıcı, O. (2022). A possible interaction between favipiravir and methotrexate: Drug-induced hepatotoxicity in a patient with osteosarcoma. *Journal of oncology pharmacy practice: official publication of the International Society of Oncology Pharmacy Practitioners*, 28(2), 445–448.
- Dickinson, D. A., and Forman, H. J. (2002). Glutathione in defense and signaling: Lessons from a small thiol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 973, 488–504.
- Doğan, E., Alkan Çeviker, S., Vurucu, S., Şener, A., Yüksel, B., Gönllügür, U., Şimşek, T., ve Ulusoy, M. H. (2021). Investigation of the frequency of adverse effects in patients treated with favipiravir as SARS-CoV-2 treatment. *Klimik Dergisi*, 34(2), 95.
- Du, Y. X., and Chen, X. P. (2020). Favipiravir: Pharmacokinetics and concerns about clinical trials for 2019-nCoV infection. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 108(2), 242–247.
- Ener, K., Keske, M., Aldemir, M., Özcan, M. F., Okulu, E., Özayar, A., ... ve Erel, Ö. (2015). Evaluation of oxidative stress status and antioxidant capacity in patients with painful bladder syndrome/interstitial cystitis: Preliminary results of a randomised study. *International Urology and Nephrology*, 47(8), 1297–1302.
- Eroschenko, V. P. (2000). *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations* (9th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81–128.
- Exner, R., Wessner, B., Manhart, N., and Roth, E. (2000). Therapeutic potential of glutathione. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 112(14), 610–616.
- Finkel, T., and Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408(6809), 239–247.
- Flohé, L., Günzler, W. A. (1984). *Assays of glutathione peroxidase*. In: *Methods in Enzymology*, 105, 114–121.
- Förstermann, U., and Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837.
- Fresco, P., Borges, F., Diniz, C., and Marques, M. P. (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols. *Medicinal Research Reviews*, 26(6), 747–766.

- Furuta, Y., Takahashi, K., Fukuda, Y., Kuno, M., Kamiyama, T., Kozaki, K., ... 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.
- 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., Kuno-Maekawa, M., Sangawa, H., Uehara, S., Kozaki, K., ... and Shiraki, K. (2005). Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(3), 981-986.
- Galiniak, S., Mołoń, M., Biesiadecki, M., Mokrzyńska, A., and Balawender, K. (2023). Oxidative stress markers in urine and serum of patients with bladder cancer. *Antioxidants*, 12(2), 277.
- De Groot, H. (1994). Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepato-Gastroenterology*, 41(4), 328-332.
- Geçit, İ., Eryılmaz, R., Kavak, S., et al. (2017). The prolidase activity, oxidative stress, and nitric oxide levels of bladder tissues with or without tumor in patients with bladder cancer. *Journal of Membrane Biology*, 250(5), 455-459.
- Güneş, M., Eryılmaz, R., Aslan, R., Taken, K., Demir, H., and Demir, C. (2020). Oxidant-antioxidant levels in patients with bladder tumours. *The Aging Male*, 23(5), 1176-1181.
- Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.
- Guedj, J., Piorkowski, G., Jacquot, F., Madelain, V., Nguyen, T. H. T., Rodallec, A., ... and de Lamballerie, X. (2018). Antiviral efficacy of favipiravir against Ebola virus: A translational study in cynomolgus macaques. *PLOS Medicine*, 15(3), e1002535.
- Güler, G., Sınık, Z., ve Turan, T. (2004). Rat mesanesinde akut idrar retansiyonu sonrası gelişen iskemi reperfüzyon hasarının biyokimyasal olarak değerlendirilmesi. *Türk Üroloji Dergisi*, 30(4), 391-397.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- Halliwell, B. (2007). Biochemical mechanisms accounting for the protective effects of antioxidants in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*, 150(5), 455-457.
- Hayashi, T., Sawa, K., Kawasaki, M., et al. (1988) Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *Journal of Natural Products*, 51, 345-348
- Hayden, F.G., and Shindo, N. (2019). Influenza virus polymerase inhibitors in clinical development. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 32(2), 176-186.

