



**SIÇANLARDA SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ
KARACİĞER HASARINDA FRAKSİN' İN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Çiğdem BİNGÖL

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR

2018

Her hakkı saklıdır

T.C

AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ KARACİĞER
HASARINDA FRAKSİN' İN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Çiğdem BİNGÖL

KİMYA ANABİLİM DALI

AĞRI

2018

Her hakkı saklıdır

...../...../2018

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “Sıçanlarda Sisplatin ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Fraksin’ in Etkisinin Araştırılması” adlı tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

- ☐ Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.
- ☐ Tezim sadece Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.
- ☒ Tezimin 3 yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

[Tarih ve İmza]

Çiğdem BİNGÖL



T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

**SIÇANLARDA SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ KARACİĞER HASARINDA
FRAKSİN' İN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR danışmanlığında, Çiğdem BİNGÖL tarafından hazırlanan bu çalışma, 13/04/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak **oybirliği/oyçokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İlhami GÜLÇİN

İmza :

Üye : Doç. Dr. Hülya AKINCIOĞLU

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu .../.../2018 tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. İbrahim HAN
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SIÇANLARDA SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ KARACİĞER HASARINDA FRAKSİN' İN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Çiğdem BİNGÖL

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR

Bu çalışma Sisplatin kaynaklı karaciğer hasarında çeşitli biyolojik özelliklere sahip Fraksin' in etkisinin değerlendirilmesi amacıyla tasarlandı.

Çalışmamız kapsamında 24 adet Wistar cinsi albino rat randomize olarak Kontrol, Fraksin, Sisplatin ve Fraksin+Sisplatin grupları oluşturulacak şekilde ayrıldı. Sisplatin 12 mg/kg i.p., Fraksin 40 mg/kg dozlarında oral yolla uygulandı. Deneyin sonunda ratlar sakrifiye edilerek karaciğer dokuları hızlı bir şekilde alındı. Biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler yapılmaya kadar karaciğer doku örnekleri uygun koşullarda muhafaza edildi.

Biyokimyasal bulgularımıza göre, Sisplatin grubunda MDA seviyesinin yükseldiği, antioksidan enzim aktivitelerinin ise azaldığı görülürken Fraksin+Sisplatin grubunda MDA seviyesinin azaldığı antioksidan enzim aktivitelerinin ise arttığı görüldü. İmmünohistokimyasal değerlendirmede ise TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonu kontrol ve Fraksin gruplarında negatif gözlenirken, Sisplatin grubunda şiddetli düzeyde olduğu ancak Fraksin+Sisplatin tedavi grubunda ise hafif düzeyde olduğu gözlemlendi. Ayrıca, Sisplatin grubunda hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinüzoidlerde dilatasyon, koagülasyon nekrozu ve hiperemi gibi patolojik göstergelerin artışı biyokimyasal ve immünohistokimyasal bulgularımızla uyumlu olduğunu gösterdi.

Sisplatin kaynaklı karaciğer hasarının hafifletilmesinde Fraksin'in koruyucu etkilere sahip olduğu biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik bulgularımız ile ortaya konulmuştur.

2018, 112 sayfa

Anahtar Kelimeler: Sisplatin; Hepatotoksisite; Fraksin; Oksidatif stres; Apoptoz

ABSTRACT

Master Thesis

THE INVESTIGATION OF THE EFFECT OF FRAXIN IN THE LIVER DAMAGE INDUCED BY CISPLATIN IN RATS

Çiğdem BİNGÖL

Ağrı İbrahim Çeçen University

Institute of Science and Technology

Department of Chemistry

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR

This study was designed to assess the efficacy of Fraxin have various biological properties in cisplatin-induced liver injury.

In our study, 24 Wistar albino rats were randomly divided into Control, Fraxin, Cisplatin and Fraxin + Cisplatin groups. Cisplatin 12 mg/kg i.p, Fraxin 40 mg/kg orally was administered. At the end of the experiment, the rats were sacrificed and the liver tissues taken rapidly. Until biochemical, histopathologic and immunohistochemical evaluations were made. Liver tissue specimens were maintained under appropriate conditions.

