

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA SİSPLATİN VE KARBOPLATİN
TARAFINDAN İNDÜKLENEN TROMBOSİTOPENİ
ÜZERİNE LİKOPEN'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ
Serpil BAYRAKDAR

2022

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ahmet ATEŞŞAHİN

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kadir SERVİ

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Serpil BAYRAKDAR

Tarih

İmza

Prof. Dr. Kadir SERVİ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

ELAZİĞ

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca gerek tez konumun seçiminde gerekse araştırmalarımın her aşamasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkıda bulunan, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kadir SERVİ ve Prof. Dr. Ahmet ATEŞŞAHİN'e teşekkür ederim. Tez çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalının diğer öğretim üyelerine, Arş. Gör. Zeliha KESKİN ve Arş. Gör. Fatih Ahmet KORKAK'a teşekkür ederim. Ayrıca, destekleri ile yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	I
ETİK BEYAN	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
TABLolar LİSTESİ	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR LİSTESİ	IX
1.ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Kanser	5
3.1.1. Kanserin Tedavisi	5
3.1.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Platin Türevi Antineoplastik İlaçlar	6
3.1.2.1. Sisplatin	6
3.1.2.1.1. Sisplatinin Moleküler Yapısı	8
3.1.2.1.2. Sisplatin Farmakokinetiği	9
3.1.2.1.3 Sisplatin Toksisitesi	10
3.1.2.1.4. Sisplatinin Farmakolojik Etki Mekanizması	12
3.1.2.2 Karboplatin	13
3.2. Kortikostroidler ve Trombositopenin Tedavisi	14
3.2.1. Farmakokinetik Özellikleri	15
3.2.2. Farmakolojik Etkileri	15
3.2.3. Yan Etkileri	16
3.2.4. Kullanım Alanları	16
3.3.Trombositler ve Kemoterapi	17
3.3.1. Trombositlerin Yapısı	17

3.3.2 Trombositlerin Oluşumu	18
3.3.3. Trombosit Mekanizması	19
3.3.4. Trombosit Sayımı	20
3.3.5. Kanser ve Trombositopeni	20
3.4. Antioksidan Sistem ve Oksidatif Hasar	22
3.5. Karotenoidler	25
3.5.1. Likopen	26
3.5.1.1. Likopenin Kimyasal Özellikleri	26
3.5.1.2. Likopenin Emilim, Dağılım ve Metabolizması	27
3.5.1.3. Likopenin Etki Mekanizması	29
3.5.1.4. Likopen ve Kemoterapötik Tedavi	30
4.GEREÇ VE YÖNTEM	32
4.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar	32
4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	33
4.3. Deney Hayvanları	33
4.4. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	35
4.5. Metot	36
4.5.1. Oksidatif Stres Parametrelerinin Analizi	36
4.5.1.1. MDA Düzeyinin Ölçümü	36
4.5.1.2. GSH Düzeyinin Ölçümü	38
4.5.1.3. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	40
4.5.1.4. Protein Ölçümü	41
4.5.1.6. GSH-Px Aktivitesinin Tayini	42
4.5.2. Trombosit Tayini	44
4.5.3. Histopatolojik Analizler	44
4.5.4. İstatistiksel Analizler	45
5. BULGULAR	45
5.1.Trombosit Düzeyleri	45
5.2. Oksidatif Stres Parametreleri	46

5.2.1. MDA Düzeyleri	46
5.2.2. GSH Düzeyleri	47
5.2.3. Katalaz Aktiviteleri	48
5.2.4. GSH-Px Aktiviteleri	49
5.3. Histopatolojik Bulgular	51
5.3.1 Böbrekte Mikroskopik Bulgular	52
5.3.2. Dalak ve Kemik iliğinde Mikroskopik Bulgular	52
6. TARTIŞMA	55
7. KAYNAKLAR	61
8.ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. İnsan ve Sıçan Dokularında Bildirilen Likopen Düzeyleri	28
Tablo 2. Kullanılan Alet ve Cihazların Listesi	32
Tablo 3. Ratlara Verilen Yemlerin Bileşimi	34
Tablo 4. Histopatoloji İstatistiksel Verileri	54



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sisplatinin Moleküler Yapısı	8
Şekil 2. Platinin cis ve trans Formu	12
Şekil 3. Karboplatin Moleküler Yapısı	13
Şekil 4. Antioksidanların Sınıflandırılması	23
Şekil 5. Karatonoidlerin Özellikleri	25
Şekil 6 Likopenin Kimyasal Yapısı	27
Şekil 7. Likopenin Etki Mekanizmaları	30
Şekil 8. Malondialdehit (MDA) Kalibrasyon Eğrisi	36
Şekil 9. GSH Kalibrasyon Eğrisi	38
Şekil 10. Gruplara Ait Kan Pulcuğu Sayısının Değişimi	46
Şekil 11. Gruplara Ait Plazma MDA Düzeyleri	47
Şekil 12. Gruplara Ait Plazma GSH düzeyleri	48
Şekil 13. Gruplara Ait Katalaz Düzeyleri	49
Şekil 14. Gruplara Ait GSH-Px Aktiviteleri	50

KISALTMALAR LİSTESİ

MDA	Malondialdehit
GSH	İndirgenmiş glutatyon
CAT	Katalaz
NADPH	Nikotin adenin difosfat
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Triklorasetik asit
DTNB	5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
SOD	Süperoksit dismutaz
ROS	Serbest oksijen radikalleri
DNA	Deoksiribo nükleik asit
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
nmol	Nanomol
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit

1.ÖZET

Çalışmada platin türevi antineoplastik ilaçlardan sisplatin ve karboplatin ile trombositopeni oluşturulan ratlarda likopenin koruyucu etkileri araştırıldı. Deney için 4-6 aylık 250-300 g canlı ağılıklarında Sprague-Dawley ırkı erkek ratlar kullanıldı. Toplam 48 rat her grupta 6 hayvan olacak şekilde 8 gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (Sisplatin; 5 mg/kg İ.M, 4 gün arayla iki doz), Grup 3 (Karboplatin; 60 mg/kg tek doz), Grup 4 (Likopen; 4 mg/kg oral), Grup 5 (sisplatin+likopen), Grup 6 (Karboplatin + Likopen) aynı dozaj rejiminde uygulandı. Grup 7 (Sisplatin + Dekzametazon; 1 mg/kg, İM) ve Grup 8 (Karboplatin +Dekzametazon) grubu olarak bölündü. Çalışmanın sonunda kan örnekleri (2 ml) kalpten antikoagulanlı tüplere alındı. Dekapite edilen hayvanlardan kemik, kemik iliği alındı. Kanda trombosit sayımları başta olmak üzere oksidatif stres parametreleri (MDA, CAT, GSH, GSHPx) spektrofotometrik olarak belirlendi. Kemik iliği ve dalak doku örneklerinde histopatolojik analizler rutin işlemlerle yapıldı.

Sonuç olarak Grup 2 (Sisplatin) ve Grup 3 (Karboplatin) uygulanan gruplar Grup 1 (Kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında plazma MDA düzeyinde önemli artış, kan ve GSH düzeyinde, CAT, GSH-Px, aktivitelerinde ise önemli bir azalış gözlenmiştir ($p<0,001$). Grup 5 (Sisplatin + Likopen) ve Grup 6 (Karboplatin + Likopen) uygulanan gruplar Grup 1(Kontrol) grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında MDA düzeyinde istatistiksel olarak önemli azalış, GSH düzeylerinde, CAT, GSH-Px, aktivitelerinde ise artış saptanmıştır ($p<0,001$). Grup 7 (Sisplatin + Dekzametazon) ve Grup 8 (Karboplatin +Dekzametazon) sırasıyla Grup 2

(Sisplatin) ve Grup 3 (Karboplatin) ile karşılaştırıldığında bu fark anlamlı bulunmadı.

Tüm deneme gruplarında genel olarak kemik iliğinde hipoplazi dikkati çeken başlıca değişimdi. Tek başına Grup 2 (Sisplatin) ve Grup 3 (Karboplatin) uygulanan gruplarda genellikle myelopoeziste ve megakaryositlerde azalmaya ilişkin kemik iliği hipoplazisi dikkati çekti. Deksametazon uygulamalarının ise yukarıda anılan değişimlere ek olarak özellikle eritropoeziste azalmaya neden olduğu ve hipoplazi şiddetini daha da artırdığı belirlendi ($P<0.001$). Likopen uygulamalarının ise hipoplastik değişimler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edildi.

Bu çalışmada Grup 2 (Sisplatin) ve Grup 3 (Karboplatin) uygulanan gruplar Grup 1 (Kontrol) ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,001$). Grup 4 (Likopen), Grup 5 (Sisplatin + Likopen) ve Grup 6 (Karboplatin + Likopen) uygulanan gruplar sırası ile Grup 2 (Sisplatin) ve Grup 3 (Karboplatin) uygulanan gruplar karşılaştırıldığında likopenin trombosit sayısını anlamlı olarak düşürdüğü belirlendi ($p<0,001$). Dekzametazonun ise trombosit sayısı üzerine etkisi anlamlı bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Cisplatin, likopen, carboplatin trombositopeni, rat

2. ABSTRACT

In this study, the protective effects of lycopene in rats with thrombocytopenia were investigated with platinum-derived antineoplastic drugs cisplatin and carboplatin. For the experiment, 4-6 months old Sprague-Dawley male rats weighing 250-300 g were used. A total of 48 rats were divided into 8 groups with 6 animals in each group. Group 1 (Control), Group 2 (Cisplatin; 5 mg/kg IM, two doses 4 days apart), Group 3 (Carboplatin; 60 mg/kg single dose), Group 4 (Lycopene; 4 mg/kg orally), Group 5 (cisplatin + lycopene), Group 6 (Carboplatin + Lycopene) were administered in the same dosage regimen. Group 7 (Cisplatin + Dexamethasone; 1 mg/kg, IM) and Group 8 (Carboplatin + Dexamethasone) were divided into groups. At the end of the study, blood samples (2 ml) were taken from the heart into tubes with anticoagulants. Bone and bone marrow were taken from the decapitated animals. Oxidative stress parameters (MDA, CAT, GSH, GSHPx) in the blood, especially platelet counts, were determined spectrophotometrically. Histopathological analyzes of bone marrow and spleen tissue samples were performed with routine procedures.

As a result, when Group 2 (Cisplatin) and Group 3 (Carboplatin) applied groups were compared with Group 1 (Control) group, a significant increase in plasma MDA level, a significant decrease in blood and GSH levels, CAT, GSH-Px and activities were observed ($p < 0.001$). When Group 5 (Cisplatin + Lycopene) and Group 6 (Carboplatin + Lycopene) applied groups were compared with Group 1 (Control) group, a statistically significant decrease was found in MDA levels, and an increase in GSH levels, CAT, GSH-Px, and activities ($p < 0.001$). When Group 7 (Cisplatin + Dexamethasone) and Group 8 (Carboplatin + Dexamethasone) were

compared with Group 2 (Cisplatin) and Group 3 (Carboplatin), respectively, this difference was not significant.

In all experimental groups, hypoplasia in the bone marrow was the main change that was noteworthy in general. Bone marrow hypoplasia, generally related to a decrease in myelopoiesis and megakaryocytes, was noted in the groups treated with Group 2 (Cisplatin) and Group 3 (Carboplatin) alone. In addition to the changes mentioned above, dexamethasone applications were found to cause a decrease in erythropoiesis and further increase the severity of hypoplasia ($P<0.001$). It was determined that lycopene applications did not have any effect on hypoplastic changes.

In this study, when Group 2 (Cisplatin) and Group 3 (Carboplatin) groups were compared with Group 1 (Control), a significant decrease in platelet count was observed ($p<0.001$). When Group 4 (Lycopene), Group 5 (Cisplatin + Lycopene) and Group 6 (Carboplatin + Lycopene) applied groups were compared, respectively, Group 2 (Cisplatin) and Group 3 (Carboplatin) groups, it was determined that lycopene decreased the platelet count significantly ($p<0.001$). The effect of dexamethasone on platelet count was not found significant.

Key Words: Cisplatin, carboplatin lycopene, thrombocytopenia, rat

3. GİRİŞ

3.1. Kanser

Kanser, tarihten günümüze kadar insan ve hayvanlarda, önemli bir sağlık problemi olmuştur. Latince yengeç anlamına gelen kanser kelimesi “carcinos” kelimesinden türemiştir. İlk defa MÖ üçüncü yüzyılda tümör terimi Hipokrat tarafından kullanılmış ve tümörün çevresindeki şişkin damarlar ise yengecin bacaklarına benzetilmiştir (1, 2).

Kanser, canlılarda hücrelerin hızlı ve kontrolsüz bir şekilde bölünmesi, çoğalması ve birikmesidir. Bu durumda yaşlı hücreler ölmez, kontrolün dışında büyür ve anormal hücrelere dönüşür. Sadece bir organı etkileyebildiği gibi diğer organlara da yayılarak etkisini gösterebilir (3). Kanserin nedenleri arasında bulunan çevresel karsinogenler ise fiziksel (ultraviyole ışınlar, radyasyon vb), kimyasal (sigara, afla toksinler, arsenik, ilaçlar vb.) ve biyolojik karsinogenler (virüs, bakteri ve parazit enfeksiyonları gibi) olarak üç gruba ayrılır (4, 5, 6,7).

3.1.1. Kanserin Tedavisi

Kanser tedavisinde her kanser tipinin kendine özgü bir tedavi yaklaşımı olsa da bazı belirlenmiş standart protokoller uygulanmaktadır. Lokalize tümörlü hastaların yaklaşık üçte biri, cerrahi operasyon veya ışın tedavisi gibi lokal tedavi içeren metotlar ile iyileşse de geriye kalan vakalarda kemoterapi birçok kanser türü için hala en yaygın tedavi şeklidir (8, 9, 10).

Kemoterapide kullanılan antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı olan seçiciliği yok denecek kadar az olsa da, kanser tedavisinde kemoterapinin amacı; vücuttaki sağlıklı hücrelere zarar vermeden veya en az zararla kanser hücresinin hızla çoğalmasını ve büyümesini durdurmak, aynı zamanda onları ortadan kaldırmaktır. Kanser hastalarının sadece hastalıktan değil aynı zamanda tedavilerin sebep olduğu yan etkilerden dolayı da yaşam kalitesi düşmektedir. Kanser tedavilerinde antineoplastik ilaçların kullanımı ve sonrasında görülen trombositopeni gibi yan etkiler tedavinin yarım kalmasına veya başarısızlıkla sonuçlanmasına neden olabilmektedir. Trombositopenin tedavisinde etkili onaylanmış bir tedavi protokolü olmamakla birlikte dışarıdan trombosit takviyesi ve glukokortikoid tedavileri gibi rutin tedavi protokolleri yapılmaktadır. Kemoterapötiklerin oluşturduğu trombositopeni kanser hastalarında cerrahi işlemleri karmaşık hale getirebilir ve kemoterapötik ilacın uygulanmasını geciktirme, dozun azaltılmasına yol açma veya ilacın verilmesini engelleyebilir ve sonuçta tedavide ciddi başarısızlıklara yol açabilir. İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda kanser tedavisinde kullanılan platin türevi ilaçların önemli ölçüde trombositopeni ve kanama zamanında artışlara yol açtığı bilinmektedir (11. 12. 13).

3.1.2. Kanser Tedavisinde Kullanılan Platin Türevi Antineoplastik İlaçlar

3.1.2.1. Sisplatin

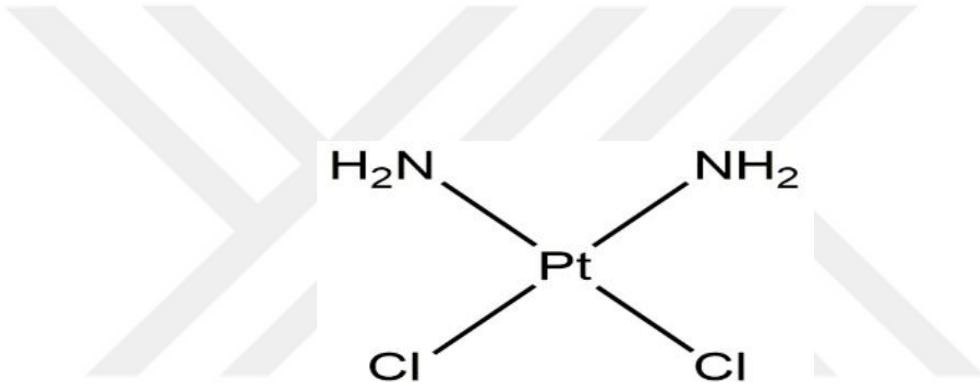
Sisplatin, 1960 yılında Rosenberg ve arkadaşlarının elektromanyetik alanda radyasyon uygulamasının memeli ve bakteri hücrelerinin bölünmesi üzerine etkisini araştıran deneyler yaptığı sırada, tesadüfen keşfedilmiştir. *Escherichia Coli* ile yapılan çalışmalarda bu bakterinin büyüme alanında platin elektrotları kullanılmış ve elektrotların bulunduğu alanda bakteri filamanlarının olduğundan

çok daha büyük ve uzun oldukları tespit edilmiştir (14). Daha sonra yapılan çalışmalarda bakteri filamanlarındaki bu değişikliğin elektromanyetik alandan ziyade platin elektrotlarından ortaya çıkan elektroliz ürünlerinin sebep olduğu tespit edildi. Peyron tarafından 1845’de yapılan çalışmalarda kimyasal analiz ile bu etkiye yol açan bileşenin platinin nötral bir sis izomeri olduğu bulundu ve Peyron kloridi olarak bilinen bu maddeye sisplatin adı verildi. Sisplatinin bakteri hücre bölünmesini ve çoğalmasını engellediği fakat diğer yapılarını etkilemediği için filamanların olduğundan çok uzun görüldüğü anlaşıldı. Sisplatin ile ilgili antineoplastik veriler 1965 yılında literatüre girdi ve 1968 yılında kanserli bir fareye periton içi sisplatin tedavisi yapıldıktan sonra tümör boyutunda nicel bir küçülme olduğu tespit edildi (15).

Sisplatinin keşfinden sonraki yıllarda nefrotoksisite, nörotoksisite ve ototoksisite gibi doz sınırlayıcı önemli yan etkilerinden dolayı kullanımı kısıtlansa da testis kanserlerinin tedavisinde elde edilen başarılı sonuçlar ve yan etkilerinin azaltılabileceğinin görülmesi sebebiyle 1970’li yıllardan sonra birçok kanser tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Kanser hastalarında ilk kez 1971 yılında uygulanmaya başlanan sisplatin kanser tedavisi için başarılı bulunmuş ve 1978’te Amerika Gıda ve İlaç Kurumu (Food and Drug Administration, FDA) tarafından onay alan ilk platin bileşiği olmuştur (16). İlk olarak germ hücreli tümörlerde kullanılan sisplatin günümüzde yetişkinlerde görülen akciğer, böbrek, baş/boyun, ovaryum ve testis kanserleri ile çocukluk döneminde sık görülen beyin tümörleri, osteosarkom, nazofarinks karsinomu gibi kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (12, 17).