- Heck, D. E., Shakarjian, M., Kim, H. D., Laskin, J. D., and Vetrano, A. M. (2010). Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203, 120–125.
- Ives, J. (2020). Preliminary report of favipiravir observational study in Japan released. *News-Medical.net*.
- Jacob, R. A., and Sotoudeh, G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in clinical care: an official publication of Tufts University*, 5(2), 66–74.
- Jeon, S. H., Park, J. H., and Chang, S. G. (2007). Expression of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase) in human bladder cancer. *Korean Journal of Urology*, 48(9), 947–952.
- Jendryazko, A., Pardela, M. and Kozlowski, A. (1993). Erythrocyte glutathione peroxidase in patients with colon cancer, *Neoplasma*, 40, 107–109.
- Kangralkar, V. A., Patil, S. D., and Bandivadekar, R. M. (2010). Oxidative stress and diabetes: A review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2), 38–45.
- Kasai, H. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 387(3), 147–163.
- Kinn, A. C., Larsson, B., Lindström, E., and Hedelin, H. (2002). Oxygen radical generation in cells from urine in patients with interstitial cystitis. *The Journal of Urology*, 167(6), 2521–2525.
- Klaunig, J. E., and Kamendulis, L. M. (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44, 239–267.
- Klebanoff, S. J. (2005). Myeloperoxidase: friend and foe. *Journal of Leukocyte Biology*, 77(5), 598–625.
- Łagocka, R., Dziedziejko, V., Kłos, P., and Pawlik, A. (2021). Favipiravir in therapy of viral infections. *Journal of Clinical Medicine*, 10(2), 273.
- Lingappan, K. (2018). NF- κ B in oxidative stress. *Current Opinion in Toxicology*, 7, 81–86.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.
- Lu, S. C. (2013). *Glutathione synthesis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5), 3143–3153.
- 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.
- Marnett L. J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, 424(1-2), 83–95.

- Meister, A., and Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), 711–760.
- Moncada, S., Palmer, R. M. J., and Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 43(2), 109–142.
- Moore, K. L., Persaud, T. V. N., and Torchia, M. G. (2019). *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. Elsevier.
- Nagendrappa, C. G. (2005). An appreciation of free radical chemistry—3. Free radicals in diseases and health. *Resonance*, 10(3), 65–74.
- Naksuk, N., Lazar, S., and Peeraphatdit, T. B. (2020). Cardiac safety of off-label COVID-19 drug therapy: A review and proposed monitoring protocol. *European Heart Journal–Acute Cardiovascular Care*, 9(3), 215–221.
- Navarová, J., Ujházy, E., and Dubovický, M. (1999). Protective effect of the antioxidant stobadine against cyclophosphamide and irradiation induced oxidative stress. *General Physiology and Biophysics*, 18 Spec No, 112–119.
- Nicholls, S. J., and Hazen, S. L. (2005). Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25, 1102–1111.
- Etsuo, N. (2013). Role of vitamin E as lipid-soluble peroxy radical scavenger: In vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology & Medicine*, 66 10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022.
- Niki, E., Noguchi, N., Tsuchihashi, H., and Gotoh, N. (1995). Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6 Suppl), 1322S–1326S.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351–358.
- Olson, J. A. (1999). Carotenoids and human health. *Archives of Latinoamerican Nutrition*, 49(3 Suppl 1), 7S–11S.
- Pacher, P., Beckman, J. S., and Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–342.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., ... and Levine, M. (2003). Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1), 18–35.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Pharmaceuticals and Medical Devices Agency: Avigan (favipiravir) Review Report. <https://www.pmda.go.jp/files/000210319.pdf> Erişim Tarihi: 21.06.2020.
- Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). *Free radicals, antioxidants in disease and health*. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.

- 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 Erad*, 6(2), 45–45.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., et al. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 8416763.
- Pompella, A., Visvikis, A., Paolicchi, A., De Tata, V., and Casini, A. F. (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochemical Pharmacology*, 66(8), 1499–1503.
- Radi, R. (2013). Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant. *Journal of Biological Chemistry*, 288(37), 26464–26472.
- Radi R. (2018). Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(23), 5839–5848.
- Rattanaumpawan, P., Jirajariyavej, S., Lerdlamyong, K., Palavutitotai, N., and Saiyarin, J. (2022). Real-world effectiveness and optimal dosage of favipiravir for treatment of COVID-19: Results from a multicenter observational study in Thailand. *Antibiotics*, 11(6), 805.
- Reilly P. M., Schiller H. J., and Bulkley, G. B. (1991). Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *American Journal of Surgery*, 161, 488–501.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., and Burkhardt, S. (2000). Reactive oxygen and nitrogen species and cellular and organismal decline: amelioration with melatonin. *Mechanisms of Ageing and Development*, 116(2–3), 67–74.
- Report on the Deliberation Results. (2020). *Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), Japan*.
- Rosen, D. et al. (1993). Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*, 362(6415), 59–62.
- Rouissi, K., Hamrita, B., Kouidi, S., Messai, Y., Jaouadi, B., Hamden, K., Medimegh, I., Ouerhani, S., Cherif, M., and Elgaaied, A. B. (2011). In vivo prevention of bladder urotoxicity: purified hydroxytyrosol ameliorates urotoxic effects of cyclophosphamide and buthionine sulfoximine in mice. *International Journal of Toxicology*, 30(4), 419–427.
- Sadler, T. W. (2012). Langman's Medical Embryology. *Lippincott Williams & Wilkins* S, 240–243.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., and Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 215S–217S.
- Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291–295.