According to our biochemical findings, MDA level increased and antioxidant enzyme activities decreased in Cisplatin group, antioxidant enzyme activities increased, MDA level decreased in Fraxin + Cisplatin group. Immunohistochemical evaluations showed that, TNF- α and Caspase-3 expression were negative in the Control and Fraxin groups, whereas severe levels were observed in the Cisplatin group. However, it was seen that TNF- α and Caspase-3 expression were mild levels in the Fraxin + Cisplatin treatment group. In addition, it was observed that the increase of pathological markers such as hydropic degeneration, coagulation necrosis, dilatation in sinuzoid and hyperemia in the cisplatin group were compatible with our biochemical and immunohistochemical findings.

Biochemical, immunohistochemical and histopathological results revealed that Fraxin was effective in relieving Cisplatin-induced liver damage.

2018, 112 pages

Keywords: Cisplatin; Hepatotoxicity; Fraxin; Oxidative stress; Apoptosis

TEŞEKKÜR

Sunulan yüksek lisans tez çalışması Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, tez çalışmamızın planlanması, gerçekleştirilmesi ve tamamlanmasında büyük katkı sağlayan, bilgi ve tecrübeleriyle desteğini esirgemeyen, danışmanım saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR' e sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Biyokimyasal analizlerin yapılmasında bilgi ve tecrübeleriyle katkı sağlayan sayın Doç. Dr. Fatih Mehmet KANDEMİR' e ve histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerin yapılmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Serkan YILDIRIM' a teşekkürlerimi sunarım.

Öğrenim hayatım boyunca bana sağladıkları maddi ve manevi desteklerinden ötürü sevgili annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, yol göstericim çok kıymetli eşim Ahmet BİNGÖL' e teşekkürü bir borç bilirim.

Çiğdem BİNGÖL

Nisan 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ BÖLÜMÜ.....	3
2.1. Sisplatin.....	3
2.1.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	3
2.1.2. Etki Mekanizması.....	4
2.1.3. Kullanım Alanı.....	5
2.1.4. Yan Etkileri.....	5
2.2. Hücre Hasarı.....	6
2.3. Hücre Zedelenme Şekilleri.....	6
2.3.1. Geri Dönüşümlü (Reversible) Hücre Zedelenmesi.....	6
2.3.2. Geri Dönüşümsüz (Irreversible) Hücre Zedelenmesi.....	7
2.3.2.1. Nekroz.....	8
2.3.2.2. Apoptozis.....	9
2.4. Karaciğer.....	13
2.4.1. İlaç ve Toksinlere Bağlı Karaciğer Hasarları.....	15
2.5. Oksidatif Stres.....	17
2.6. Serbest Radikaller.....	19
2.6.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT/SOR).....	22

2.6.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT).....	24
2.6.3. Diğer Reaktif Oksijen Türleri.....	25
2.6.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar.....	25
2.6.5. Serbest Radikallerin Karaciğer Üzerine Etkileri.....	27
2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	28
2.7.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları.....	31
2.8. Sitokinler.....	34
2.9. Fraksin.....	37
2.9.1. Fraksin ve Antioksidan Özelliği.....	41
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	42
3.1. Etik Kurul Onayı.....	42
3.2. İlaçlar ve Kimyasallar.....	42
3.3. Deney planı ve Grupların Oluşturulması.....	42
3.4. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	43
3.5. Biyokimyasal Analiz.....	43
3.6. Histopatolojik Değerlendirme.....	44
3.7. İmmunohistokimyasal İnceleme.....	44
3.8. İstatistiksel analiz.....	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	46
5. TARTIŞMA.....	59
5.1. Tartışma.....	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	72
KAYNAKÇA.....	74
EKLER.....	96

EK 1: Etik Kurul Kararı.....	96
EK 1: İntihal Raporları Formu.....	97
ÖZGEÇMİŞ.....	98