3.1.2.1.1. Sisplatinin Moleküler Yapısı

Sisplatin moleküler yapı olarak merkezinde platin etrafında klor ile amonyum atomlarının bulunduğu ve *cis* formunda kimyasal bir ajandır. Suda çözünürlüğü az olup, oda sıcaklığında beyaz ve sarı-turuncu kristal toz şeklinde bulunan organik bir bileşiktir (Şekil 1). Sisplatinin *cis* ve *trans* olmak üzere iki izomeri bulunup sadece *cis* formu sitotoksik özelliğe sahiptir (18,19). Bu gruba ait ilk ilaç olup daha sonradan sisplatinin birçok analogu sentezlenmiş ve test edilmiştir. Bunlar arasında karboplatin ve okzaliplatin tedavide önemli antineoplastik etkilere sahiptir (16, 20).



Şekil 1: Sisplatinin Moleküler Yapısı

Sisplatin, DNA ile birleşerek zincirler arası bir takım çapraz kovalent bağlar oluşturur. Sisplatin'in kanser hücresi üzerine etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte kanser hücresinde DNA'nın sentezini ve replike olmasını durdurduğu, kanserli hücrelerde DNA hasarları oluşturduğu ve bu hücrelerin ölmesine neden olduğu bildirilmektedir. Yine sisplatinin seçiciliğinin olmaması, sağlıklı hücreler üzerinde de sitotoksik etkiler oluşturur. Kullanımını sınırlayan en önemli yan etkilerinin başında; nefrotoksisite, nörotoksisite, karaciğer

hepatotoksisite testis dokusu toksisitesi, iştahsızlık, miyelosupresyon, kemik iliği supresyonu ve ototoksisite sayılabilir (16, 21, 22).

3.1.2.1.2. Sisplatin Farmakokinetiği

Oral yolla kullanıldığında mide barsak kanalından emilmediğinden sisplatin sadece damar içi veya periton içi olarak kullanılır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %90 dolayındadır. Vücutta en yüksek dağılım gösterdiği dokular böbrek, karaciğer ve prostat'tır. Sisplatin vücutta bulunan doğal bariyerlerden plasentayı geçerek anne sütüne geçer ancak kan-beyin bariyerini geçemez. Sisplatin enzimatik olmayan biyotransformasyon ile aktif ve inaktif metabolitlere dönüştürülür. Vücuttan atılımı büyük ölçüde (yaklaşık %90) idrar ile olur. Dokuların sisplatinden tamamen arınması 6 ay kadar sürebilir (20).

Sisplatinin hücre içine girişi öncelikle aktif transport ile gerçekleşirken hücreye alınmasında pasif difüzyonun da kısmen payı vardır (23). Sisplatinin böbreklerden atılımı önemli ölçüde glomerüler filtrasyon ile olurken az oranda ise tubuler sekresyon ile atılır ancak tübüler reabsorbsiyona hiç uğramaz. Sisplatin böbrekler yoluyla atıldığı için böbrekte diğer organlardan daha fazla birikir ve nefrotoksisiteye neden olur (21).

Sisplatinin hücre içine alınması ile ilgili Organik Katyon Transporter (OKT) mekanizması organlara göre değişiklik gösterir ve OKT'nin 3 türü bilinmektedir. OKT-1 karaciğerde, OKT-2 böbrekte ve OKT-3 plasentada bulunur. Sisplatinin hücre içine girişi (OKT-2) aracılı ve elektriksel, voltaj bağımlı, çift yönlü, Ph ve sodyumdan bağımsız bir mekanizmadır. OKT-1 sisplatin transportu yapmaz ve bu durum sisplatinin organa özel toksik etkisini açıklar. Karboplatin ve oksaliplatin

gibi diğer platin analogları OKT-2 ile taşınmaması sebebiyle bu ajanların daha az nefrotoksik olmasının nedeni olduğu bildirilmiştir (24, 25).

3.1.2.1.3 Sisplatin Toksisitesi

Sisplatin akciğer kanseri, baş ve boyun kanserleri, ürogenital kanserler, özellikle testis, over ve mesane kanserleri dâhil solid tümörlerde önemli antitümör aktiviteye sahiptir ancak sitotoksik etkilerinin neden olduğu yan etkiler tedavide kullanımını kısıtlamaktadır (26, 27).

Sisplatinin tümör hücresi üzerine sitotoksik etki mekanizması, nükleer DNA'ya bağlanarak transkripsiyon ve replikasyon mekanizmasını engellediği bildirilmiştir. Yine çeşitli mekanizmalar ile tümör hücresinde mitokondriyal geçirgenliği artırdığı ve apoptozu başlattığıda bildirilmiştir. Ancak sisplatinin sağlıklı hücrelerde aynı apoptotik etkiye sebep olduğu anlaşılmıştır (28). Sisplatinin *cis* formu sitotoksik etki oluştururken *trans* izomerinde bu etki görülmez. *Cis* izomerinde hücre içinde, iki klorür iyonu, hidrojen bağlarıyla oluşan su molekülleri ile yer değiştirir, böylece platin çekirdekte DNA molekülüne bağlanabilir. *Trans* izomeri, ise karşılıklı klorür iyonları olan bir izomerdir ve tek atomunun değişmesi ile oluşan yeni ürünler, DNA'nın yapısını değiştiremez (8).

Birçok organ üzerinde toksik etkileri bulunan sisplatinin doz sınırlayıcı yan etkileri. Nefrotoksisite ve ototoksisitedir. Diğer önemli yan etkileri arasında nörotoksisite, kardiyotoksisite ve miyelosüpresyon sayılabilir. Sisplatin toksisitesinin sebep olduğu yan etkileri azaltmak amacı ile çok sayıda araştırmalar yapılmış ve bu çalışmalarda oksidatif hasarın önemli bir yer tuttuğu anlaşılmıştır. Dolayısıyla oksidatif hasarı engelleyen antioksidanlar ile yapılan çalışmalar çok fazladır.

Antineoplastik ilaçların kemik iliğini baskılaması sonucu trombosit, lökosit ve nötrofil sayılarında azalmalar onların hematopoetik yan etkileridir (5, 29, 30).

Güncel çalışmalarda daha etkili ve daha az toksik yan etkiye sahip sisplatin analogları araştırılmaktadır. Sisplatinin doz kısıtlayıcı nefrotoksik etkileri nedeniyle böbrekler üzerine daha az nefrotoksik karboplatin bileşikleri geliştirilmiş ancak bu ilacın da kemik iliği ve trombosit üretimi üzerine çok daha olumsuz etkileri nedeniyle günümüzde sisplatin hala daha yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Karboplatinin sisplatine olan üstünlüğü, sisplatin nefrotoksitesinin görüldüğü terapötik dozdan beş kat daha yüksek dozda kullanılabilir olması ve daha az nefrotoksik etkisinin olmasıdır (31, 34).

Sisplatinin toksik etki mekanizmaları henüz net olarak açıklanamamıştır. Bununla ilgili çeşitli görüşler bildirilmiştir. Bunlardan birincisi sisplatin doğrudan sitotoksik Pt-DNA kompleksini oluşturduğu öne sürülmüştür. Pozitif yüklü Pt atomu hücresel DNA, RNA ve proteinleri bağlayabilir. Pt-DNA kompleksinin özellikle hücre bölünmesi üzerinde önemli toksik etkileri mevcuttur (33). İkinci bir mekanizma ise, sisplatinin redükte glutatyon (GSH) ile konjugasyonu sonucu oluşan reaktif tiyoller aracılığıyla nefrotoksiste oluşturmasıdır (35).

3.1.2.1.4. Sisplatinin Farmakolojik Etki Mekanizması

Sisplatin, platinyum içeren kemoterapötik bir ajandır. Etki mekanizması, içeriğindeki platinyum kompleksleri ile DNA bağlarında kırılmalara neden olarak, kanserli hücrelerde apoptozu tetikleyip, kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlamak şeklindedir (36, 37, 38).

Sisplatinin terapötik etkisi, DNA çift zincirinde sarmal içi çapraz bağlar yapar ve hücrelerde DNA sentezini engelleyen bir yapıya dönüştür (36). Oluşan bu yapı kanser hücrelerinde DNA biyosentezini inhibe eder. Yani sisplatinin sitotoksik etki mekanizması, DNA'ya bağlanarak DNA replikasyon ve transkripsiyon mekanizmasını inhibe etmesi ile açıklanmaktadır. Sisplatinin diğer bir mekanizması ise mitokondriyal permeabiliteyi artırarak apoptozu indüklemektir. Bu apoptotik etki aynı zamanda sisplatin toksisitesinde de rol oynamaktadır (19). Sisplatin ve bu yapıdaki diğer platinyum bileşikler ile DNA bağlarında kırılmalara neden olarak, kanserli hücrelerde apoptozu tetikleyip, kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar. Sisplatin'in sadece *cis* izomeri sitotoksiktir diğer özellikleri ve etki mekanizması alkilleyici ilaçlara benzerdir. Kanser hücrelerine her dönemde etkili bir ilaçtır (33, 37, 39-41).

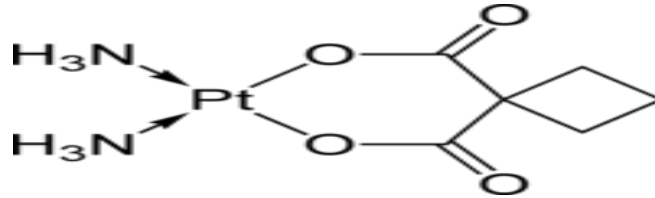


Şekil 2. Platinin *cis* ve *trans* Formu

3.1.2.2 Karboplatin

Karboplatin [cis-diammino I, I-siklobutandi karboksilato platin (II)], yapısal olarak sisplatine benzer ancak 2 klor atomunun yerini alan bir dikarboksilat şelat ligandı olan ikinci nesil platin bileşiğidir (34, 42-44). Toksik etki mekanizması, direnç mekanizması sisplatin ile aynı olan karboplatin ikinci jenerasyon platin analogudur. Bununla birlikte, sisplatine kıyasla daha az renal ve gastrointestinal toksisite gösterir. Doz kısıtlayıcı toksisitesi ise daha çok kemik iliği depresyonudur. Karboplatin tedavisi için güçlü sıvı tedavisi gerekmediğinden, karboplatinin hastaya daha kolay uygulandığı görülür ve böylece çeşitli kemoterapi tedavilerinde sisplatinin yerini alır (34, 45).

Karboplatin, insanlarda yumurtalık kanserlerinin tedavisinde kullanılması önerilen 'ikinci nesil' bir platin türevi olup ayrıca küçük hücreli akciğer kanserlerinde de başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (46).



Şekil 3. Karboplatin Moleküler Yapısı

Hem sisplatin hem de karboplatin DNA ile reaksiyona girerek, zincir ve zincirler arası ve DNA-protein çapraz bağları oluşturur. Bununla birlikte, bu çapraz bağlar, sisplatinden ziyade karboplatin ile daha sonra oluşturulur. Klinik öncesi toksikolojik çalışmalarında, karboplatinin tolere edilebilirliğinin sisplatinden farklı olduğu bildirilmiştir. Sisplatinde görülen şiddetli nefrotoksisite belirtileri genellikle görülmez, ancak bazen böbrek fonksiyonlarında azalmaya ilişkin geri dönüşümlü

belirtiler rapor edilmiştir. Kanser tedavinde kullanılacak platin analogunun seçimi, birçok faktöre bağlı olabilir. Bunlar arasında tedavinin hedefleri, birlikte kullanılacak ilaçlar ve kanserin türü sayılabilir. Karboplatinin doz sınırlayıcı toksisitesi, ağırlıklı olarak trombositopeni olmak üzere doza bağlı mielosupresyondur. Lökopeni ve anemiler de ortaya çıkar ancak daha az şiddetlidir. Trombositinin en düşük seviyeleri uygulamadan 14-28 gün sonra ortaya çıkar (31, 34). Henüz çok az şey biliniyor olmasına rağmen, tekrarlayan karboplatin uygulamalarının mielosupresyon üzerindeki etkilerinin trombositopeni ve lökopeninin kümülatif olabileceği ile ilgili hayvan çalışmaları mevcuttur. Karboplatin ile tedavi edilen hastalarda mielosupresyonu azaltmak veya önlemek, bu ilacın faydasını belirgin şekilde artırabilir (4, 43, 47-50).

3.2. Kortikosteroidler ve Trombositopenin Tedavisi

Kortikosteroidler, yangıyı azaltmak, bağışıklık sistemini ve kanserli hücreleri baskılamak için kullanılan steroid benzeri ilaçlardır (51). Kortikosteroidler glukoz metabolizması, lipid metabolizması, protein metabolizması, kemik metabolizması, hematopoietik sistem, kardiyovasküler sistem ve santral sinir sistemlerini etkileyen antiinflamatuvar, immünsupresif ve birçok etkileri olan ilaçlardır. Memelilerde neredeyse her organı etkileyen ve bu sebeple farklı hastalıkların tedavisinde sık kullanılan ilaç grubudur (52, 53).

3.2.1. Farmakokinetik Özellikleri

Sistemik kortikosteroidlerin gastrointestinal sistemde emilimleri tamdır. Kanda maksimum düzeye 2-8 saatte ulaşılır. Kortikosteroidler hücrelere basit difüzyonla girmektedir. Vücutta yarılanma ömürleri 90-180 dakika arasındadır. Diğer birçok ilaç gibi karaciğerde metabolize edilir ve böbrekler yoluyla atılır (47, 54).

3.2.2. Farmakolojik Etkileri

Kortikosteroidler glikoz metabolizması üzerine etkisi insüline zıttır. Glikoneojenez yoluyla kan şekerinin yükselmesini sağlar, glikojen sentetaz enzimini etkileyerek karaciğerde glikojen üretimi ve depolanmasını artırmaktadırlar ve yağ dokusu hücrelerine glikoz girişini azaltmaktadırlar. Protein metabolizması üzerine etkisi karaciğer dışındaki dokularda protein sentezini engeller, bağ dokuda ve çizgili kaslarda protein yıkımını artırır. Kortikosteroidler ile yüksek dozda yapılan tedavide lipid metabolizmasında lipolizi ve iştahı artırarak lipojenik etki oluştururlar. Ayrıca vücuttaki yağ yerleşim düzenini bozarak Cushing Sendromuna neden olduğu bilinir (47). Steroidlerin yangıyı baskılayarak kızarıklık, ateş, şişme gibi makroskopik ve patolojik belirtileri önler ve yangı hücrelerinin damar dışına geçişini engellerler. Yine santral sinir sistemi, kardiovasküler sistem, kemikler, böbrekler ve kalsiyum metabolizması üzerine etkileri de vardır. Eritrosit, lökosit ve trombositin gibi kan hücrelerinin hematopoetik sistemde kemik iliği ve kandaki seviyesini artırdığı bildirimiştir (47,54).

3.2.3. Yan Etkileri

Kortikosteroidlerin yararlı terapötik etkilerinin yanı sıra, özellikle bağışıklık hücreleri üzerinde istenmeyen etkileri olduğuda bildirilmiştir (55). Kortikosteroidler osteoporoz, büyümenin baskılanması, cushing sendromu, myopati, psikiyatrik etkiler, yangı gelişmesinin kolaylaşması, peptik ülser, diyabet, katarakt, glokom oluşmasına sebep olabilir. Ayrıca, ödem ve hipokalemi diğer yan etkileridir (56, 57).

3.2.4. Kullanım Alanları

Günümüzde glukokortikoidlerin hayat kurtarıcı ilaç olarak yaygın şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Astım, dermatolojik hastalıklar (egzama, sebore dermatit), alerjik hastalıklar, adrenokortikal yetmezlik, artrit, bursitis, anafilaksi, nörolojik hastalıklar, enfeksiyon hastalıklar, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı tedavisinde sık kullanılmaktadır. Birçok çalışmada, lösemi, lenfoma, otoimmün hemolitik anemi, idiopatik trombositopenik purpura, HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelets) sendromu gibi hastalıkların tedavisinde deksametazonun trombosit sayısında artışa sebep olduğu bildirilmiştir (58). Kortikosteroidlerin trombositopeni tedavisi ile ilgili olarak antikorla kaplanmış trombositlerin dalak veya kemik iliğinde tutulmasını inhibe edebileceği, dalakta, kemik iliği gibi organlarda antikor yapımını azaltabileceği veya kemik iliğinde trombosit yapımını arttırabileceği yönünde etki edebileceği bildirilmektedir (59-62).

Glikokortikoidlerin oksidatif stres üzerine etkileri belirgin değildir. Organizmada serbest oksijen radikalleri ile antioksidan sistem arasındaki fark serbest radikaller

lehine bozulduğunda oksidatif stres gelişir. Bunun sonucunda serbest oksijen radikalleri organizmada lipid yapı, nükleik asit ve protein yapılarında hasara sebep olurlar. Canlı organizmada oluşan lipid peroksidasyon belirteçlerinden malondialdehit üzerine glukokortikoidlerin belirgin bir etkisi bulunmamaktadır. (63-65).

3.3.Trombositler ve Kemoterapi

3.3.1. Trombositlerin Yapısı

Trombositlerin ilk defa 1882 yılında Bizzozero tarafından, kanın pıhtılaşma işleminde ve tromboz oluşumunda görev aldığını bildirmiştir. Kemik iliğinde megakaryositler tarafından oluşturulan trombositler 1906 yılında Wright tarafından bulunmuştur (66). Daha sonraları 1914 yılında pıhtılaşma problemi, 1930 yılında Rh faktörü bulunmuş ve kan hastalıklarında tedavi amacıyla kan nakli yapılmaya başlanmıştır (67).

Çekirdeksiz kan hücrelerinden olan trombositler hemostazis ve yara iyileşmesi için esansiyeldirler ve trombosit sayılarının normal aralıkta tutulması insan ve hayvan sağlığı için önemlidir. Trombositler, kemik iliğinde megakaryosit adı verilen çok çekirdekli hücrelerin sitoplazmasında sentezlenip dolaşıma salınırlar ve 7-10 gün boyunca dolaşımda kalırlar. İnsanlarda normal dolaşan trombosit miktarı 150.000-450.000 trombosit/ml tüm kan olarak bilinmektedir. 150.000 trombosit/ml'lik düzeyin altı trombositopeni olarak adlandırılır ve yaşamı tehdit edebilecek riskli kanamalara yol açabilir. İlaçların indüklediği trombositopeni çeşitli antibiyotikler, kalp ilaçları ve antineoplastik ilaçların uygulanmasından sonra görülebilir. İlaçlara bağlı trombositopeni ya kemik iliği megakaryositleri üzerine sitotoksik etkilerinden veya dolaşımdaki trombositlerin klirensinin artmasıyla oluşabilir (68, 69).

Kemik iliği megakaryositlerde üretimi yapılan trombositlerin görevi damar duvarının bütünlüğü bozulduğunda, bu bölümü pıhtıya dönüşerek tedavi etmektir. Bu nedenle etkinleştirilmesi hayati önem taşır. Trombositler içinde alfa ve delta granül olarak bilinen iki tür granülün varlığı bildirilmiştir. Alfa granül içerisinde fibrinojen gibi pıhtılaşma faktörleri bulunurken, delta granüllerde ise kalsiyum, serotonin gibi maddeler bulunur (70, 71).