- Sies, H. (2014). Role of metabolic H₂O₂ generation: Redox signaling and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 289(13), 8735–87.
- Silvestrini, A., Meucci, E., Ricerca, B. M., and Mancini, A. (2023). Total Antioxidant Capacity: Biochemical Aspects and Clinical Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10978.
- Sissoko, D., Laouenan, C., Folkesson, E., M'lebing, A. B., Beavogui, A. H., Baize, S., ... & JIKI Study Group. (2016). Experimental treatment with favipiravir for Ebola virus disease (the JIKI Trial): a historically controlled, single-arm proof-of-concept trial in Guinea. *PLoS Medicine*, 13(3), e1001967.
- Spiteller, G., and Afzal, M. (2014). The action of peroxy radicals... *Chemistry – A*
- Stadtman, E. R. (2001). Protein oxidation in aging and age-related diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 928, 22–38.
- Suleyman, H., ve Ozcicek, A. (2020). Molecular mechanism of ischemia reperfusion injury. *Archives of Basic and Clinical Research*, 2(1), 25–27.
- Szabó, C., Ischiropoulos, H., and Radi, R. (2007). Peroxynitrite: Biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(8), 662–680.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Reiter, R. J., Qi, W., Karbownik, M., and Calvo, J. R. (2002). Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biological Signals and Receptors*, 10(1–2), 137–159.
- Türk, M., Sezen, H., Koban, Y., Altun, G., and Aksoy, N. (2017). Total oxidant status, total antioxidant capacity and oxidative stress index levels in patients with mature and immature senile cataract. *Turkish Journal of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 12(1), 32–36.
- Türkmen, S., Afrasyap, L., Govenen, G. ve Aldemir, M. (1996). Erythrocyte glutathione levels and related enzyme activities in patients with benign and malignant breast disease. *Türk Onkoloji Dergisi*, 11(1), 30 – 33.
- Walker, E, Pacold, M, Perisic, O, et al. (2000) Structural determinations of phosphoinositide 3-kinase inhibition by wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin, and staurosporine. *Mol Cell* 6, 909–919
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.
- Wein A. J. (2005). Role of the urothelium in bladder function. *The Journal of Urology*, 173(6), 2199–2200.
- Wigner, P., Grębowski, R., Bijak, M., Saluk-Bijak, J., & Szemraj, J. (2021). The Interplay between Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in Bladder Cancer Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4483.

- Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, C., Lu, A., Li, J., and Du, X. B. (2017). Significance of Serum Total Oxidant/Antioxidant Status in Patients with Colorectal Cancer. *Plos One*, 12(1), e0170003.
- Yasui, K., and Baba, A. (2006). Therapeutic potential of superoxide dismutase (SOD) for resolution of inflammation. *Inflammation Research*, 55(9), 359–363.
- Younus, H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *International Journal of Health Sciences*, 12(3), 88–93.
- 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.





Ek-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Onay Formu

Evrak Tarih ve Sayısı: 02.10.2023-298118



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

Sayı : E-85748827-804.99-298118
Konu : Doç.Dr. Bahadır SÜLEYMAN
HADYEK Kararı(2023-09).pdf

02.10.2023

Sayın Doç.Dr. Bahadır SÜLEYMAN

Oturum Tarihi
28.09.2023

Oturum Saati
15:00

Oturum Sayısı
2023/09

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 33: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anadilim Dalı Doç. Dr. Bahadır SÜLEYMAN'ın "*Favipiravirin Sıçanlarda Doz İlişkili Mesane Toksisitesi, Biyokimyasal ve Histopatolojik Değerlendirme*" başlıklı çalışması ile ilgili 19.09.2023 tarihli ve 295398 sayılı başvurusu ve ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin Erzinan 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. (Yönetmeliğin 8. Maddesinin 8/h bendi gereğince, Doç. Dr. Bahadır SÜLEYMAN görüşmeye katılmadı ve oy kullanmadı.)

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

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BSABHZSNT4

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/cby-ebys>

Adres:Erzinan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü Fatih Mahallesi, 24100, Erzinan
Telefon:444 8 024 – (0446) 226 66 66 Faks:(0446) 226 66 65
e-Posta:rektorluk@erzinan.edu.tr Web:https://cbyu.edu.tr/tr/
Kep Adresi:erzinanuv@hs02.kep.tr

Bilgi için: Radvan ÇELİK
Unvanı: Birim Evrak Sorumlusu



ÖZGEÇMİŞ

Ömer Faruk Demir, 2009 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun olmuştur. Mecburi hizmetini Erzincan'da tamamladıktan sonra 2013 – 2018 yılları arasında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları asistanlığı yapmıştır. 2018 yılından beri Göğüs Hastalıkları uzmanı olarak aynı üniversitede çalışmaktadır. 2019 yılında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda doktora programına başlamıştır. Orta düzeyde İngilizce bilmektedir. Evli ve 2 çocuk babasıdır.