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
GPx	Glutasyon Peroksidaz
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
GSH	Glutasyon
MDA	Malondialdehid
$O_2^{\bullet}$	Süperoksit Radikali
$\bullet OH$	Hidroksil Radikali
$LOO^{\bullet}$	Peroksil Radikali
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
NO	Nitrik Oksit
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör- α
RNT	Reaktif Nitrojen Radikali
HBF	Hepatosit Büyüme Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Sisplatin' in kimyasal yapısı	4
Şekil 2.2.	Sisplatin-DNA bağlanması.....	5
Şekil 2.3.	Hepatositlerde hidropik dejenerasyon.....	7
Şekil 2.4.	Nekroz ve Apoptoz oluşumu.....	10
Şekil 2.5.	Apoptoz basamakları.....	10
Şekil 2.6.	Rat testisinde apoptotik hücrelerin yarımay şeklindeki çekirdekleri, koyu eozinofilik sitoplazmalı apoptotik hücreler..	12
Şekil 2.7.	Sisplatin' in indüklediği ana akut tübüler hücre hasar yolları...	13
Şekil 2.8.	Hücre zedelenme türleri.....	15
Şekil 2.09.	Oksidatif Stres.....	18
Şekil 2.10.	Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı.....	25
Şekil 2.11.	MDA Oluşumu.....	27
Şekil 2.12.	Antioksidan savunma sistemleri.....	29
Şekil 2.13.	Antioksidan etki mekanizması.....	31
Şekil 2.14.	<i>A. hippocastanum</i> Kabuk ve Yapraklarından İzole Edilen Kumarin ve Kumarin Glikozitleri.....	38
Şekil 2.15.	α -piron, γ -piron ve kumarin yapıları.....	40
Şekil 2.16.	Basit Kumarinler.....	40
Şekil 2.17.	Fraksin' in kimyasal yapısı.....	41
Şekil 4.1	Tüm gruplara ait MDA (nmol/g tissue) sonuçları.....	47
Şekil 4.2	Tüm gruplara ait GSH (nmol/g tissue) sonuçları.....	48
Şekil 4.3	Tüm gruplara ait GPx (U/g tissue) sonuçları.....	49
Şekil 4.4	Tüm gruplara ait SOD (U/g tissue) sonuçları.....	49
Şekil 4.5	Tüm gruplara ait CAT (katal/g protein) sonuçları.....	50
Şekil 4.6	Kontrol grubu karaciğer dokusuna ait normal histolojik görünüm, H&E, Bar: 20 μ m.....	51
Şekil 4.7	Fraksin grubunda karaciğer dokusuna ait normal histolojik görünümü, H&E, Bar: 20 μ m.....	52

Şekil 4.8	Sisplatin grup, Karaciğer dokusu, asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon (oklar), koagulasyon nekrozu (okbaşları), sinüzodlerde dilatasyon ve hiperemi (yıldız), H&E, Bar: 20µm.....	52
Şekil 4.9	Sisplatin+Fraksin grubunda karaciğer dokusuna ait asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon (oklar), az sayıda hepatositte koagulasyon nekrozu (okbaşları), damarlarda hiperemi (yıldız), H&E, Bar: 20µm.....	53
Şekil 4.10	Kontrol grubunun karaciğer dokusu, TNF-α ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.....	55
Şekil 4.11	Fraksin grubunun karaciğer dokusunda TNF-α ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.....	55
Şekil 4.12	Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, sinüzoidal ve sentral ven duvarında şiddetli TNF-α ekspresyonu, IP, Bar: 20µm.....	56
Şekil 4.13	Fraksin+Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, hafif düzeyde bazı sinüzoidlerin duvarında TNF-α ekspresyonu, IP, H&E, Bar: 20µm.....	56
Şekil 4.14	Kontrol grubunda karaciğer dokusuna ait Caspase-3 ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.....	57
Şekil 4.15	Fraksin grubunda karaciğer dokusu, Caspase-3 ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.....	57
Şekil 4.16	Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, şiddetli düzeyde asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde Caspase-3 ekspresyonu, IP, Bar: 20µm.....	58
Şekil 4.17	Fraksin+Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, hafif düzeyde asiner bölgede hepatositlerde Caspase-3 ekspresyonu, IP, H&E, Bar: 20µm.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Nekroz ve Apoptoz özellikleri.....	8
Çizelge 2.2.	Apoptozis oluşumuna neden olan hücre içi ve dışı uyaranlar çizelgede özetlenmiştir.....	11
Çizelge 2.3.	Oksidatif Stres Belirteçleri.....	19
Çizelge 2.4.	Serbest radikal ve radikal olmayan reaktif türler.....	21
Çizelge 2.5.	Serbest radikallere karşı antioksidan savunma sistemi.....	30
Çizelge 2.6.	Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması.....	32
Çizelge 4.1	Tüm gruplara ait Malondialdehit (MDA) düzeyi, Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Catalaz (CAT) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) seviyesine ilişkin minimum-maksimum değerler ile Ort±SEM sonuçları sunulmuştur.....	46
Çizelge 4.2	Karaciğer dokusunda histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeye hepatositlerde hidropik degenerasyon, koagulasyon nekrozu, sinüzoidal dilatasyon ve hiperemi, Tnf- α ve Caspase-3 için değerlendirme skorlamaları özetlenmiştir.	54