Trombositler antikoagulansız kan ile hazırlanan boyanmış frotilerde tek tek değil ikili, dördlü ya da daha büyük kümeler halinde görülürler. Hücrenin ortası koyu mor renk boyanan azürofil granüllü kısım, çevresinde ise daha soluk mavi boyanan granülsüz sitoplazma kısmı olarak görülür. Perifer kısımlarına hiyalomer, orta kısımlarına granulomer denir (72).

3.3.2 Trombositlerin Oluşumu

Trombositler kemik iliğinin megakaryosit olarak bilinen çok çekirdekli hücrelerinde oluşur. Megakaryositler sistemik dolaşıma girince trombosit olarak adlandırılırlar (73). Trombositlerin megakaryositerden üretimi yaklaşık 3-4 gün sürer (70). Dolaşımdaki ömürleri 8-10 gün olan trombositler daha sonra dalakta parçalanır (72). Trombopoietin hormonu, karaciğer tarafından üretilen trombosit yapımını ve çoğalması için önemi bir ajandır (74). Antibiyotikler, kalp ilaçları ve antineoplastik ilaçların uygulanmasından sonra trombositopeni görülebilir (66).

3.3.3. Trombosit Mekanizması

Trombositler organizmada yaygın bir damar ağı içinde sürekli dolaşım halinde bulunan pıhtılaşmadan sorumlu kan hücreleridir. Vücudun herhangi bir bölgesindeki kanama ve yaralanma, önlem alınmadığı takdirde önemli miktarda kan kaybıyla sonuçlanabilir. Bir damarın hasara uğraması halinde kan kaybının önlenmesinde hem damar sisteminde hem de kanın kendisi hemostazise yönelik kanamanın durdurulması için vazokonstriksiyon, trombosit tıkaçının oluşumu ve koagülasyon (pıhtılaşma) olmak üzere üç aşamalı bir mekanizma ile çalışır (72).

Vücudun hemostazı sağlaması için trombositler, pıhtılaşma faktörleri, pıhtılaşma inhibitörleri ihtiyaç duyulan kan hücreleridir (75). Trombositler pıhtılaşma mekanizmasından başka immunolojik reaksiyonlarda, kan damarları endotel tabakasının bozukluklarında, yangıda, kan dolaşımına giren madde ve ilaçlara karşı organizmanın reaksiyonunda etkilidirler. Trombositler hücreler arasındaki aktiviteyi hızlandırarak damar endotelindeki yaranın iyileşmesini sağlamaktadır. Trombositler üzerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda trombositlerin hücre içinde ve hücreler arasındaki arabuluculuğuna bağlı olarak iyileşmeyi hızlandırdığı bilinmektedir (72, 76). İlaçlar dolaşımdaki trombositlerin yıkımını immun veya nonimmun aracılı mekanizmalar ile artırabilir (66). İmmun aracılı trombosit yıkımı ilaca bağımlı antikorlar trombositlere ya doğrudan veya eklenti proteinlerine bağlanırlar. Sonrasında trombositlerin yüzeyindeki ilaca bağımlı antikorları tanıyan makrofajlar tarafından fagosite edilirler. İmmun aracılı olmayan ilaca bağlı trombosit yıkımlanması ise ilacın doğrudan sitotoksik etkileri neticesinde şekillenmektedir. Yine immun aracılı olmayan trombosit yıkımlanmalarında

apoptozisin de rol aldığı ve buna bağlı trombositopenilerin şekillenebileceği bildirilmektedir (11, 67, 77, 78).

3.3.4. Trombosit Sayımı

Trombositlerin sayımı otomatik kan sayım makinesi kullanılarak sayılır. Ratta kan pulcuğu $620-1450 \times 10^3 \text{ mm}^3$, tavşanda $720-750 \times 10^3 / \text{mm}^3$ oranındadır (Çetin N 2004). Kan pulcuğu, koyunda $500 \times 10^3 / \text{ml}$, golden hamsterde $500-800 \times 10^3 / \text{ml}$, insanda $150-450 \times 10^3 / \text{ml}$ oranında bulunmaktadır (80).

Trombositlerin sayıca azalması bir hastalık olmayıp, trombositopeni olarak adlandırılan yan etkidir. Trombositopeniler yapım azlığı, yıkım artışı ve kan pulcuğu dağılımındaki bozukluklara bağlı olarak şekillenmekle birlikte birçok farklı mekanizmalarla trombositopeni şekillenebilir (81).

3.3.5. Kanser ve Trombositopeni

İnsanlarda normal dolaşımdaki trombosit sayısı, 150.000–450.000 trombosit/ml'dir. Yaşamı tehdit eden kanama riskini artıran trombositopeni 150.000 trombosit / ml' nin altındaki sayıdır. Kanser hastalarında gözlenen trombositopeni nedeniyle ciddi kanama riski vardır. Trombositopeni görülme sıklığı ve derecesi tümörün türüne, hangi aşamada olduğuna ve tedaviye bağlıdır. Akut lösemi hastalarının neredeyse tamamında trombosit sayısı % 5 den daha az bulunmuştur (82). Bazı ilaç tedavileri, dolaşımdaki kan hücrelerinin ve trombositlerin sayısını düşürebilir, bu da anemi ve kanama sorunlarını gündeme getiren olumsuzluktur (83, 84). Gemsitabin veya platin türevi antineoplastik ilaçlar tutarlı bir şekilde en yüksek trombositopeni riskine sahiptir. Yetişkin çalışmalarında karboplatin, gemsitabin, paklitaksel, oksaliplatin, etoposid ve bunların

kombinasyonlarının trombositopeniye daha sık neden olduğu bilinmektedir (85, 86). Trombosit sayısındaki azalma, kemoterapotik ilaçların doz sınırlamalarına, cerrahi müdahalelerin gecikmesine ve iç kanama gibi ciddi komplikasyonlara sebep olmaktadır (12). Kemoterapinin sebep olduğu trombositopenin engellenmesi veya tedavisinde uygun ortak bir yaklaşım yoktur (78, 79).

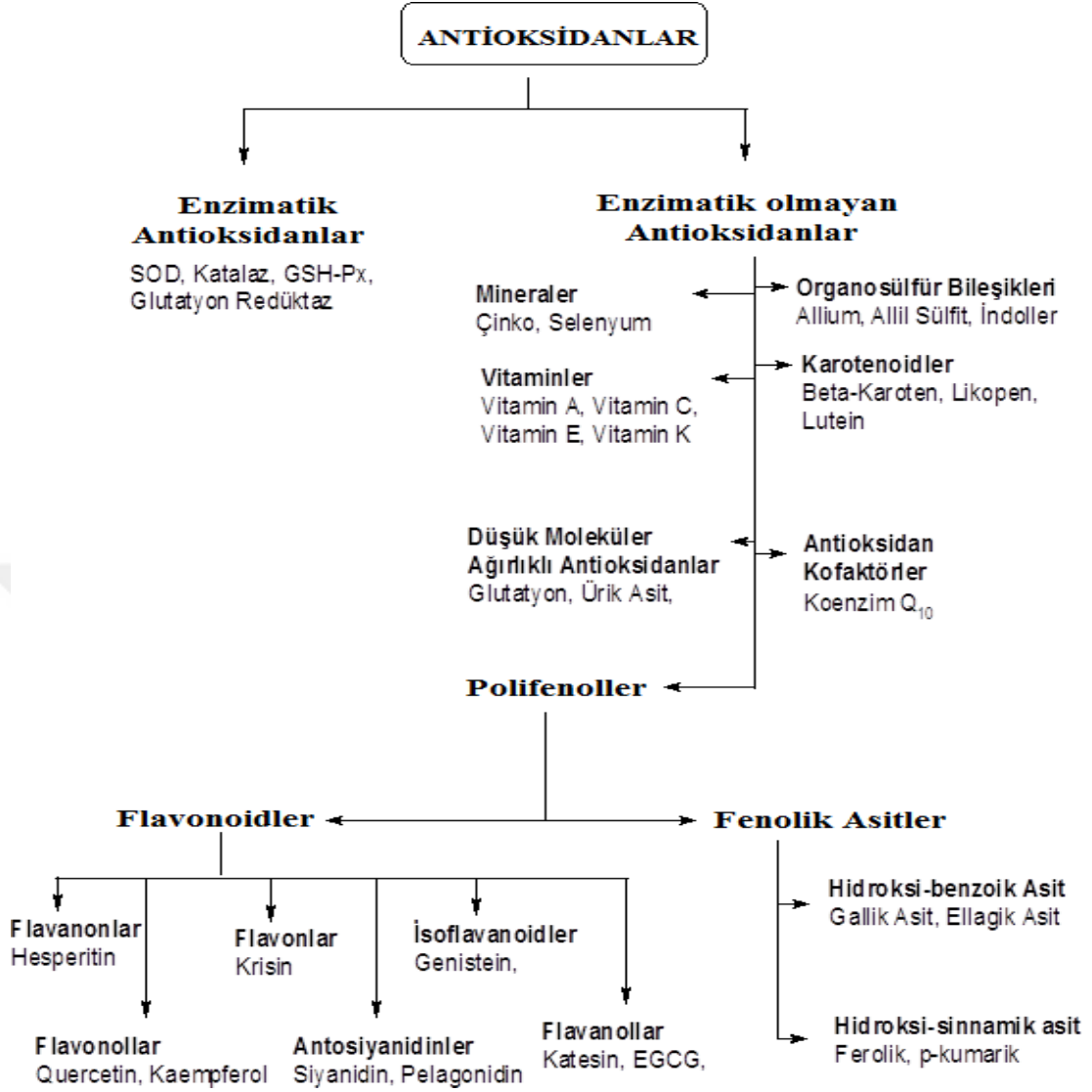
Günümüzde trombositopeni tedavisine trombosit transfüzyonu uygulamaları yapılmaktadır. Trombosit transfüzyonlarının ciddi morbidite ve mortalite ortaya çıkardığı ve ekonomik maliyetleri nedeniyle diğer olası tedavi edici müdahaleler önemlidir. İnterlökin-II ve trombopoietin, trombosit üretimini uyarmak ve bu şekilde transfüzyon ihtiyacını azaltmak tedavide bir seçenektir (87, 88). Diğer bir seçenek ise yan etkileri kuvvetli olan güçlü ve pahalı kortikosteroidler, dalağın operasyonla alınması ve bağışıklık sistemini baskılayan ajanlar olarak bilinmektedir. Bu nedenle kemoterapinin sebep olduğu trombositopenin tedavi edilmesi için alternatif yöntemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmiştir (88, 89).

Kemoterapotiklerin sebep olduğu trombositopenin altta yatan sebepleri ile ilgili çeşitli görüşler bulunmaktadır. Kemoterapotik tedavinin oluşturduğu trombositopeni miyelosupresyona bağlıdır. Miyelosupresyon kemik iliği hipoplazisine neden olabilir. Trombositopeni ayrıca kemoterapi ajanlarının immün aracılı mekanizmaları, karaciğer toksisitesine bağlı dalak sekestrasyonu trombosit salınımı üzerindeki doğrudan etkisi sonucunda oluşan apoptoz nedeniyle de oluşabilir (86, 90, 91).

3.4. Antioksidan Sistem ve Oksidatif Hasar

İnsan ve hayvanlarda serbest radikalleri kontrol altında tutmak ve oluşturabileceği zararlı etkilere karşı koruyucu mekanizma antioksidan savunma sistemidir. Antioksidanlar serbest radikalleri etkisiz hale getiren ve hücrel hasarı önleyen endojen veya eksojen maddelerdir. Savunma sisteminin önemli bir parçası olan antioksidanlar hücrenin yapım ve yıkım sonucu oluşturduğu hücre için zararlı ara ürün olan serbest radikalleri zararsız hale dönüştürüp savunma sistemini koruyucu etki ile desteklerler. Vücutta antioksidan dengeyi korumaktan sorumlu antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olup, endojen kaynaklı olanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılır (92)

Katalaz (CAT), redükte glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR)' gibi antioksidan enzimler serbest radikalleri kontrol altına alma özelliğinde olup etki mekanizmaları farklıdır. Vitamin C, vitamin E, hemoglobin, seruloplazmin, albümin, ürik asit ve polifenol gibi bileşiklerin ise oksijen radikalini yakalayıp radikal zincir reaksiyonlarını kırdığı ve hücreyi onardığı ve böylece serbest radikal oluşumunu önlediği bildirilmiştir (93-96).



Şekil 4. Antioksidanların Sınıflandırılması (96).

Sağlıklı insanlarda metabolizma sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen bileşikleri vücutta bulunan antioksidanlar tarafından büyük ölçüde ortadan kaldırılır. Oksidatif stres ise vücutta serbest radikallerin antioksidanlara karşı baskın gelmesi ve dengenin bozulması durumunda ortaya çıkmaktadır. Vücutta dengenin bozulması ile ortaya çıkan fazla miktarda serbest radikal, lipidler ile reaksiyona girip lipid peroksidasyona sebep olur. (97).

Hücreler günlük rutin oksidatif stres ile oluşan serbest radikalleri tek başlarına ortadan kaldıracak kadar güçlü değildir. Ancak diyet, egzersiz, yaş, psikolojik stres hastalıklar ve ilaç uygulamaları gibi durumlarda serbest oksijen bileşikleriyle antioksidanlar arasındaki denge bozulur ve hücre içi savunma sistemi yetersiz kalır. Böylece oksidan hasara uğrayan DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi hücredeki makromoleküllerin yapı ve fonksiyonlarının zarar görmesine, lipid peroksidasyona, ATP'nin azalmasına, membran geçirgenliğinin artmasına ve DNA hasarı gibi etkiler göstererek hücre bütünlüğünün bozulmasına neden olur (98-100).

Bazı kemoterapötik ilaçlar kanser hücrelerini ortadan kaldırmak için oksidatif stresi tetikler ve kanser hücrelerinin ölümüne neden olurken aynı zamanda hedeflenmeyen dokularda da aynı etkiye sebep olur. Sisplatin ve diğer platin bazlı antineoplastikler tarafından neden olunan nefrotoksisite, ototoksisite ve trombositopeni bunlara örnek verilebilir. Antioksidanlar ile desteklenen beslenme tedavisi ise serbest radikalleri ortadan kaldırmaktadır (98-102).

Kemoterapi alan hastalarda, plazma lipid hidroperoksitleri ve malondialdehit düzeylerinin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığını göstermektedir (105, 109). Kemoterapi tedavisi sonucu oluşan reaktif oksijen bileşiklerinin; DNA, RNA, protein ve lipid gibi makromoleküllere olan etkileri ile hücre hasarına veya ölümüne neden olabildiği belirtilmektedir (110). Yapılan birçok deneysel çalışmada antioksidan maddelerin, doksorubisin ve sisplatin gibi sitostatik ilaçlarla birlikte tedavisinin, antitümör etkiyi azaltmadığı, ve tek başına kemoterapi yapılanlara göre birlikte antioksidan uygulananlarda hayatta kalma oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (101, 103, 111). Kemoterapi ile ilgili bazı toksik etkilerin sıklığını ve bu etkilerin şiddetini antioksidanların azaltabileceği

bildirilmektedir (102, 112-114) Ayrıca kemoterapiye bağı toksisitenin azalması, ilaçların daha yüksek ve etkili dozların kullanılmasını sağlamak için antioksidan tedavinin etkili olduğu bildirilmiştir (113-116).

3.5. Karotenoidler

Karotenoidler genellikle bitkiler ve bazı mikroorganizmalar tarafından sentezlenen, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan bir renk maddesidir. Hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenemeyen karotenoidler dışarıdan gıda takviyesi olarak alınması zorunludur. Antioksidanlar arasında önemli bir yere sahip olan karotenoidler Weckencoder tarafından 1831 yılında havuçlardan izole edilmiştir. Serbest radikal yakalama kapasitesi konjuge çift bağ karbon özelliğinden kaynaklandığı için serbest radikal yakalama kapasiteleri farklıdır (116).

Karotenoidlerin önemli bir sınıfı olan likopen 1910 yılında sentez edilmiş, 1931’de moleküler yapısı belirlenmiş ve daha sonrasında yapılan çalışmalarda en fazla antioksidan aktivitenin likopende olduğu bildirilmiştir (117).



Şekil 5. Karotenoidlerin Özellikleri

3.5.1. Likopen

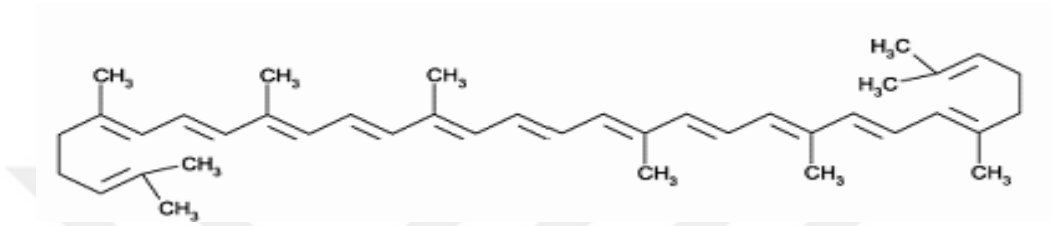
Kırmızı bir karoten ve karetenoid pigmenti olan likopen domates, karpuz gibi sebze ve meyvelerde bulunan fitokimyasaldır. Likopen kimyasal olarak bir karoten olmasına rağmen vitamin A aktivitesine sahip değildir. Moleküler ağırlığı 536.85 dalton olan likopen nonsiklik karetenoid olup suda çözünmez. Likopen lipidlerin, proteinlerin ve DNA oksidasyonu ile ilişkili hastalıkların önlenmesinde etkili bir maddedir. Güncel yapılan *in vitro* çalışmalarda likopenin antioksidan kapasitesinin vitamin E'den 100 kat fazla olduğu, bazı kanser tiplerine karşı kimyasal önleyici etkiler sergilediği ve kemoterapötiklerin oluşturduğu nefrotoksisite, kardiyotoksisite ve benzeri etkilere karşı önemli koruyucu etkinlik gösterdiği bildirilmektedir. Likopen yine geleneksel tıpta kalp-damar hastalıkları, nörotoksisite, hepatik hasar ve nefrotoksisteye karşı antioksidan ve antiapoptik ajan olarak kullanılmaktadır (118, 119).

Likopenin kemoterapötik ajanlarla olan tedaviye yardımcı madde olarak kullanılması yönünde yapılan araştırmalar ilgi odağı haline gelmiştir. Birçok araştırma domates ve greyfurt gibi yüksek oranda likopen içeren besinlerin, hem etkili bir antioksidan hem de antikarsinojenik, antiteratojenik ve kolesterol düşürücü etkisinin olduğu aynı zamanda rahim, karaciğer, prostat gibi kanserlerde koruyucu ve tedavi edici olduğu bildirmiştir. Ayrıca likopenin karsinojenleri ortadan kaldıran glutatyon S-transferaz ve glutatyon peroksidaz aktivitesini artırdığı bildirilmektedir (120- 122).