1.GİRİŞ

Organizmada bazı sistemlerin iç etmenler sonucu etkinliğinin azalması, durması, maruz kalınan radyasyon veya teknolojik aletlerin gereğinden fazla kullanımı gibi çeşitli dış etkiler sonucu yaşanan kanserlerin önemi gün geçtikçe daha çok dikkat çekmektedir (Yılmaz vd 2004). Kemoterapi, günümüzde kanser hastalıklarının tedavisinde başlıca kullanılan yöntemler arasında olduğu gibi radyoterapi ve cerrahi ile birlikte kullanılan etkin bir tedavi yöntemidir (Gilman 1963). Kanser hastalıklarının tedavisinde kullanımı ve güvenilirliği yüksek olan antineoplastik ilaçlar, hedef kanser hücrelerini imha ederken istenmeyen etkilere neden olarak sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedirler (Kintzel 2001).

Sisplatin (*cis*-diaminodikloroplatinum (II)), organik platin türevi olup kullanım alanının geniş olması ve antitümör özelliğiyle klinikte sıklıkla tercih edilen antineoplastik tedaviler arasında yer almaktadır (Taguchi et al., 2005). Kullanımının dozuna bağlı olarak ortaya çıkan toksik etkileri arasında hepatotoksisite, nefrotoksisite, nörotoksisite, testiküler toksisite, gastrointestinal hasarların gözlenmesi sisplatinin kullanımını büyük ölçüde sınırlandırmaktadır (Ateşşahin et al., 2006).

Sisplatin' in yüksek doz kullanımı karaciğerde ciddi yan etkilere neden olmasıyla birlikte kişiyi hepatotoksisite yönünden olumsuz etkilemektedir (Nazıroğlu et al., 2004). Sisplatin' in sebep olduğu karaciğer hasarında önemli mekanizmalardan biri olan oksidatif stres sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşturduğu lipid peroksidasyonu; kanserler, kalp hastalıkları, toksik hücre hasarı gibi çok sayıda hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır (Halliwell and Chirico 1993). Hücrede yer alan enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar, SOR' ların neden olduğu oksidatif hasarın zararlı etkilerinden hücreyi korumakla görevlidir (Guemouri et al., 1991). Sisplatin' in sebep olduğu toksisiteye karşı birçok antioksidandan tedavinin birlikte kullanımı ile Sisplatin toksisitesinin hafifletilmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır (Erdlenbruch et al., 2001; Mansour et al., 2006).

Fraksin, hidroksil içeren basit kumarin glikoziti olan güçlü bir antioksidan olup güçlü bir radikal temizleme özelliği göstermektedir (Chang et al., 2017). Fraksin' in güçlü

bir antioksidan özelliğe sahip olmasının yanı sıra antienflamatuar, antimetastatik, antikarsinojenik, nöroprotektif, antitrombotik ve makrofajlar üzerinde doğrudan etkisinin olması gibi önemli etkiler göstermektedir (Whang et al., 2005; Kimura and Sumiyoshi 2015).

Yapmış olduğumuz detaylı literatür araştırmaları sonucunda kemoterapi tedavisinde sıklıkla kullanılan antineoplastik ilaçlardan olan Sisplatinin karaciğer dokusunda oluşturduğu toksik etkiyi hafifletebilmek amacıyla Fraksin'in kullanıldığı herhangi bir araştırma çalışmasına rastlanılamamıştır. Bu bakımdan çalışmamız bilimsel literatüre katkı sağlamak ve Sisplatin uygulamasına bağlı olarak gelişen karaciğer hasarının azaltılmasında geniş biyolojik etkinliklere sahip olan Fraksin' in etkisinin biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik bulgular ile ortaya konulması amaçlanmıştır.