3.5.1.1. Likopenin Kimyasal Özellikleri

Karetenoid ailesine bağlı olan likopen diğer karetenoidlerden farklı olarak β -iyonik halkası olmadığından vitamin A etkisini göstermez. β -iyonu halkasının açık olması

sebebiyle, serbest oksijen radikallerini yok etmekte daha etkilidir. Likopen lipofilik bir hidrokarbon yapıya sahip olduğundan kloroform ve aseton içinde serbestçe çözünür. Eter, hekzan ve bitkisel yağlarda daha az çözünür ancak metanol, etanol ve suda çözünmez. Likopenin moleküler yapısı $C_{40}H_{56}$ şeklindedir (123, 124).



Şekil 6: Likopenin Kimyasal Yapısı

3.5.1.2. Likopenin Emilim, Dağılım ve Metabolizması

Gıdalar ile vücuda alınan likopen, pasif difüzyonla intestinal mukozadan emilir ve emilen likopen tüm vücuda dolaşım sistemi yoluyla dağılmaktadır Karaciğere taşınmak için lenfatik sisteme ve daha sonra da lipoproteinlere bağlanarak farklı organlara taşınmaktadır. Likopenin ortalama 2-3 günlük yarı-ömürü vardır (125-127).

Likopenin bitkilerdeki etkili izomeri *trans* izomeridir ancak insan plazmasında karışım olarak bulunur (122). Daha çok *trans* izomeri formlarını içeren likopen ile beslenen hayvanların serum ve dokularında *cis* likopenin varlığı da bildirilmiştir (128). Dokulardaki likopenin oksidasyon ile metabolizmaya uğradığı ve polar metabolitlerinin bazı oksitlenmiş formlarının olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu formların biyolojik önemi açık değildir (129). Likopenin dokulardaki dağılımı aynı değildir. Diyetle alınan karotenoidlerin insanlarda karaciğer, adipoz doku, prostat,

böbrek, akciğer, beyin, deri gibi dokuların yanı sıra serum ve anne sütünde de depolanabildiği gösterilmiştir. Likopenin dokularda birikmesine neden olan biyokimyasal mekanizmalar tam olarak anlaşılmamakla birlikte lipoprotein reseptörlerinin yoğun olduğu dokulara lipoproteinler aracılığıyla taşındığı bildirilmiştir (130-132).

Doku (nm/g)	İnsan	Rat
Testis	4.34-21.36	NA
Dalak	NA	21.21
Adrenal Bez	1.90-21.60	NA
Karaciğer	1.28-5.72	20.30-1.90
Prostat Bez	0.80	0.32-0.06
Göğüs	0.78	NA
Pankreas	0.70	NA
Akciğer	0.22-0.57	0.115
Kalp	NA	0.08-0.03
Böbrek	0.15-0.62	NA
Kolon	0.31	0.46
Deri	0.42	NA
Ovaryum	0.30	NA
Mide	0.20	NA
Beyin	ND	0.017

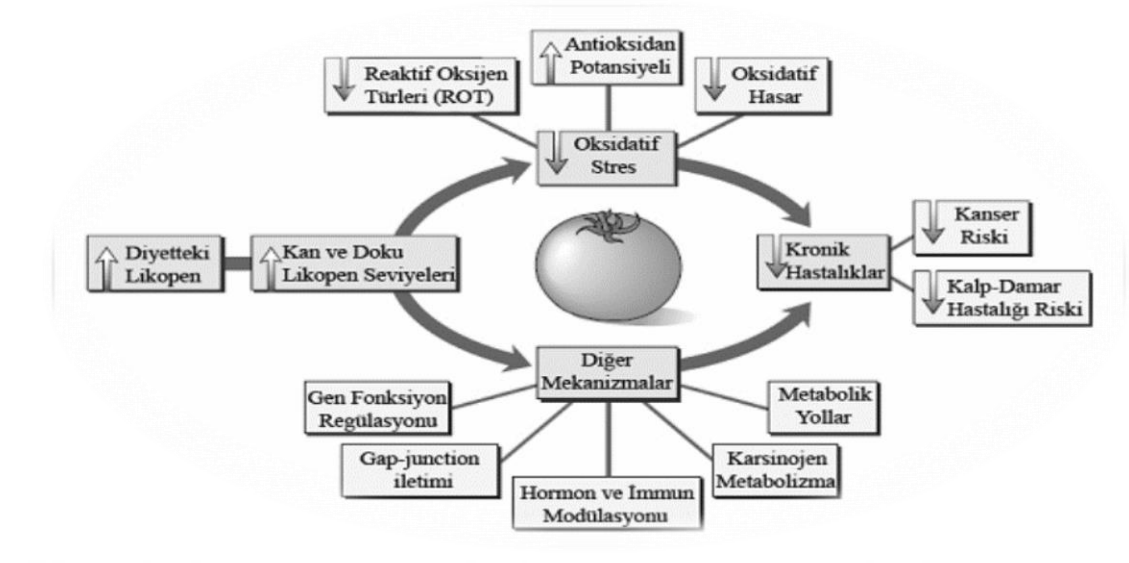
Tablo 1. İnsan ve Sıçan Dokularında Bildirilen Likopen Düzeyleri

Not: SD = standart sapma, NA = mevcut değil, ND = saptanabilir değil

3.5.1.3. Likopenin Etki Mekanizması

Likopenin etki mekanizmasında oksidatif ve oksidatif olmayan mekanizmalar olduğu bildirilmiştir. Oksidatif mekanizmalara ile ilgili çalışmalarda, antioksidan özelliği olan likopenin, hücrenin önemli molekülleri olan lipitler, lipoproteinler ve DNA'yı oksidatif hasara karşı koruyarak kanser önleyici etkisinin olduğu bildirilmiştir. Likopen provitamin A aktivitesine sahip olmamakla birlikte serbest oksijen radikallerini önleyerek antioksidan olarak görev yaptığına dair çok sayıda çalışmalar mevcuttur (133, 134, 135).

Oksidatif olmayan mekanizmalarda likopenin hücreler arası geçiş mekanizmalarını düzenleyici özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda antikarsinojenik etkileri olduğu, Rb ve p53 gibi bazı antionkogenlerin ve düzenleyici proteinlerin, karsinojen etkilere sebep olan fosforilasyonlarını baskıladığı ve hücre bölünmesinin ilk basamağını durdurduğu yine çeşitli kanser hücre kültürlerinde insülin benzeri büyüme faktörü tarafından indüklenen hücre çoğalmasını azalttığı bildirilmiştir (130). Başka bir çalışmada; likopenin enzimatik olmayan bir şekilde asikloretinoik asit ve apolikopenallere bölündüğü gösterilmiş ve 5,6-dihidroksi-5,6-dihidro likopen gibi metabolitleri insan plazmasında tespit edilmiştir (130, 136-138).



Şekil 7: Likopenin Etki Mekanizmaları

3.5.1.4. Likopen ve Kemoterapötik Tedavi

Birçok kemoterapötik ajan, serbest radikal madde üretimini indükler. Bununla birlikte, bu serbest radikaller, likopen gibi antioksidan bileşikler tarafından bağlanabilir ve detoksifiye edilebilir. Zira, antineoplastik ajanların nefrotoksisite, hepatotoksisite, ototoksisite, periferik nöropati ve myelosupresyon gibi toksik etkileri olduğu bildirilmiştir (139, 140).

Antineoplastik ilaçlar tarafından indüklenen serbest radikalleri temizleyen likopen, askorbik asit, α -tokoferol, kapsaisin, kurkumin, sarımsak vb antioksidanlar birçok çalışmada kullanılmıştır (141).

Antineoplastik tedavide artan lipid peroksidasyon ürünlerinin oksidatif stresi artırdığı, antioksidan özellik gösteren enzim aktivitelerinin ve bu maddelerle tedavi edilen hastalarda kemoterapötik ilacın yan etkilerinin azaldığı bildirilmiştir (142-145). Önemli bir antioksidan olan likopenin kanseri önlemesi ve kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerin yan etkileri üzerine olumlu etkilerinin bildirildiği

alışmalar mevcuttur. Özellikle prostat, meme, servikal, ovariyal, karaciğer ve çeşitli kanserleri önlemede likopenin etkili olduğu bildirilmiştir. Prostat kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada serum likopen seviyelerinin önemli derecede azalması; ya kanserin likopen emilimini bozduğu ya da prostat kanserinde likopen kullanımının arttığı şeklinde ifade edilmiştir (127, 141, 146).

Yine likopenin oksidatif DNA hasarının önüne geçmek suretiyle kanserin başlaması ve ilerlemesini ciddi bir şekilde önlediği bildirilmiştir. Yapılan birçok çalışmada likopenin kansere karşı koruyucu ve kanserin sebep olduğu komplikasyonları önlediğini gösterse de kanserli hastalardaki oksidatif stres ve likopenin durumu tam olarak bilinmemektedir (127, 147).

Sisplatin ve karboplatin özellikle insan ve hayvanlarda çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak özellikle karboplatin başta olmak üzere bu ilaların tedavideki en önemli yan etkilerinden biri de trombositopenidir. Trombosit sayılarındaki azalmalar ilacın tedavide kullanımını kısıtlamaktadır. Likopen önemli antioksidan vitaminlerden olup doğada özellikle kırmızı renkli meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan bir karotenoiddir. Bu çalışmanın amacı ratlarda platin türevi antineoplastiklerden sisplatin ve karboplatin tarafından trombositopeni oluşturmak ve likopenin trombositopeni üzerine muhtemel olumlu etkilerini ortaya koymaktır.

4.GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Alet ve/veya cihazlar	Markası
Spektrofotometre	Techcomp UV 7500
Spektrofotometre küveti	Normal ve kuvarz
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal 320R
Homojenizatör	B.BRAUN 853022
pH metre	WTW pH 340i
Vorteks	Velp Scientifica 10.0176
Su banyosu	Nüve NB9
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik 2553 D
Hassas terazi (0,001g - 150g)	Denver instrument Apx
Bidistile su cihazı	GFL 2104
Manyetik karıştırıcı	Colara Magnetomix
Balon joje (5, 10, 25, 50 ml)	Isolab
Cam tüp (16x100 mm)	Isolab
Beher (25, 50, 100 ml)	Isolab
Mikro pipet (10-100,100-1000 µl)	Thermo Labsystems
Otomatik kan sayma makinesi	Horiba ABX, Pentra DX

Tablo 2. Kullanılan Alet ve Cihazların Listesi

4.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Araştırmada kullanılan sisplatin (10 mg/10 ml, Kod 1876A) Faulding Pharmaceuticals Pic (Warwickshire, UK) firmasından, karboplatin (150 mg/15 ml) Sun Pharma Glob firmasından, lycopene 10%FS (Redivivo™, Code 7803) DSM Nutritional Products (İstanbul, Türkiye) firmasından, Dekzametazon Deva İlaç (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edildi.

Çalışmada kullanılan diğer kimyasal maddeler analitik saflıkta olup, Merck (Germany), Sigma-Aldrich (ABD) ve MP Biomedicals (Germany) firmalarından temin edildi.

4.3. Deney Hayvanları

Araştırma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Toplantı tarihi 03.07.2019; Karar No:144) onayı alınarak yürütüldü. Fırat Üniversitesi Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezinde yürütülen çalışmada 4-6 aylık 250-300 g canlı ağırlıklarında Spraq-Dawley ırkı erkek ratlar kullanıldı. Hayvanlar standart rat kafeslerinde beslendi, yem ve su *ad libitum* olarak sağlandı.

Araştırmanın deneysel aşaması FÜDAM da yapılan çalışmada ratlar Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun bildirdiği şekilde uygulamalar yapıldı. Standart şartlarda her bir kafeste en 6 hayvan olacak şekilde bakım ve beslenmesi yapıldı. Toplam deney süresi 8 gün olarak belirlendi.

Ratların beslenmesinde Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen pellet yemler kullanıldı. Kullanılan yemin bileşimi Şekil 9'da gösterilmiştir.

Yem Bileşimi	Oran
Su (en çok)	12
Ham protein (en az)	24
Ham selüloz (en çok)	7
Ham kül (en çok)	8
HCL' de çözünmeyen kül (en çok)	2
NaCl (en çok)	1
Mineral Karması *	1,25
Vitamin Karması **	1,25
Metabolik enerji (kcal)	2650

Tablo 3 : Ratlara Verilen Yemlerin Bileşimi

* Mineral Karması: Kalsiyum (% 1.0-2.8), Fosfor (% 0.9), Sodyum (%0.5-0.7), Mangan (10 mg/kg), Çinko (4 mg/kg).

** Vitamin Karması: Vitamin A (300 IU/kg), Vit. D3 (1000 IU/kg), Vit. E (60 mg/kg), Vit. B2 (4 mg/kg).

Deney Grupları

Çalışmada ratlar her birinde 6 hayvan olacak şekilde 8 gruba ayrıldı.

1. **Grup** (Kontrol grubu). Herhangi bir işlem uygulanmadı.
2. **Grup** (Sisplatin grubu). Sisplatin 5 mg/kg 4 gün ara ile iki doz uygulandı.
3. **Grup** (Karboplatin grubu). Karboplatin 60 mg/kg tek doz periton içi uygulandı.
4. **Grup** (Likopen grubu). Likopen 4 mg/kg 8 gün süre ile oral yolla mısır yağı içerisinde (0.5 ml) uygulandı.

5. **Grup** (Sisplatin + Likopen grubu). Sisplatin 5 mg/kg 4 gün ara ile iki doz olarak periton içi enjekte edildi. 4 mg/kg likopen 8 gün süre ile oral yolla mısır yağı içerisinde (0.5 ml) uygulandı.
6. **Grup** (Karboplatin+Likopen grubu). Karboplatin 60 mg/kg tek doz periton içi uygulandı. Likopen 4 mg/kg 8 gün süre ile oral yolla mısır yağı içerisinde (0.5 ml) uygulandı.
7. **Grup** (Sisplatin + Dekametazon grubu). Sisplatin aynı dozaj rejiminde uyguladı ve 1 mg/kg dekzametazon 8 gün süre ile kas içi olarak uygulandı.
8. **Grup** (Karboplatin + Dekametazon grubu). Karboplatin aynı dozaj rejiminde uygulandı ve 1 mg/kg dekzametazon 8 gün süre ile kas içi olarak uygulandı.

Likopen ve sisplatinin dozu Ateşşahin ve ark (26) ve karboplatin Z.H. Siddik ve ark (34) tarafından önerilen şekilde uygulanmıştır.

4.4. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Çalışmanın sonunda (8.gün) anestezik madde kullanılmadan kan örnekleri kalpten EDTA'lı tüplere her hayvandan bir tüp alındı. Deney sonunda histopatolojik incelemeler için hayvanlar dekapite edilerek kemik doku, kemik iliği, dalak ve karaciğer örnekleri alındı.

Biyokimya analizleri için EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Toplanan kan örnekleri +4°C'de 3.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi ve plazmaları çıkartıldı. Glutatyon ve glutatyon pereoksidaz tam kan örneklerinde, katalaz serum fizyolojik ile yıkanmış eritrositlerde ve malondialdehit düzeyleri ise plazma örneklerinde analiz edildi.

4.5. Metot

4.5.1. Oksidatif Stres Parametrelerinin Analizi

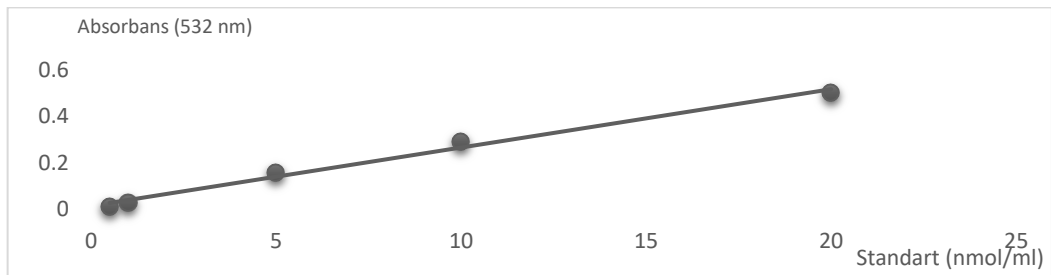
4.5.1.1. MDA Düzeyinin Ölçümü

Plazma MDA düzeyleri Ohkawa ve ark (148) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntemle göre yapıldı.

Prensip

Lipit peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyona girip oluşturduğu pembe renkli bileşiğin 532 nm'de absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Plazmadaki MDA düzeyleri nmol/ml olarak hesaplanmıştır.

Ana stok standart çözeltisi 20 nmol/ml günlük olarak hazırlandı. Stok çözeltisinden 0,5, 1, 5, 10, 20 nmol/ml konsantrasyonlarında çalışma çözeltilerinden hazırlandı. Çalışma çözeltilerinden tüplere 0,5 ml alındı ve üzerine 1 ml TCA ie 1 ml TBA ayraçlarından ilave edilerek kaynarsu banyosunda 10 dk bekletilip soğutulduktan sonra kalibrasyon eğrisi hazırlandı (Şekil 8).



Şekil 8. Malondialdehit (MDA) Kalibrasyon Eğrisi

Ayır  lar

1. **Triklorasetik Asit (TCA):** 10 g TCA distile suda   z  lerek 100 ml'ye tamamlanır ve böylece %10'luk TCA hazırlandı.
2. **Standart:** 1,1,3,3 Tetraetoxipropan
3. **TBA:** 0,67 g TBA 80 ml %10'luk perklorik asitte   z  l  r ve 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.
4. **Renk Ayıracı:** 3 kısım TCA solüsyonu ve 1 kısım TBA solüsyonu karışımından oluşmaktadır.

Deneyin Yapılışı

	K��r (ml)	Standart (ml)	��rnek (ml)
��rnek	-	-	0,25
Standart	-	0,25	-
Serum Fizyolojik	0,25	-	-
Renk ayıracı	2,25	2,25	0,25

Deney t  pleri kaynar suda 20 dk bekletildi. Suyun altında soğutma işleminden sonra 3.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant 532 nm'de okundu.

Absorbansları aşağıdaki formül yardımıyla değerlendirildi;

$$MDA = \frac{\text{  rneęin Absorbansı}}{\text{Standartın Absorbansı}} \times \text{Standardın Konsantrasyonu}$$

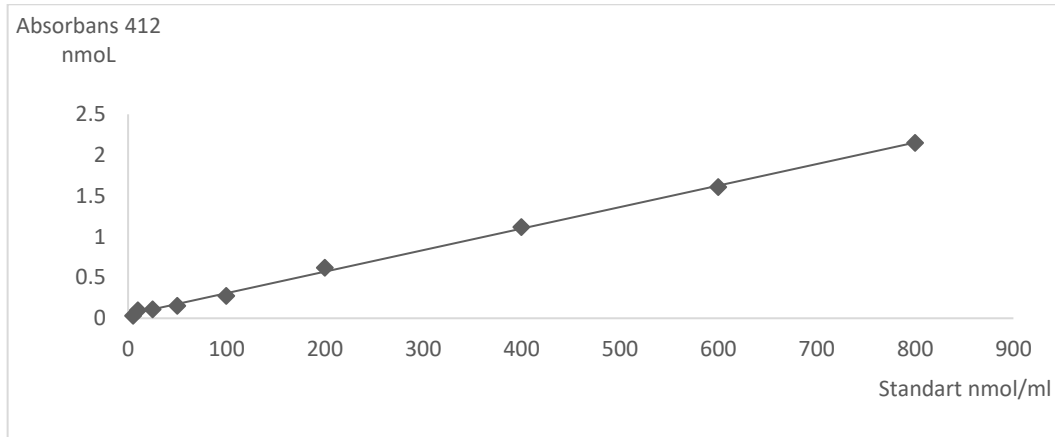
4.5.1.2. GSH Düzeyinin Ölçümü

GSH düzeyleri Ellman (149) tarafından önerilen ditiyonitrobenzoik asit döngü prosedürüne göre tayin edildi.

Prensip

Tam kanda bulunan eritrositlerin protein olmayan sülfidril grupları GSH biçiminde bulunur. Tam kana 5.5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), eklendiğinde sülfidril gruplarının berrak sarı renk oluşturulur ve oluşan sarı renkli bileşiğin optik dansitesi 412 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülerek GSH düzeyleri saptanır.

Çalışmaya başlamadan önce konsantrasyonu 1000 nmol/ml olan ana stok standart hazırlandı. Bu stok standarttan 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400, 800 nmol konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Çalışma çözeltilerinden elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 9 'da gösterilmiştir.



Şekil 9: GSH Kalibrasyon Eğrisi

Ayır  lar

1. **Na₂HPO₄:** Na₂HPO₄ 42,60 g tartılarak üzerine distile su ile 1 L'ye tamamlandı ve böylelikle 0,3 M Na₂HPO₄ hazırlanmış oldu.
2. **DTNB:** 20 mg DTNB %1'lik Na-sitrat  z ltisi ile 100 ml'ye tamamlandı.
3. **Çöktürücü Solüsyon:** 1,67 g glasiyel metafosforik asit, 0,20 g disodyum EDTA, 30 g NaCl tartılır 100 ml distile suda  z nd .
4. **GSH Standartı:** 2 mg/dl GSH solüsyonu hazırlandı.

Deney Yapılışı

	K�r (ml)	Standart (ml)	�rnek (ml)
�rnek	-	-	1
Standart	-	1	-
Distile Su	1	-	-
Çöktürücü	1,5	1,5	1,50
S�z�nt�	0,25	0,25	0,25
Na ₂ HPO ₄	1	1	1,00
DTNB	0,125	0,125	0,125

Çalışmadan elde edilen kan örnekleri 30 dakika ve +4  C'de 3000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Elde edilen süpernatanttan 0,5 ml ve TCA 0,5 ml alınarak   kt r ld . Elde edilen bileşik tekrar 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.  stte kalan kısımdan 0,5 ml alınıp 2 ml Tris EDTA tamponu ve 0,1 ml DTNB eklenerek karıştırıldı. Yaklaşık 5 dk oda sıcaklığında bekletildi ve 412 nm'deki

absorbansları köre karşı okutularak GSH düzeyleri belirlendi. Elde edilen değerler $\mu\text{mol/g}$ protein olarak sunuldu.

$$\text{GSH } (\mu\text{mol/ml}) = \frac{(\text{Standartın Konsantrasyonu}) \times (\text{Örneğin Absorbansı}) \times \text{Dilüsyon}}{\text{Standartın Absorbansı}}$$

4.5.1.3. Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

CAT tarafından yıkılan H_2O_2 'in yıkım hızı 240 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında ölçüldü. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (150) metodu ile kullanıldı.

Prensip

CAT enzim aktivitesi 240 nm dalga boyunda maksimum absorbans gösteren H_2O_2 'nin deney ortamına ilave edilerek ultraviyole spektrumunda bir absorbans azalması olarak takip edildi. Absorbansta görülen azalma katalaz enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Ayırçılar

- 1- **H_2O_2 :** %30' luk H_2O_2 fosfat tamponu 0,34 ml alındı ve distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve 30 nM H_2O_2 hazırlandı.
- 2- **Fosfat Tamponu:** 6,81 g KH_2PO_4 ve 8,90 g Na_2HPO_4 ($2\text{H}_2\text{O}$) tartıldı ve 1 L distile suda çözülerek hazırlanır. Na_2HPO_4 ($2\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi üzerine KH_2PO_4 ilave edilerek pH 7,0'ye ayarlandı ve 50 mM fosfat tamponu hazırlanmış oldu.

Deney Yapılışı

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Örnek	2	2
Fosfat Tamponu	1	-
H ₂ O ₂	-	1

Deneye başlamadan önce spektrofotometre 240 nm'dalga boyunda fosfat tamponuna karşı sıfırlanır. % 30'luk H₂O₂ Fosfat tamponuna azar azar eklenir ve absorbansın 0,50 olması sağlanır. Örneklerin ilavesi ile 240 nm dalga boyundaki absorbans azalması her 30 saniyede ve 1 dakika boyunca kaydedildi. Hesaplama 1 dakikalık absorbans azalmasının değerleri kullanıldı.

CAT aktivitesi 1 dakika içindeki absorbans farkı ölçülmek suretiyle hesaplanmıştır.

$$K = (2.31 \times \log \text{Okunan Değer 1} / \text{Okunan Değer 2}) / 60 \text{ sn}$$

4.5.1.4. Protein Ölçümü

Lowry ve ark (151) tarafından tarif edilen yönteme göre örneklerdeki protein miktarının ölçümü protein yapısında bulunan fenolik amino asitlerin indirgenmiş Cu⁺¹ iyonları ile oluşturduğu renk değişimi ile tayin edildi.

Prensip

Bu yönteme göre alkali bakır ayıracındaki Cu⁺² iyonları numunedeki peptid bağları ile reaksiyona girerek Cu⁺¹ iyonuna indirgenirler. Alkali ortamda Folin-Fenol ayıracı, bakır ile muamele edilmiş karışıma ilave edildiğinde tepkime oluşarak mor-mavi bir renk şekillenir. Oluşan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak 650 nm dalga boyunda okunur.

Ayır  lar

1. Alkali Bakır Ayır  ; 10 g sodyum karbonat (Na₂CO₃), 0,10 g potasyum tartarat ve 0,05 g bakır sülfat, 0,5 N sodyum hidroksit (NaOH) içinde       r ve 100 ml'ye tamamlanır.

2. Fenol Ayır  ; 2 N Folin-Ciocalteu-Fenol ayırıcından 3,75 ml alınır, distile su ile 67,50 ml'ye tamamlanır.

3. Bovine Serum Albumin (150   /ml)

Deney Yapılışı

	K��r (ml)	Standart (ml)	��rnek (ml)
Distile Su	1	-	-
Standart	-	1	-
Alkali Bakır Ayırıcı	1	1	1
Fenol Ayırıcı	4	4	4

$$\text{Protein } \left(\frac{\text{ng}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Standartın konsantrasyonu} \times \text{  rne  in Konsantrasyonu}}{\text{Standartın Absorbansı}}$$

4.5.1.6. GSH-Px Aktivitesinin Tayini

Kanda GSH-Px aktivite ölçümü için Beutler (152) bildirdiği metod kullanıldı. Glutasyon peroksidaz, hücrede hidrojen peroksidi suya parçalayan antioksidan enzimdir.

Prensip

Reaksiyon oluşturmak için ekstraksiyonu yapılan örneğe H₂O₂ ilave edilir. Ortamda bulunan glutasyon peroksidaz, GSH'yi okside ederek glutasyon (GSSG)'a dönüştürür. H₂O₂'nin bulunduğu ortamda GSH-Px'in aktivitesi sonucu NADPH'ın NADP⁺ 'ya oksidasyonu sonucu absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak ölçölmesi ile hesaplanır.

$$U/g(HB) = \frac{\frac{OD2 - OD1}{t} \times \frac{1}{6,22 \times 0,01}}{\text{Protein}(g/ml)}$$

Ayıracıları

1. **EDTA'lı Fosfat Tamponu** :50 mM ve pH 7.5 olacak şekilde fosfat tampanu hazırlamak için 50 mM Na₂HPO₄ 'den 600 ml ve 50 mM KH₂PO₄ 'den 400 ml karıştırılır üzerine 2.08 g Na₂EDTA eklenir.
2. **GSH**: 0,1 M hazırlamak için 0,31 g GSH 10 ml distile suda çözölür.
3. **H₂O₂ çözeltisi**: 2 mM olacak şekilde hazırlandı.
4. **NADPH**: 10 mM hazırlamak için 0,35 g NADPH 30 ml distile suda çözölür.
5. **NaN₃ (Sodyum azid)** : 1 M hazırlanır

Deneyin Yapılışı

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Edta'lı Fosfat Tamponu	2,65	2,67
GSH	0,10	0,1
NADHp	0,10	0,1
GSH Redüktaz	0,01	0,01
NaN ₃	0,01	0,01
Örnek (Hemolizat/Extrat)	0,02	0

4.5.2. Trombosit Tayini

Kanda trombosit sayılarının ölçümü laboratuvarda hemasitometre ya da otomatik kan sayım makinesi olarak bilinen cihazda tespit edildi. Biyokimya laboratuvarı dilinde mor kapaklı tüp olarak adlandırılan EDTA'lı tüplere kanlar alındı. Kanın antiagulan ile tamamen karışmasını sağlamak ve hemolizi önlemek amacıyla 8-10 kez alt üst edildi. Daha sonra en kısa sürede aynı gün içinde laboratuvarda trombosit ölçümleri Çetin ve arkadaşları (79) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı.

4.5.3. Histopatolojik Analizler

Deneme sonunda dekapite edilen ratlardan kas dokusu temizlenmiş femur ile tüm olarak dalak dokuları %10'luk nötral formalin solüsyonuna alınarak 48 saat süre tespit edildi. Dalak örnekleri makroskopik olarak incelendi ve ağırlıkları belirlendi. Alınan femurlar haftalık yenilenen % 8'lik hidroklorik ve % 8'lik formik asit karışımından oluşan solüsyonda bekletilerek dekalsifikasyona tabi tutuldu. Dekalsifikasyon tamamlandıktan sonra rutin histolojik doku takip işleminden

geçirilerek femur ve dalak örneklerinden parafin bloklar hazırlanarak mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlere Hematoksilen-Eozin (HE) ve Trikróm boyamaları uygulanarak ışık mikroskopunda incelendi (153, 154).

4.5.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler farklı gruplar arasında “SPSS for Windows 11,5” paket programı kullanılarak değerlendirildi. Normallik testleri yapıldıktan sonra nonparametrik test varsayımlarına uyduğu için grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ve ardından gruplar arası farklılıklar Dunnet testine tabi tutuldu.

Sonuçların değerlendirilmesinde ortalama $\pm$ standart hata olarak ve $p<0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

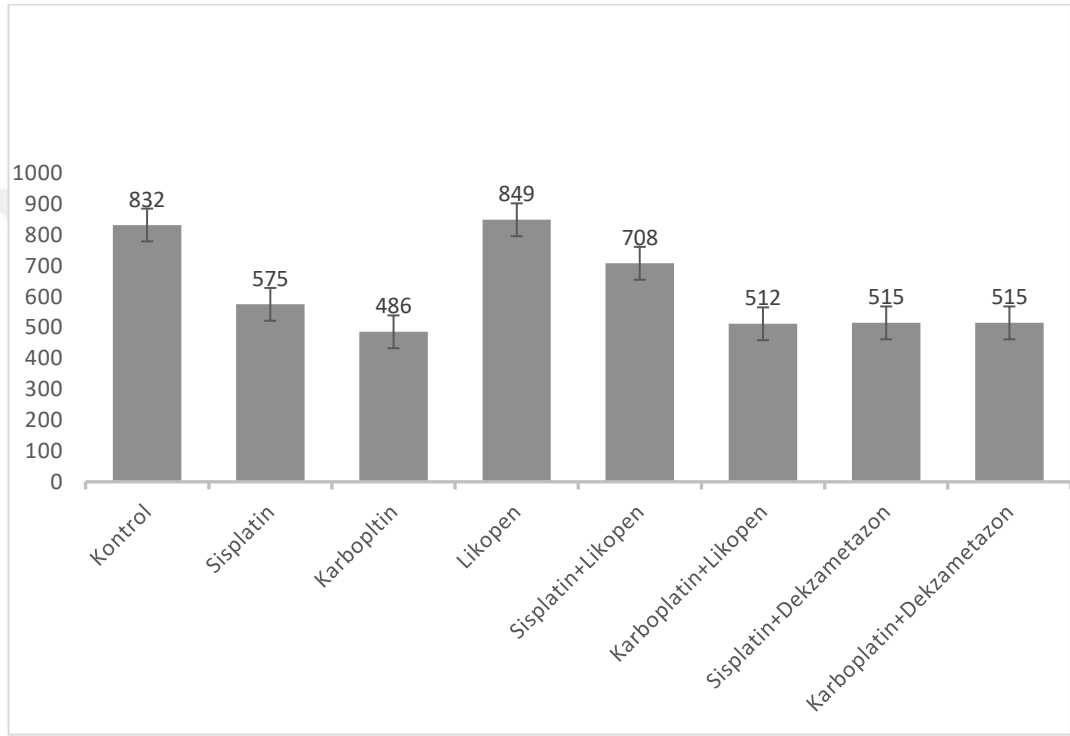
5. BULGULAR

Çalışma süresince kontrol grubundan 1, sisplatin grubunda 2, karboplatin grubunda 1, sisplatin+likopen grubunda ise 1 hayvan olmak üzere toplam 5 adet rat öldü. Kalan hayvanlar çalışmanın bitimine kadar yaşamalarını sürdürmüş ve dekapite edildi. Sağ kalan hayvan sayıları istatistiksel değerlendirmeler için yeterli olarak değerlendirildi.

5.1.Trombosit Düzeyleri

Gruplardaki trombosit miktarları Şekil 10’da gösterilmiştir. Trombosit miktarları değerlendirildiğinde tek başına sisplatin (Grup 2) ve karboplatin (Grup 3) uygulanan hayvanlarda trombosit sayılarının, tek başına karboplatin verilen grupta daha yüksek olmak üzere ($p<0,001$) kontrol grubuna göre azaldığı görüldü ($p<0,001$). Sisplatin ve karboplatin ile eş zamanlı olarak verilen likopenin trombosit

sayılarını sırasıyla 575, 486 seviyesinden 708, 512 hücre/mililitre seviyesine yükselttiği, ancak kontrol değerlerine getiremediği görüldü. Sisplatin ve karboplatin ile deksametazon (Grup 7 ve Grup 8) uygulanan gruplardaki trombosit sayılarının tek başına sisplatin ve karboplatin gruplarındaki değerlere göre farklılık göstermediği belirlendi ($p>0,05$).



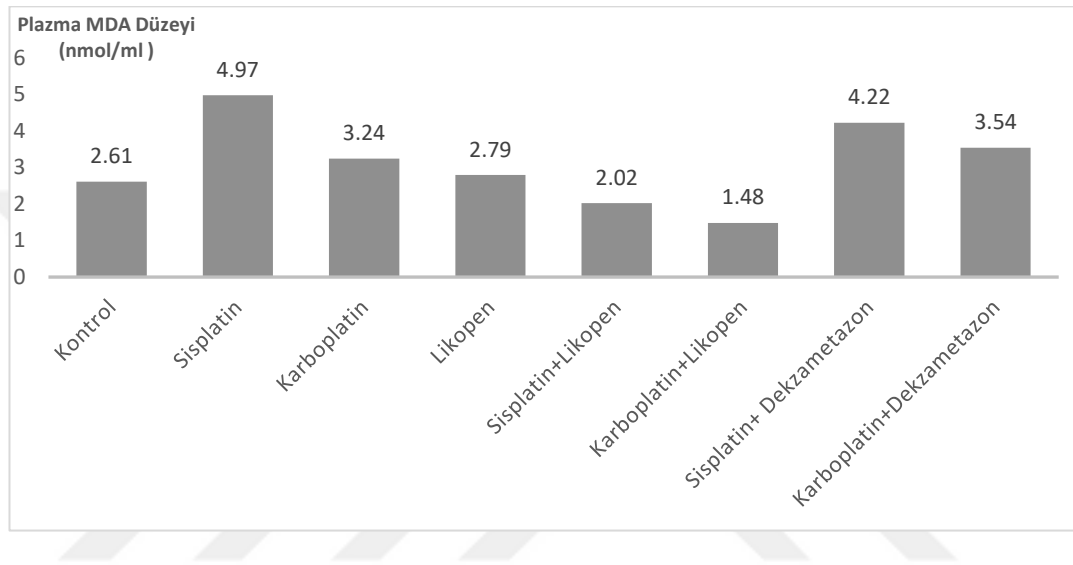
Şekil 10: Gruplara ait trombosit sayıları (hücre/mililitre)

5.2. Oksidatif Stres Parametreleri

5.2.1. MDA Düzeyleri

Gruplara ait MDA düzeyleri Şekil 11’ de gösterilmiştir. Tek başına sisplatin (Grup 2) ve karboplatin (Grup 3) uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin kontrol grubuna (Grup 1) göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi ($p<0.001$). Buna karşın sisplatin+likopen (Grup 5) ve karboplatin+likopen (Grup 6) gruplarında ise likopenin artan MDA düzeylerini anlamlı bir şekilde düşürdüğü tespit edildi

($p<0.001$). Ancak, sisplatin+deksametazon ve karboplatin+deksametazon gruplarında ise MDA düzeylerinin tek başına sisplatin (Grup 2) ve tek başına karboplatin (Grup 3) verilen gruplar ile karşılaştırılmasında herhangi bir değişiklik gözlemlenmedi ($p>0.05$). Tek başına likopen uygulanan grupta (Grup 4) MDA düzeylerinin kontrol değerlerinde olduğu görüldü.