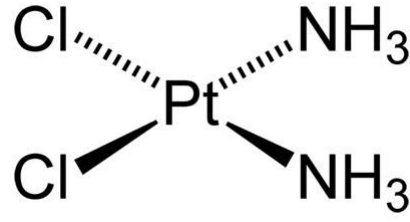
2. KAYNAK ÖZETLERİ BÖLÜMÜ

2.1. Sisplatin

Sisplatin, günümüzde akciğer, over, testis, mesane, böbrek, karaciğer, baş-boyun tümörleri gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılan geniş spektruma sahip antineoplastik bir ilaçtır (Cvitkovic et al., 1977; Links and Lewis 1999). İlk kez 1845’ de Michel Peryone tarafından sentezlenmiş, kimyasal yapısı 1893’ de Alfred Wegner tarafından aydınlatılmıştır. 1960’ larda bakteri ve memeli hücreleri ile ilgili çalışmalar yapan Barnett Rosenberg Sisplatin’ i tesadüfen keşfetmiştir. Escherichia Coli ile yaptığı ilk çalışmada bakterilerin elektromanyetik alandan etkilenecek normalden çok daha uzun flamanlar oluşturduğunu zannederken aslında bu etkinin platin elektrotlarından kaynaklı elektrolizden doğan sonuç olduğunu bulmuştur. Detaylı olarak incelediğinde ise bu olaya sebep olan bileşenin 1845’ te Peyron tarafından sentezlenen ve ileriki yıllarda Sisplatin adıyla anılan ve platinin nötral bir *cis* izomeri olan bir bileşik olduğunu ortaya koyacaktır. 1965 yılında yapılan çalışmalarda Sisplatin’ in bakterilerin hücre bölünmesini durdurduğu ve diğer yapılarında zararlı etkilere neden olmamak adına uzun flamanlar oluşturduğunu ortaya koyan bilimsel araştırmalar yayınlanmıştır. 1968’ de sarkomlu bir rata intraperitoneal Sisplatin uygulanmış ve kanser hücresinde gerileme gözlenmiştir. Aktif olarak kanserli hastalar üzerinde uygulanmaya başlanan Sisplatin Amerika Gıda ve İlaç Kurumu tarafından 1978’ de ilaç olarak onaylanmıştır (Kelland 2007).

2.1.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Sisplatin’ in kimyasal adı *cis*-diaminodikloroplatinum (II) dur ve yapısı incelendiğinde platinden oluşan merkez atoma bağlı ayrı ayrı iki tane amonyum ve klor atomlarıyla bağ oluşturmuştur (Ali and Al Moundhri 2006) (Şekil 2.1).

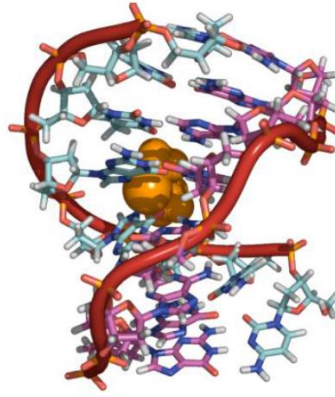


Şekil 2.1. Sisplatin' in kimyasal yapısı (Lebwohl and Canetta 1998).

Vücutta Sisplatin bileşiği hücre içine alınınca trans ve cis olarak iki farklı formda bulunur, cis formunda bu bileşik sitotoksik özellik gösterirken, trans izomerinin antineoplastik etkisi bulunmamaktadır (Tarladaçalışır vd 2005). Daha da önemlisi bu bileşik çoğunlukla hücre içerisinde sitozol, mitokondrium, çekirdek ve mikrozomlara yerleşirken eğer hücre içerisinde yeterli miktarda klor yoksa, kendi bünyesinde yer alan 2 adet klor atomu normalden daha fazla sitotoksik etki gösteren bir ajana dönüşmektedir (Kuhlmann et al., 1997).