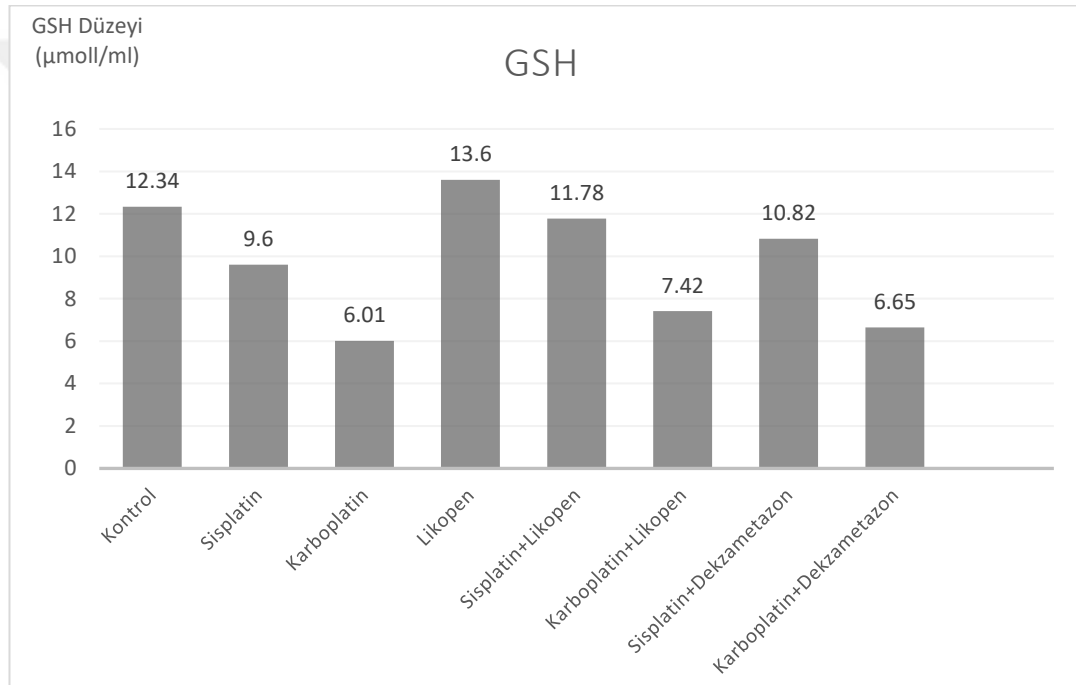


Şekil 11: Gruplara ait plazma MDA düzeyleri (nmol/ml)

5.2.2. GSH Düzeyleri

İndirgenmiş GSH düzeyleri Şekil 12 ‘de gösterilmiştir. Antineoplastik ilaçların tek başlarına uygulandığı gruplarda kan GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre 12,34 $\mu\text{mol/ml}$ anlamlı bir şekilde azaldığı sisplatin grubunda 9,6 $\mu\text{mol/ml}$ ve karboplatin grubunda 6,01 $\mu\text{mol/ml}$ tespit edildi ($p<0.001$). Azalan bu GSH düzeylerinin antineoplastik ilaçlara eş zamanlı olarak verilen likopen uygulamaları ile anlamlı artışlar gösterdiği ve kontrol değerlerine yakınlığı anlamlı olduğu bulundu. Sisplatin ve karboplatin uygulamaları sonucu azalan GSH düzeylerinin

sisplatin+dekzametazon grubunda (Grup 7) kontrol değerlerine yakın olduğu (10,82 $\mu\text{mol/ml}$) ancak karboplatin+dekzametazon grubunda ise (Grup 8) tek başına karboplatin grubu değerlerinde olduğu ve dekzametazonun iyileştirici bir etkisinin olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Tek başına likopen uygulanan grupta (Grup 5) kan GSH düzeylerinin (11,78 $\mu\text{mol/ml}$) kontrol değerlerine (12,34 $\mu\text{mol/ml}$) yakın olduğu ve kontrol grubu değerleriyle bir farklılık göstermediği belirlendi ($p>0.05$).

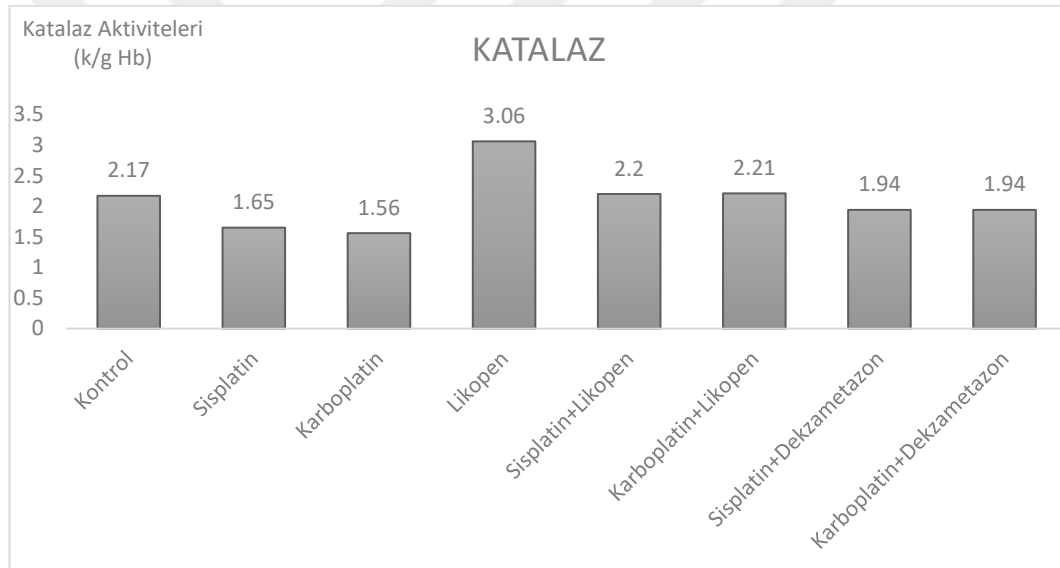


Şekil 12. Gruplara ait plazma GSH düzeyleri ($\mu\text{mol/ml}$).

5.2.3. Katalaz Aktiviteleri

Katalaz aktivitelerine ait sonuçlar Şekil 13'te sunulmuştur. Tek başına sisplatin (Grup 2) ve karboplatin (Grup 3) ile tedavi edilen gruplarda katalaz aktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir azalma olduğu ancak bu azalmaların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Ancak sisplatin + likopen

(2,2 k/g Hb) ve karboplatin + likopen (2,21 k/g Hb) gruplarında likopenin katalaz aktivitelerinde önemli artışlar sağladığı ve kontrol değerlerine yakın düzeylere çıkarttığı tespit edildi ($p<0.001$). Sisplatin ve karboplatin ile eş zamanlı dekzametazon uygulamalarının da likopende olduğu gibi katalaz aktivitelerinde artışlara neden olduğu (sisplatin grubunda 1,94 k/g Hb ve karboplatin grubunda 1,94 k/g Hb) görüldü ($p<0.001$). Tek başına likopen uygulanan grupta ise en yüksek katalaz aktivitesi (3,06 k/g Hb) tespit edildi

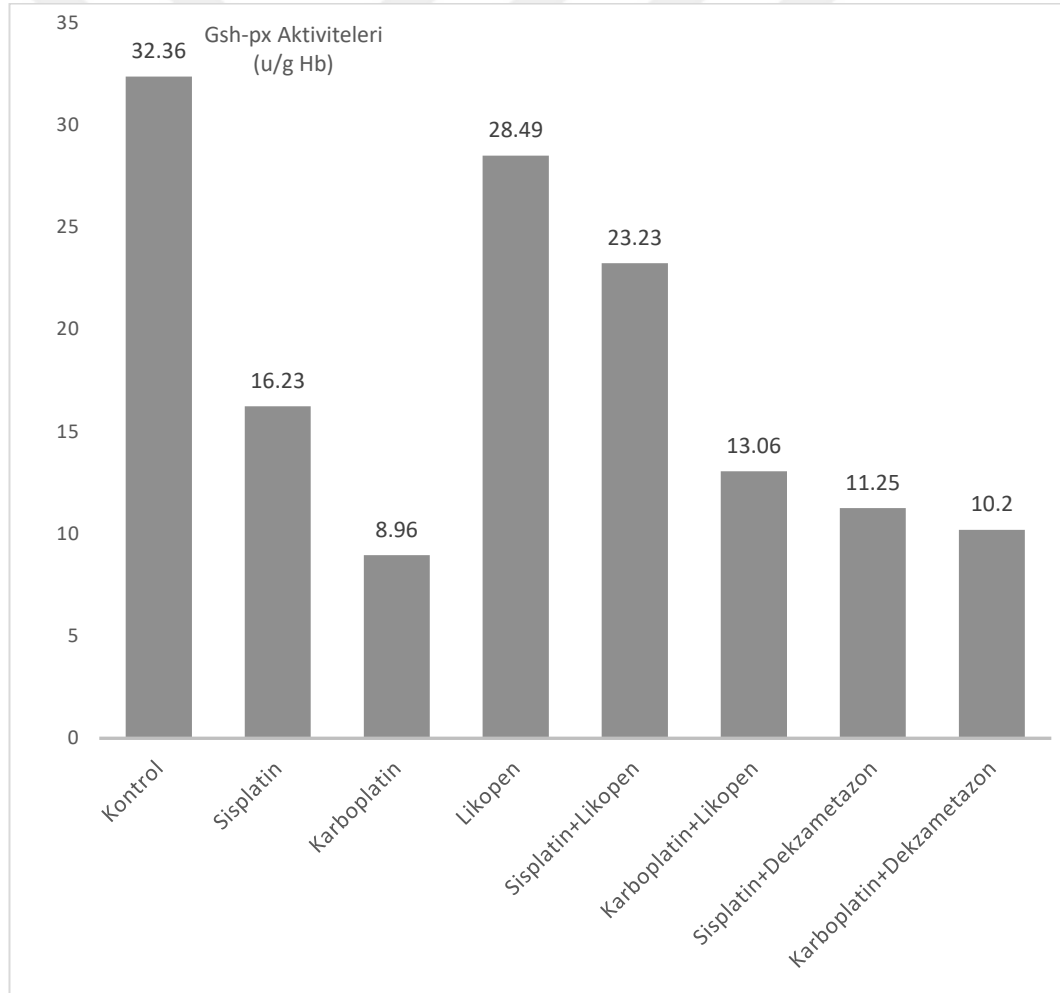


Şekil 13. Gruplara ait katalaz düzeyleri (k/g Hb).

5.2.4. GSH-Px Aktiviteleri

GSH-Px aktiviteleri Şekil 14’te sunulmuştur. Buna göre, tek başına sisplatin ve karboplatin uygulanan gruplarda GSH-Px aktivitelerinin kontrol değerleri (32,36 u/g Hb) ile karşılaştırıldığında önemli şekilde azaldığı (sisplatin grubunda 16,23 u/g Hb ve karboplatin grubunda 8,96 u/g Hb) belirlendi ($p<0.001$). Sisplatin ile eş zamanlı olarak likopen uygulamalarının GSH-Px aktivitelerini tek başına sisplatin

ve karboplatin verilen gruplara göre artırdığı (sisplatin+likopen grubunda 23,23 u/g Hb ve karboplatin+likopen grubunda 13,06 u/g Hb) ancak bu değerlerin kontrol değerlerinden oldukça düşük düzeylerde olduğu belirlendi. Ancak, sisplatin ve karboplatin ile eş zamanlı dekzametazon uygulamalarının bu antineoplastik ilaçların tek başlarına verildiğinde düşürdüğü GSH-Px aktivitelerini iyileştirici herhangi bir etki göstermediği tespit edildi ($p>0.05$). Tek başına likopen uygulamalarda GSH-px aktivitelerinin kontrol değerlerine yakın olduğu görüldü.



Şekil 14: Gruplara ait GSH-Px aktiviteleri (u/g Hb)

5.3. Histopatolojik Bulgular

Tüm deneme gruplarında karaciğerde mikroskopik olarak hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinüzoidal konjesyon ve tek hücre nekrozu gözlemlendi. Daha seyrek olarak ise bazı gruplarda hepatositlerde yağlanma ve ekstramedüller hematopoezis dikkati çekti. Hepatositlerde hidropik dejenerasyon en şiddetli olarak kemoterapötik + deksametazon uygulanan gruplarda saptandı ($p<0.001$). Tek başına sisplatin ve karboplatin gruplarında ise orta şiddette hücresel şişme izlenirken, likopen uygulamasının dejenerasyon şiddetini azalttığı tespit edildi. Sisplatin ve karboplatin ile likopen uygulanan gruplarda benzer şekilde sinüzoidal konjesyon ve tek hücre nekrozu şiddetinin diğer deneme gruplarına göre hafiflediği belirlendi.

Hepatositlerde yağlanma kemoterapötik + deksametazon uygulanan gruplarda ikişer hayvanda mevcuttu. Ekstramedüller hematopoezis ise sisplatin ve karboplatin gruplarında birer hayvanda dikkati çekti.

5.3.1 Böbrekte Mikroskopik Bulgular

Mikroskopik olarak böbrekte dikkati çeken en belirgin değişimler sırasıyla tubulus lümenlerinde hyalin silindir formasyonları, tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, nekroz ve deskumasyon ile birlikte karyomegali idi. Daha az sıklıkta ise tubular dilatasyon, intersitisyel nefritis, tubulus epitel hücrelerinde hemosideroz dikkati çekti. Bazı gruplarda ise belirli hayvanlarda Bowman kapsülünde kalınlaşmaya rastlandı. Sisplatin uygulanan tüm gruplarda hyalin silindir formasyonu şiddetinin karboplatin uygulanan gruplara göre daha belirgin olduğu gözlemlendi ($p<0.001$). Tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon deksametazon uygulanan gruplarda, sisplatin ve sisplatin + likopen gruplarında diğer deneme gruplarına göre daha şiddetli idi. Tubulus epitelinde intrasitoplazmik hemosiderozis ise en belirgin olarak deksametazon uygulanan gruplarda dikkati çekti ve hemolizin bir göstergesi olarak değerlendirildi.

5.3.2. Dalak ve Kemik iliğinde Mikroskopik Bulgular

Grup 2 (Sisplatin) ve Grup 3(Karboplatin) dalakta germinal merkezlerde küçülme ve azalma ile karakterize beyaz pulpa atrofisi ile birlikte özellikle subkapsular bölgede daha belirgin hemosiderin pigment birikimleri görülen en baskın değişimlerdi. En şiddetli atrofiye sisplatin + deksametazon grubunda rastlandı. Kemoterapotikler ile likopen verilen gruplarda (Grup 5 ve 6) ise atrofi şiddetinin kısmen azaldığı belirlendi. Beyaz pulpa atrofisine benzer şekilde hemosiderozis sisplatin + deksametazon grubunda belirgindi. Likopen uygulaması ile birlikte anılan lezyonun şiddetinin de azaldığı gözlemlendi.

Tüm deneme gruplarında genel olarak kemik iliğinde hipoplazi dikkati çeken başlıca değişimdi. Tek başına sisplatin ve karboplatin uygulanan gruplarda

genellikle myelopoeziste ve megakaryositlerde azalmaya ilişkin kemik iliği hipoplazisi dikkati çekti. Deksametazon uygulamalarının ise yukarıda anılan değişimlere ek olarak özellikle eritropoeziste azalmaya neden olduğu ve hipoplazi şiddetini daha da artırdığı belirlendi ($p<0.001$). Likopen uygulamalarının ise hipoplastik değişimler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edildi.



Lezyonlar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6	Grup 7	Grup 8	SH	P
Beyaz Pulpada Atrofi	0.00±0.00 ^d	1.50±0.34 ^{bc}	0.83±0.21 ^c	0.00±0.00 ^d	0.75±0.34 ^{cd}	0.92±0.24 ^{bc}	2.42±0.20 ^a	1.17±0.36 ^b	0.14	0.001
Dalakta Hemosideroz	0.00±0.00 ^d	0.92±0.20 ^{bc}	0.92±0.08 ^{bc}	0.00±0.00 ^d	0.50±0.18 ^{cd}	0.50±0.34 ^{cd}	1.83±0.26 ^a	1.17±0.33 ^b	0.11	0.001
Kemik İliği Hipoplazisi	0.00±0.00 ^d	0.83±0.21 ^b	0.33±0.21 ^{cd}	0.00±0.00 ^d	0.50±0.22 ^{bc}	0.25±0.11 ^{cd}	1.92±0.08 ^a	2.25±0.11 ^a	0.13	0.001
a,b,c,d,e: Farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir. SH: Standart Hata ÖD: İstatistiksel açıdan önemli değil (P>0.05)										

Tablo 4: Histopatoloji İstatistiksel Verileri

6. TARTIŞMA

Kanser vakaları tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde en önemli sağlık problemi olarak bilinmektedir. Kanser tedavisinde standart tedavi protokolleri mevcuttur ve kemoterapi yöntemi etkili ve en sık başvurulmuş yöntemlerden biridir (155, 156). Kemoterapinin meydana getirmiş olduğu etkiler, normal hücrelere de ciddi hasarlar vermektedir. Sebep olduğu bu zararı en aza indirmek için yeni yöntemler araştırılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kemoterapötik ajanların istenmeyen yan etkilerine karşı fitokimyasallara odaklanılmıştır (26, 40,101).

Kemoterapötik ilaçlara bağlı oluşan trombositopeninin sebepleri arasında bu ajanların oluşturduğu miyelosüpresyon, immün aracılı mekanizmalar ile ilacın veya metabolitlerinin trombosit zarına tutunarak antijenik bir etki göstererek antikor yapımını uyarması yine ilaçların oluşturduğu karaciğer toksisitesine bağlı dalak sekestrasyonun trombosit salınımı üzerindeki doğrudan etkisi sonucu ile oluşabilir (29, 157, 158).

Günümüzde trombosit sayısının normal değerlere ulaşması için uygulanan tedavilerin yan etkileri hem fazla hem de pahalı (kortikosteroidler, dalağın operasyonla alınması, bağışıklık sistemini baskılayan ajanlar) yöntemlerdir. Trombosit sayısında sıklıkla azalmaya sebep olan kemoterapötikler, tedavi sürecinin aksamasına neden olabilmektedirler (89).

Sisplatin başta akciğer kanseri, özofagus ve mide kanseri, baş ve boyun kanserleri, özellikle testis, over ve mesane kanserleri olmak üzere genitoüriner kanserlerin tedavisinde önemli bir yere sahiptir. Kanser tedavisinde sisplatinin kullanılmasında tedavi yönünden önemli olan nokta, yan etkilere karşı korunmanın sağlanmasıdır (158). En fazla nefrotoksisite olmak üzere, klinikte kullanımını kısıtlayan, miyelosupresyon etki, nörotoksisite, lökopeni, trombositopeni ve anemi gibi doza bağımlı bilinen yan etkileri vardır (29, 30, 32, 34, 38).

Sitotoksik etki mekanizması, direnç mekanizması ve klinik farmakolojisi sisplatin ile aynı olan karboplatin ikinci jenerasyon platin analogudur. Bununla beraber, sisplatinin tersine anlamlı olarak daha az renal ve gastrointestinal toksisite gösterir. Karboplatinin doz sınırlayıcı toksisitesi, ağırlıklı olarak trombositopeni olmak üzere doza bağlı miyelosupresyondur. Lökopeni ve anemi de ortaya çıkar ancak daha az şiddetlidir (34, 45). Yapılan bir çalışmada 400 mg/m² dozunda karboplatin verilen hastaların %37'inde, 520 mg/m² dozunda verilen hastalarda ise % 80 oranında trombositopeni geliştiği bildirilmiştir (159, 160). Başka bir çalışmada yine benzer şekilde karboplatin ile tedavi edilen hastaların %12 ile %35'inde trombositopeni geliştiği bildirilmiştir (161). Yine başka bir çalışmada sisplatin'in myelosupresif etkisinin karboplatine göre daha az olduğu bunun aksine, karboplatinin istenmeyen yan etkisinin kemik iliğinin baskılanması ve trombosit sayısını azaltması olduğu bildirilmiştir (45). Karboplatinin trombositler üzerine toksik etkisinin diğer kan hücrelerine göre daha fazla olduğu ve trombositopeni düzelme süresinin uzun olduğu (21-28 gün), bu toksik etkinin doz ile ilişkisi, yaşlı, düşük performanslı, daha önceden kemoterapi alan hastalarda daha sık görüldüğü bildirilmektedir (161, 162). Yaptığımız çalışma anılan literatürlerle benzerlik gösterdi ve karboplatin uygulanan gruptaki trombosit sayısındaki azalma sisplatin uygulanan grup ile karşılaştırıldığında sayısal olarak daha fazla olduğu tespit edildi. Sisplatinin hücrelerdeki sitotoksik hasarı; nükleer DNA'ya bağlanıp transkripsiyon ve replikasyonunu bozduğu ve aynı zamanda sinyal iletim yollarını aktive ederek oluşturduğu bildirilmiştir (16, 21, 22, 34). Sisplatin ile ilgili diğer bir mekanizmanın ise mitokondri fonksiyonlarını bozarak apoptoz sürecini başlattığı ve miyelosupresyona bu mekanizmanın sebep olduğu yönündedir (11).

Son yıllarda kemoterapötikler ile yapılan çalışmalarda oksidatif hasarın önemli bir role sahip olduğu anlaşılmış ve kemoterapitklerin yan etkilerini önlemek için antioksidan ajanlarla yapılan çalışmalar artmıştır (18). Doğal bir karotenoid olan likopen, özellikle domates ve işlenmiş domates ürünlerinde, kuşburnu, greyfurt gibi birçok meyve/sebzede yoğun miktarda

bulunmaktadır ve güçlü antioksidan özelliklere sahiptir (2006). Likopenin antioksidan etkisi ve onun canlılardaki biyolojik rolü araştırmaların ilgi odağı olmuştur. Bu etkisine ek olarak likopenin, gen fonksiyonlarının düzenlenmesi, gap-junction iletişimi, hormonlar üzerine etkisi, karsinojen metabolizması ve faz II ilaç metabolize enzimlerini içeren metabolik yolları içine alan diğer mekanizmalar aracılığıyla da etki gösterdiği bilinmektedir (147, 164).

Likopen, serbest radikal süpürücü ve DNA hasarına karşı koruyucu özellikleri olan bir karotenoiddir. Sıçan kemik iliğinde sisplatin'e bağlı kromozomal hasara karşı etkinliği araştırılan likopenin, sitotoksositeye karşı koruyucu olduğu, anormal hücre bölünmelerini azalttığı gösterilmiştir (49). Daha önce yapılan çalışmalarda likopenin sisplatine bağlı nefrotoksiste, ototoksiste ve nörotoksisteye karşı koruyucu rolünün olduğu gösterilmiştir (122, 164). Yaptığımız literatür taramalarında deneysel rat modelinde sisplatin ve karboplatinin oluşturduğu trombositopenik etki üzerine likopenin koruyucu etkileri ile ilgili benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak ratlarda yapılan bir çalışmada, önemli antioksidanlardan olan vitamin C ve E'nin kombinasyonunun antioksidatif etki olarak trombosit sayısını önemli oranda artırdığı bildirilmiştir (120).

Sisplatine bağlı miyelosupresyonu önlemede Masuda ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Grifora frondosa isimli bir mantarın beta gluklan içeren kısmı kullanılmış ve bu maddenin, antiinflamatuvar etki ile sisplatine bağlı miyelosupresyonu, engellediği bildirilmiştir (165). Abd-Allah ve ark. tarafından sıçan kemik iliği hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada karboplatinin miyelosupresif etkisi olduğu ve L-karnitinin ise apoptozu durdurduğu gösterilmiştir ve antioksidan, serbest radikal temizleyici etkileri olan L-karnitinin oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (166). Yine ratlarda yapılan diğer bir çalışmada vitamin E ve L-karnitinin antioksidan, antiinflamatuvar etkisinin radyoterapi ile oluşturulan miyelosupresyonu azalttığı gösterilmiştir (167). Yukarıda bahsedilen çalışmalar ve yaptığımız çalışma birlikte değerlendirildiğinde önemli bir antioksidan olan likopenin, sisplatin ve karboplatinin sebep

olduğu trombositopeni üzerine azaltıcı etkisi; antioksidan, antiapoptotik ve antiinflamatuvar özellikleriyle ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır

Yapılan deneysel çalışmalarda sisplatin tarafından oluşturulan hasarların artmış olan MDA düzeyleriyle doğrudan ilişkili olduğunu belirlenmiştir (105, 106). Sunulan çalışmada sisplatin ve karboplatin tedavisi uygulanan gruplarda MDA düzeylerinin yüksek, buna karşı GSH-Px, CAT ve GSH düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır. Sisplatin ve karboplatin tedavisinin antioksidan düzeyini azaltarak, antioksidan sistemi uyararak ve peroksidasyon reaksiyonlarını değiştirerek etki gösterebileceği sonucuna varıldı.

Sıçan kemik iliğinde sisplatine bağlı kromozomal hasara karşı likopenin etkinliği araştırılmış ve sitotoksositeye karşı koruyucu olduğu, anormal hücre bölünmelerini azalttığı gösterilmiştir (168). Likopen, son zamanlarda yapılan çalışmalarda sıklıkla araştırılan bir antioksidan olup, sisplatin nefrotoksitesine karşı koruyucu olduğunda bildirilmiştir. Deneysel hayvan çalışmaları ile likopenin GSH, katalaz gibi antioksidanların düzeylerini artırdığı ve renal hasar parametrelerindeki değişiklikleri önlediği gösterilmiştir (26, 32, 169, 170). Sisplatin uygulanan sıçanlarda yapılan bir çalışmada sisplatinin reproduktif toksisiteyi indüklediği, sperm sayılarını ve motilitesini azalttığı gösterilmiştir. Likopen'nin bu etkiyi önemli oranda önlediği, oksidatif stres parametrelerindeki artışa karşı da koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (26).

Yaptığımız çalışmada histopatolojik sonuçlarda tüm deneme gruplarında genel olarak kemik iliğinde hipoplazi dikkati çeken başlıca değişimdi. Tek başına sisplatin ve karboplatin uygulanan gruplarda genellikle myelopoeziste ve megakaryositlerde azalmaya ilişkin kemik iliği hipoplazisi dikkati çekti. Deksametazon uygulamalarının ise yukarıda anılan değişimlere ek olarak özellikle eritropoeziste azalmaya neden olduğu ve hipoplazi şiddetini daha da artırdığı belirlendi ($p<0.001$). Likopen uygulamalarının ise hipoplastik değişimler üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edildi. Sisplatin DNA üzerine etkisi mitokondri fonksiyonlarını bozarak apoptoz sürecini başlatmaktır (171). Sisplatinin sitotoksik özelliklerini nükleer

DNA'ya bağlanıp transkripsiyon ve replikasyonunu inhibe ettiği, sinyal iletim yollarını aktive ettiği bildirilmiştir. Sisplatin hücre mitokondrisine zarar verir, hücre siklusunu duraklatır, ATPaz aktivitesini engeller, hücrede transport sistemlerini değiştirerek apoptoz, inflamasyon, nekroz ve hücre ölümüne neden olur (16, 21).

Glukokortikosteroidler sıklıkla immün aracılı trombositopeniyi tedavi etmek için kullanılır. Steroidlerin trombosit yıkımını engellediği düşünülmektedir (61). Yine Gernsheimer ve arkadaşları steroidlerin yetişkinlerde trombosit üretimini de artırabileceğini bildirmiştir (62). Dekzametazonun ise trombositopeni tedavisinde kullanıldığı farklı çalışmalarda bildirilmiştir. Yapılan bazı araştırmalarda HELLP sendromlu hastalara deksametazon uygulanmış ve trombosit sayısında artma görüldüğü bildirilmiştir (58,59). Ancak benzer bir çalışmada Fonseca ve arkadaşları ise, kortikosteroid tedavisinin trombosit sayısına ve biyokimyasal parametreler üzerine anlamlı bir etki göstermediğini bildirmiştir (60). Aynı zamanda dekzametazonun ratlarda oksidatif stres parametresi olan MDA düzeyini düşürücü etkisi olduğu bildirilmiştir (64). Yapılan bir başka çalışmada deksametazonun *in vitro* şartlarda gelişen oksidatif stresi engellemediği bildirilmiştir (65). Yine rat karaciğerinde ve rat serumunda MDA düzeylerine belirgin etkisinin bulunmadığı birçok çalışmada bildirilmiştir (172, 173). ITP (immün trombositopenik purpura) tedavisinde deksametazon ile rituksimab gibi tedavilerin kombinasyonu araştırılmış ve yüksek doz deksametazon ve rituksimabın tek başına deksametazon ile kombinasyonunun etkinliğini karşılaştırıldığında 3. aydaki yanıt oranı ve 12. ayda yanıt oranı tek başına deksametazon tedavisine göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (174).

Yaptığımız çalışmada ise sisplatin ve karboplatin tedavisi sonucunda oluşan trombositopeniye deksametazonun etkisi anlamlı değildi ($p > 0.05$) ve yukarıda anılan çalışmalar ile paralel olarak sisiplatin ve karboplatin tedavisi ile oluşan oksidatif stres üzerine deksametazon etkisi benzer şekilde anlamlı değildi. Araştırma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde deksametazonun

trombositopeni ve oksidatif stres üzerine etkisinin uygulama dozuna, gelişen trombositopeninin şiddetine, canlı türüne göre değişiklik gösterebileceği kanaatindeyiz.

Sisplatin ve karboplatin ile yapılan tedavinin ise trombosit sayısında anlamlı bir azalmaya sebep olduğu tespit edildi. Ayrıca karboplatinin sisplatine göre trombositopenik etkisinin daha anlamlı olduğu belirlendi. Likopenin trombosit sayısını artırabileceği ancak deksametazonun bu etkisinin anlamlı olmadığı düşünülmektedir. Yine sisplatin ve karboplatinin serbest radikal oluşumunu artırdığı, oluşan bu radikal artışlarının lipid peroksidasyonunu tetiklediği ve sonuçta MDA oluşumunda artışlara neden olduğu belirlendi. Likopenin ise dokularda meydana gelen lipid peroksidasyonunu ve oksidatif hasarı önlediği tespit edildi. Aynı zamanda dışarıdan alınan likopenin vücutta antioksidan savunma sistemini destekleyerek GSH-Px, CAT ve GSH gibi enzimatik olmayan antioksidanların düzeylerini artırdığı ve başta kanser olmak üzere birçok kronik hastalığın en önemli sebebi olarak görülen oksidatif strese karşı, etkili olduğu sonucuna varıldı.

Sonuç olarak kanser tedavisinde sık kullanılan platin türevlerinden sisplatin ve karboplatin tarafından indüklenen trombositopeni üzerine likopenin etkilerinin araştırılması isimli çalışmamızda; sisplatinin ve karboplatinin istenmeyen trombositopenik etkisi olduğu ve bu yan etkisinin daha ekonomik, etkili ve kolay uygulanabilir fitoterapötik ajanlarla önlenebileceği veya azaltılabileceği konusunda bir yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmadan elde edilen bulguların yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C ve ark. The Global Burden of Cancer 2013. *JAMA Oncol.* 2015;1(4):505-27.
2. Pavlopoulou A, Spandidos DA, Michalopoulos I. Human cancer databases (review). *Oncol Rep.* 2015 Jan;33(1):3-18.
3. Hanahan, D. and Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144;5, 646-667
4. Salmon SE, Sartorelli AC. Cancer Chemotherapy. In: Katzung BG (eds.), *Basic and Clinical Pharmacology*: 2001; 923-958.
5. Kayaalp O. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. *Rasyonel TedaviYönünden Tıbbi Farmakoloji*. 8. Baskı, Ankara 1998; 376-390.
6. Rang HP, Dale MM. Cancer Chemotherapy. In: *Pharmacology ELBS*, Hong-Kong 1993: 781-803.
7. Kayaalp O. *Tıbbi Farmakoloji*. 4. Cilt, Ankara 1994: 1047.
8. Ghosh, S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem.* 2019; 11, 88
9. DeVita VT, Chu E: The history of cancer chemotherapy. *Cancer Res* 2008;68.
10. (Redmond KM et al: Resistance mechanisms to cancer chemotherapy. *Front Biosci* 2008;13.
11. Guo Y, Zeng H, Chang X, et al. Cui H. Additional dexamethasone in chemotherapies with carboplatin and paclitaxel could reduce the impaired glycometabolism in rat models: *BMC cancer* 2018; 18;81.
12. Weycker D, Hatfield M, Grosman A, et all. Risk and consequences of chemotherapy-induced thrombocytopenia in US clinical practice. *BMC Cancer.* 2019; 19; 151.
13. Onho S, Strebel F.R, Stephens L.C, et all. Haematological toxicity of carboplatin and cisplatin combined with whole body hyperthermia in rats. *Br. J. Cancer.* 1993; 68; 469-474.
14. Rosenberg, B., Van Camp, T.J., Mansour, V. Platinum compounds: A new class of potent antitumour agents, *Nature*, 222, 385–386.
15. Kuhlmann, M.K., Burkhardt, G., Kohler, H. Insight into potential cellular mechanism of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application, *Nephrol Dial Transplant*, 1997; 12, 2478–2480.
16. Kelland L. The resurgence of platinum based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584.).
17. Vincent T. DeVita, Jr. Samuel Heilman, Steven A. Rosenberg. *Cancer. Principles and Practice of Oncology*. 6 th edition, 2001.
18. Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1173-1183.

19. Chirino YI, Gonzalez DJS, Martinez CMM, et al. Protective effects of apocynin cisplatin induced oxidative stress and nephrotoxicity. *Toxicology* 2008; 245: 18-23.
20. Lippert B. *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, WileyVCH, Zurich 1999; 3-183.
21. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 307-320.
22. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 9-23.
23. Gately DP, Howell SB. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. *Br J Cancer*. 1993;67:1171-6.
24. Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, Pavenstädt H, Koepsell H, Piechota HJ, Haier J, Jaehde U, Zisowsky J, Schlatter E. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2. *Am J Pathol*. 2005;167:1477-84. 31.
25. Ludwig T, Riethmüller C, Gekle M, Schwerdt G, Oberleithner H. Nephrotoxicity of platinum complexes is related to basolateral organic cation transport. *Kidney Int*. 2004; 66: 196-202.
26. Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatininduced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology* 2005; 212:116-23.
27. Atessahin A, Karahan I, Türk G, Gür S, Yilmaz S, Ceribağı AO. Protective role of lycopene on cisplatininduced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol* 2006; :42-47.
28. Florea AM, Büsselberg D. Anti-cancer drugs interfere with intracellular calcium signaling. *NeuroToxicology* 2009; 30: 803–810.
29. Klaassen CD, Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10. Baskı, McGraw-Hill Companies Inc. Medical Publishing Division, USA, 2001.
30. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khat tab MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol* 2002; 132:123-128.
31. Uehara T, Watanabe H, Itoh F, Inoune S, Koshida H, Nakamura M, Yamate J, Maruyama T. Nephrotoxin of a novel antineoplastic platinum complex, nedaplatin: a comparative study with cisplatin in rats. *Arch Toxicol* 2005; 79: 451-460.
32. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Change of lipid peroxide levels in rat tissues after cisplatin administration. *Tox Lett* 1991; 57: 159-166.
33. Hanigan MH, Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Ther* 2003; 1: 47-61.
34. Z.H. Siddik, F.E. Boxall, K.R. Harrap, Haematological toxicity of carboplatin in rats, *Br.J. Cancer* 1987; 55: 375-379.

35. J. Hannemann and K. Baumann, Cisplatin-induced lipid peroxidation and decrease of gluconeogenesis in rat kidney cortex: Different effects of antioxidants and radical scavengers, *Toxicology*, 1988; 51, 119–132.
36. Yang Y, Liu H, Liu F, Dong Z. Mitochondrial dysregulation and protection in cisplatin nephrotoxicity. *Arch Toxicol*. 2014; 88(6):1249–1256.
37. Dugbartey GJ, Peppone LJ, Graaf IAM. An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology* 2016; 371: 58–66.
38. Cagin YF, Erdogan M, Sahin N, Parlakpınar H, Atayan Y, Polat A et al. Protective effects of apocynin on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2015; 46: 517-526
39. Antunes LM, Darin JD, Bianchi ND. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001;43(2): 145-150.
40. Nazıroğlu M, Karaoğlu A, Aksoy OA. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology* 2004; 195: 221-230.
41. Allan SG, Smyth JF. Small intestinal mucosal toxicity of *cis*-platinum comparison of toxicity with platinum analogues and dexamethasone. *Br J Cancer* 1986; 53(3): 355-360.
42. Behrens BC, Hamilton TC, Masuda H, Grotzinger KR, Whang-Peng J, et al. Characterization of a *cis* diamminedichloroplatinum (II)-resistant human ovarian cancer cell line and its use in evaluation of platinum analogues. *Cancer Research* 1987; 47: 414-418,
43. Kelland, L. R. Overcoming resistance to platinum therapy in patients with advanced cancer. *Am. J. Cancer* 2002; 1: 247–255.
44. Choy, H. Satraplatin: an orally available platinum analog for the treatment of cancer. *Expert Rev. Anticancer Ther* 2006.; 6: 973–982.
45. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European J Pharmacol* 2014; 740: 364–378.
46. Chen, X.; Wang, J.; Fu, Z.; Zhu, B.; Wang, J.; Guan, S.; Hua, Z. Curcumin activates DNA repair pathway in bone marrow to improve carboplatin-induced myelosuppression. *Sci. Rep.* 2017; 7: 17-24.
47. Kayaalp O: Rasyonel tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 9'uncu baskı. Ankara: Hacettepe Taş, 2000: 397: 1301-1316.
48. Harrap, K. R. Preclinical studies identifying carboplatin as a viable cisplatin alternative. *Cancer Treat. Rev* 1985; 12: 21–33.
49. Rixe O, Ortuzar W, Alvarez M et al. Oxaliplatin, tetraplatin, cisplatin, and carboplatin: Spectrum of activity in drug-resistant cell lines and in the cell lines of the National Cancer Institute's Anticancer Drug Screen panel. *Biochem Pharmacol* 1996; 52: 1855-65.

50. Kelland, L. R., et al. Preclinical antitumor evaluation of Bis-acetato-ammine-dichloro-cyclohexylamine platinum(IV): an orally active platinum drug. *Cancer Res.*1993; 53; 2581–2586
51. Samancı N, Balcı N. Kortikosteroidler ve klinikte kullanımı. *T klin tıp bilimleri*, 2006; 131-40.
52. Lee CH, Hyun MK, Jang EJ, Lee NR, Kim K, Yim JJ. Inhaled corticosteroid use and risks of lung cancer and laryngeal cancer. *Respir Med.* 2013; 107(8):1222-33.
53. Yang IA, Shaw JG, Goddard JR, Clarke M, Reid DW. Use of inhaled corticosteroids in COPD: improving efficacy. *Expert Rev Respir Med.* 2016; 10(3):339-50.
54. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Glukokortikoids. *Pharmacology* 5th ed. 2003; 27: 410-20.
55. Capolongo, F., M. Tapparo, R. Merlanti, L. Ravarotto, E. Tealdo, G. Gallina. Illicit treatments in cattle and urinary 6beta-hydroxycortisol/cortisol ratio. *Anal Chim Acta* 2006; 586: 228-32.
56. Dubus JC, Marguet C, Deschildre A. Local side effects of inhaled corticosteroids in asthmatic children. *Allergy* 2001; 56: 944-8.
57. Passalacqua G, Albano M, Canonica GW. Inhaled and nasal corticosteroids: safety aspects. *Allergy* 2000;55:16-33.
58. Crane JM, Tabarsi B, Hutchens D. The maternal benefitsof corticosteroids with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) syndrome. *J Obstet Gynecol Canada.* 2003;25:650-5.
59. Levine SP. Thrombocytopenia caused by immunologic platelet destruction. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, eds. *Wintrobe's clinical hematology*, 10th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1999; 1583–1611.
60. Fonseca JE, Mendez F, Catano C, Arias F Dexamethasone treatment does not improve the outcome of women with HELLP syndrome: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Am J Obstet Gynecol*,2005; 193:1591–1598
61. Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Ann Intern Med* 1976; 84: 304-15.
62. Gernsheimer T, Stratton J, Ballem PJ, Slichter SJ. Mechanisms of response to treatment in autoimmune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 1989; 320: 974-80.
63. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* , 2003; 133: 933-940.
64. Gokce M, Saydam O, Hanci V, Can M, Bahadir B. Antioxidant vitamins C, E and coenzyme Q10 vs dexamethasone: comparisons of their effects in pulmonary contusion model. *J Cardiothorac Surg*, , 2012; 26: 7-92.
65. Deng Z, Zhou JJ, Sun SY, Zhao X, Sun Y, Pu XP. Procaterol but not dexamethasone protects 16HBE cells from H₂O₂- induced oxidative stress. *J Pharmacol Sci*, 2014; 125: 39-50.
66. Feldman, B.F, Zinkl, J.G, Jain N.C. et all. *Schalm's Veterinary Hematology*, Fifth Ed, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore 2000.

67. BITHELL, C.T. Platelets and megakaryocytes. 1993; 511-523.
68. De Silva E and Kim H. Drug-induced thrombocytopenia: Focus on platelet apoptosis. *Chemico-Biological apoptosis*. 2018. 284; 1-11.
69. Chong BH, Choi PY, Khachigian I. et al. Drug-induced immun thrombocytopenia. *Hematol. Oncol. Clin. N.Am.* 2013; 27; 521-540.
70. Jain NC. *Essentials of veterinary hematology, comparative hematology of common domestic animals*. Philadelphia: PA: Lea and Febiger; 1993; 44–46.
71. Akay T. Genel Histoloji. 6. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık. 2006; 47-75.
72. Rao G.H.R. *Handbook of Platelet Physiology and Pharmacology*, Kindle Ed, Boston: Kluwer Akademik Publishers, 1999.
73. Tong M, Seth, P, Penington, D.G. Proplatelets and stress platelets. *Blood* 1987; 69 (2): 522-528.
74. Serres M, Yeager R.L, Dillberger J.E, et al. Pharmacokinetics and hematological effects of the pegylated thrombopoietin peptide mimetic GM395058 in rats and monkeys after intravenous or subcutaneous administration, *Stem Cells* 1999; 17: 316-326.
75. Yılmaz, B. *Fizyoloji*. Ankara: Hacettepe Taş Kitabevi 1998.
76. Guyton, A.C, John, J.E. *Textbook of Medikal Physiology* 10. Baskı, Ankara. Yüce yayınları: 2001.
77. Michelmann I, Bockmann D, Nurnberger W. et al. Thrombocytopenia and complement activation under recombinant TNF alpha/IFN gamma therapy in man. *Ann. Hematol.* 1997; 74; 179-184.
78. Tamamyan G, Danielyan S, Lambert MP. Chemotherapy induced thrombocytopenia in pediatric oncology. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2016; 99:299–307.
79. Çetin N, Bilgili A, Koyu A. Tavşanlarda Flor uygulamasının bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *EÜ J Health Science*. 2004; 13 (2): 46-50.
80. Schalm O.W. *Veterinary Hematology*, Sekond Ed, Chapter 65, McGrawHill, Philadelphia: 1994.
81. Feldman B.F, Zinkl, J.G., Jain N.C., Schalm, O.W. (*Schalm's Veterinary Hematology*, Fifth Ed, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimor; 2000.
82. Liebman, H.A. Thrombocytopenia in cancer patients. *Thromb. Res.* 2014, 133, S63–S69.
83. Karolak L, Chandra A, Khan, W, et al. High-dose chemotherapy-induced platelet defect: Inhibition of platelet signal transduction pathways. *Mol. Pharmacol.* 1993, 43, 37–44.
84. Tajima H, Ohta T, Miyashita T, et al. Oxaliplatin-based chemotherapy induces extravasated platelet aggregation in the liver. *Mol. Clin. Oncol.* 2015, 3, 555–558.
85. Hitron A, Steinke D, Sutphin S, et al. Incidence and risk factors of clinically significant chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with solid tumors. *J Oncol Pharm Pract.* 2011;17:312–9.

86. Ten Berg M, Van Den Bemt, P, Shantakumar S, et al. Thrombocytopenia in adult cancer patients receiving cytotoxic chemotherapy: results from a retrospective hospital-based cohort study. *Drug Saf.* 2011; 34: 1151–1160.
87. Shaw JL, Nielson CM, Park JK. The incidence of thrombocytopenia in adult patients receiving chemotherapy for solid tumors or hematologic malignancies. *Eur J Haematol.* 2021;106(5):662-672.
88. Groopman JE, Itri LM. Chemotherapy-induced anemia in adults: incidence and treatment. *J Natl Cancer Inst* 1999;91: 1616-34.
89. Hansen R.J, Balthasar J.P. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and platelet binding of an anti-glycoprotein IIb/IIIa monoclonal antibody (7E3) in the rat: A quantitative rat model of immune thrombocytopenic purpura, *The journal of pharymacology and experimental therapeutics*, 2001; 298 (1), 165- 171.
90. Jardim DL, Rodrigues CA, Novis YA et al. Oxaliplatin-related thrombocytopenia. *Ann. Oncol*, 2012; 23(8), 1937–1942.
91. Baquiran DC. Lippincott’s cancer chemotherapy handbook. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2001.
92. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology.* 1995; 49(10), 1341-1348.
93. Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000: A historical look to the future. *Ann NY Acad.* 2000; 899: 136-147.
94. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*, 3rd ed. New York, Oxford. 1999; 46.
95. Halliwell B. Antioxidants and human disease: A general introduction. *Nutr Rev.* 1997; 55: 44-49.
96. Özkaya, A. Oksidatif strese maruz kalan ratların bazı biyokimyasal parametrelerine hesperetin ve ellagik asidin etkisi, . Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
97. Pinnell, S.R. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003; 48(1), 1-19.
98. Halliwell, B. Free radicals and other reactive species in disease. *Encyc. Life.* 2001; 1–9.
99. Gutteridge JMC. Biological origins of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact* 1994; 91: 133–140.
100. Berger, M. M. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition.* 2005; 24(2), 172-183.
101. Weijl N. I, Cleton F. J, Osanto S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 1997; 23(4), 209-240.

102. Block K. I, Koch, A. C, Mead, M. N. et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 2007; 33(5), 407-418.
103. Simone, C. B, Simone, N. L, Simone, V, et al. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 2007; 13(1), 22-28.
104. Prasad K. N, Cole W. C, Kumar B, et al. Pros and cons of antioxidant use during radiation therapy. *Cancer Treatment Reviews*, 2002; 28(2), 79
105. Sangeetha P, Das UN, Koratkar R, et al. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 1990; 8(1), 15-19.
106. Clemens M. R, Waladkhani A. R, Bublitiz K, et al. Supplementation with antioxidants prior to bone marrow transplantation. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 1997; 109(19), 771-776.
107. Dürken M, Agbenu J, Finckh B, et al. Deteriorating free radical-trapping capacity and antioxidant status in plasma during bone marrow transplantation, *Bone Marrow Transplantation*, 1995; 15, 757-762.
108. Hunnisett A, Davies S, McLaren-Howard J, et al. Lipoperoxides as an index of free radical activity in bone marrow transplant recipients. Preliminary observations. *Biological Trace Elements Research*, 1995; 47(1-3), 125- 132.
109. Lin J. Q. Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2002; 22(6), 530-532. 38.
110. Crohns M, Liippo K, Erhola, M, et al. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clinical Biochemistry*, . 2009; 42(12), 1236-1245.)
111. Jaakkola K, Lahteenmaki P, Laakso J, et al. Treatment with antioxidant and other nutrients in combination with chemotherapy and irradiation in patients with small-cell lung cancer. *Anticancer Research*, 1992; 12(3), 599- 606.
112. Ladas, E. J., Jacobson, J. S., Kennedy, D. D., Teel, K., Fleischauer, A., Kelly, K. M., (2004), Antioxidants and cancer therapy: a systematic review, *Journal of Clinical Oncology*, 22(3), 517-5)
113. Christen W.G, Gaziano J.M, Hennekens C.H. Design of Physicians' Health Study II--a randomized trial of beta-carotene, vitamins E and C, and multivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials. *Annals of Epidemiology*, 2000; 10(2), 125-134.
114. Blumenthal R.D, Lew Reising A, Soyne, D, et al. Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *International Jurnal*, 2000; 56,57,61,62.

115. Block K. I, Koch A. C, Mead, M.N, Tothy P.K, et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 2007. 33(5), 407-418.
116. Tee, E. S. Carotenoids and Retinoids in Human Nutrition, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1992: 31 (1/2) 103-163.
117. Stahl W, Junghans A, Boer BD, Driomina ES, Briviba K, Sies H. Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein. *FEBS Lett*, 1998; 427(2): 305-308.
118. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, et al. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl₃O₂. *Food Chem* 2002; 77: 209-212.
119. Hedayati N, Naeini MB, Nezami A et al. Protective effect of lycopene against chemical and natural toxins: A review. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2018; 45: 5-23.
120. Nazıroğlu M, Şimşek M, Kutlu M. Moderate exercise with a dietary vitamin C and E combination protects against streptozotocin-induced oxidative damage to the blood and improves fetal outcomes in pregnant rats. *Clin Chem Lab Med*, 2004; 42 (5): 511-517.
121. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(4):317-31.
122. Rao AV, Agarwal S. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J Am Coll Nutr* 2000;19(5):563-9.
123. Olempska Beer Z. Lycopene (Synthetic). Rome: 67th Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006; 1–6.
124. Coşkun H. Rasyona Bağlı Gelişen Özefajiti Önlemede Likopenin Etkinliği, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Adana, 2013.
125. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys*, 1996; 336: 1-9.
126. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med*, 2003; 24(6): 345- 351.
127. Rao AV, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: A review. *Nutr Res* 1999; 19(2): 305-323.
128. Jain CK, Agarwal S, Rao AV. The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in-vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats. *Nutr Res* 1999;19:1383-91.
129. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and antioxidant properties of lycopene from tomato products. *Nutr Cancer*, 1998; 31: 199-203.
130. Khachik F, Carvallo L, Bernstein PS, Muir GJ, Zhao DY, Katz NB. Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med* , 2002; 227(10): 845-851.

131. Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H. cis-trans Isomers of lycopene and beta-carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* 1992;294:173-7.
132. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992;56:417-26.
133. Shi J, Mazza G, Maguer M. (2002). Lycopene from tomatoes. *Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects* 2: 136-152.
134. Dimascio P, Kaiser S, Sies H. (1989). Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys* 274: 532-538.
135. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* 384: 240-246.
136. Khachik F, Beecher GR, Smith Jr JC. (1995). Lutein, lycopene and their oxidative metabolite in chemoprevention of cancer. *J Cell Biochem* 22(Suppl): 236-246. 65.
137. Khachik F, Spangler CJ, Smith Jr JC, Canfield LM, Steck A, Pfander H. (1997). Identification, quantification, and relative concentrations of carotenoids and their metabolites in human milk and serum. *Anal Chem* 69: 1873-1881.
138. Kimura Y, Nagata Y, Buddington RK. (2004). Some dietary fibers increase elimination of orally administered polychlorinated biphenyls but not that of retinol in mice. *J Nutr* 34: 135-142.
139. Conklin KA: Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer*, 2000. 2. 37, 1–18.
140. Lawenda BD, Kelly KM, Ladas EJ, et al..Should supplemental antioxidant administration be avoided during chemotherapy and radiation therapy? *J Natl Cancer Inst* , 2008.;100, 773–783,
141. Sahin K, Sahin N, Kucuk O. Lycopene and chemotherapy toxicity. *Nutr Cancer* 2010;6287:988.
142. D'incalci M, Steward WP, Gescher AC. Modulation of response to cancer chemotherapeutic agent by diet constituents: is the available evidence sufficiently robust for rasyonel advace for patients? *Cancer treat rev* 2007;33(3) 223-9
143. Block KI, Koch AC, Mead MN, et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int J Cancer* 2008; 123: 1227 – 39.
144. Faber M, Coudray C, Hida H, Mousseau M, and Favier A: Lipid peroxidation products and vitamin and trace element status in patients with cancer before and after chemotherapy including adriamycin. a preliminary study. *Biol Trace Elem Res* 47, 117–123, 1995.
145. Weijl NI, Hopman GD, Wipkink-Bakker A, Lentjes EGWM, Berger HM, et al.: Cisplatin combination chemotherapy induces a fall in plasma antioxidants of cancer patients. *Ann Oncol* 9, 1331–1337, 1998.
146. Giovannucci E, Liu Y, Stampfer MJ, Willett WC. A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:391–8.

147. Rao LG, Krishnadev N, Liu LJ-F, Murray TM, Rao AV. Lycopene inhibits osteoclastic bone resorption mediated by reactive oxygen species. *J Bone Min Res*, 2001; 16, 382.
148. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979; 95, 351–358
149. Ellman, G. Tissue sulphydryl groups. *Arch. Biochem. Bio-phys.* 1959; 82, 70–77.
150. Aebi H. Catalase in vitro assay methods. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 121-126.
151. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with pholin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265-275.
152. Beutler, E. Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*. Grune Strottan, New York, 1975; .67–69.
153. Hye-Jung Park, Jong-Min Han, Hyeong-Geug Kim, et all. Anti-Myelosuppression Effects of Korean Red Ginseng in SD Rat Injected with 5-fluorouracil. *The Journal of Korean Oriental Medicine*, 2012. Vol.33. No.2. 47-55.
154. Gül S, Gül M, Yiğitcan B, Aksanyar SY. Doku ve Hücre Bütünlüğünün Korunması Açısından Üç Farklı Dekalsifikasyon Yönteminin Karşılaştırması. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2017; 6 (2): 19-23.
155. Young JL Jr, Ward KC (eds). *Kanser Kayıtlığında Standartlar İçin El Kitabı*. Çeviri Ed: Eser S, Ozalan S. Ankara, 2013.
156. Kanser Daire Başkanlığı. *Tiroid Kanserleri, Dünyada ve Türkiye’de Tiroid Kanserleri*. Rapor No:5, Ankara, 2012.
157. Shu L.-L, Jiang Q.L, Meng F.Y. et al. Molecular mechanism of imatinib-induced thrombocytopenia in treatment of patients with CML. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2011; 19 (5), 1314–1318.
158. Sueishi K, Mishima K, Makino K, Itoh Y, Tsuruya K, Hirakata H. Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 451:203–8.
159. Wiltshaw E. Ovarian trials at the Royal Marsden. *Cancer Treatment Review* 12 Suppl, A, 1985; 67-71.
160. Calvert AH, Harland SJ, Newell DR, Siddik ZH, Jones AC, et al. Early clinical studies with cis-diammine-L1-cyclobutane dicarboxylate platinum II. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 1982; 9: 140-147.
161. Gerna JR, Marcuello E, Sanchez Parra M, de Andres L, Tuca A, et al. A phase II trial of carboplatin in advanced or metastatic transitional carcinoma of the bladder. *ECCO*, Madrid, 1987; 1-4.
162. O’Dwyer P J, Johnson S W, Hamilton T C. Cisplatin and Hs Analogues. In: Devita VT, Helman S, eds. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 5 th ed. Philadelphia: JB Lipincott Company 1997:418-432.

163. Egorin M J, Van Echo DA, Tipping S J, ve ark. Pharmacokinetics and dosage reduction of cis-diammine(1,1-cyclobutanedicarboxylato) platinum in patients with impaired renal function. *Cancer Res* 1984;44:5432-5438.
164. Heber D, Lu QY. Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med* Maywood, 2002; 227(10):920- 3.
165. Masuda Y, Inoue M, Miyata A, Mizuno S, Nanba H. Maitake β -glucan enhances therapeutic effect and reduces myelosuppression and nephrotoxicity of cisplatin in mice. *International Immunopharmacology* 2009: 620-626.
166. Abd-Allah AR, Al-Majed AA, Al-Yahya AA, et al. L-Carnitine halts apoptosis and myelosuppression induced by carboplatin in rat bone marrow cell cultures. *Arch Toxicol* 2005; 79: 406-413.
167. Uçüncü H, Ertekin MV, Yörük O, Sezen O, Ozkan A, Erdoğan F, Kiziltunç A, Gündoğdu C. Vitamin E and L-carnitine, separately or in combination, in the prevention of radiation-induced oral mucositis and myelosuppression: a controlled study in a rat model. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2006; 47(1): 91-102.
168. Sendão MC, Behling EB, dos Santos RA, Antunes LM, de Lourdes Pires Bianchi M. Comparative effects of acute and subacute lycopene administration on chromosomal aberrations induced by cisplatin in male rats. *Food Chem Toxicol*. 2006 Aug;44:1334-1339.
169. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmac- other* 2004; 58:100–110.
170. Silva CR, Greggi Antunes, LM, Bianchi ML. Antioxidant action of bixin against cisplatin-induced chromosome aberrations and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43, 6: 561-566.
171. Nishikawa M, Nagatomi H, Chang BJ, Sato E, Inoue M. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells inhibits mitochondrial injury and renal dysfunction induced by cisplatin. *Arch Biochem Biophys* 2001 Mar; 387 (1): 78–84.
172. Jin F, Cheng D, Tao JY, Zhang SL, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of corilagin in a rat model of acute cholestasis. *BMC Gastroenterol*, 2013; 3, 13-79.
173. Er A, Altan F, Cetin G, et al. Effects of enrofloxacin, flunixin and dexamethasone on indicators of oxidative and organ damage in lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *J Anim Vet Adv*, 2010; 9,1495-1500.
174. Wang J, Li Y, Wang C, Zhang, et al. Chen, X. Efficacy and Safety of the Combination Treatment of Rituximab and Dexamethasone for Adults with Primary Immune Thrombocytopenia (ITP): A Meta-Analysis. *Biomed Res. Int.* 2018,