2.1.2. Etki Mekanizması

Sisplatin' in etki mekanizması hakkında kısaca bahsedecek olursak sitotoksik özelliği olan cis formundaki bileşik hücreye girdikten sonra klor ile su molekülleri reaksiyona girer ve sonrasında DNA' ya kovalent bağlarla bağlanan bileşik DNA sentez ve replikasyonunu, protein sentezini engeller. Kansersiz hücrelerde de geri dönüşümü olmayan ileri derece DNA hasarlarına sebep olabilir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş 2011). Geri dönüşümsüz olan bu durum mitokondriyal hasara, hücre siklusunun duraklamasına, hücre transport sistemlerinde bozulmaya ve sonrasında apoptozis, inflamasyon, nekroz ve hücre ölümüne neden olmaktadır (Wang and Lippard 2005; Kelland 2007).



Şekil 2.2. Sisplatin-DNA bağlanması (Sueishi et al., 2002).

2.1.3. Kullanım Alanı

Sisplatin' in ağız yoluyla alınan veya gastrointestinal sistemde emilen bir tablet formu bulunmamaktadır (Kayaalp 2012). Parenteral ilaç uygulamaları yollarından olan intravenöz, intraperitoneal, intraarteriyel olarak vücuda alınmaktadır (Kayaalp 2012).

2.1.4. Yan Etkileri

Sisplatin' in kullanımı sonucu en çok gözlenen yan etkiler arasında hepatotoksisite bulunmaktadır (Zicca et al., 2002). Kansere tedavisinde en iyi sonuç yüksek dozla sağlanabilmektedir (Ali and Al Moundhri 2006). Buradan yola çıkılarak kanser tedavisinin her aşamasında Sisplatin' in dozunun artırılarak uygulanması kümülatif olarak karaciğerde toksisitenin oluşmasına neden olmaktadır (Pratibha et al., 2006; Fenoglio et al., 2005). Hepatotoksisiteye neden olan hasar mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsada (Pratibha et al., 2006; Al-Majed 2007) oluşan hasarda oksidatif stresin etkisinin varlığını kanıtlayan bilimsel araştırmalar bulunmaktadır (Güleç vd 2004; Martins et al., 2008).

Karaciğer, Sisplatin' in yan etkilerinden ve toksisitesinden en fazla etkilenen organlar arasındadır (Zicca et al., 2002; Tarladaçalışır vd 2005). Karaciğer, toksik maddelerin atılım ve detoksifikasyonunda önemli bir rol üstlenir ve toksinlerin her zaman ilk hedefi olmuştur (Tarladaçalışır vd 2005). Sisplatin toksisitesinden organeller de etkilenmektedirler. Mitokondrilerin yapısında ve işlevlerini yerine getirmesinde hasara neden olarak, antioksidan sistem etkinliğinin azalmasına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu durumların tamamından SOR' lar sorumludur.

Ayrıca yapılan birçok çalışmada Sisplatin' in lipid peroksidasyonuna, kromozom anomalilerine, enzimatik aktivasyonlarda değişmelere neden olduğu gösterilmiştir (Yılmaz vd 2004). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik savunma sistemlerinin toksisiteye karşı koruyucu etkilerinin olduğu yapılan araştırmalarca desteklenmiştir (Uehara et al., 2011). Dahası hepatotoksisite sonucu nekroz, apoptozis, DNA hasarı, Caspase aktivasyonu, mitokondrial bozukluklar, SOR' ların oluşumu da gözlenmektedir (Pan et al., 2009).

2.2. Hücre Hasarı

Hücreler hayati fonksiyonların devamlılığını sağlayan, normal fonksiyonlarını yerine getirirken vücut sistemimizde varolan ve yaşamın devamı için gerekli diğer metabolik reaksiyonlarla bir bütünlük içerisinde çalışır. Hücre, iç ve dış etkenlere rağmen kendi yapısını koruyarak homeostazisini sürdürür. Çeşitli uyaranlar veya stresle karşılaştığında hücre metabolizması ve fonksiyonlarını korumak adına hücre adaptasyonlarına neden olabilir. Ardından atrofi, hipertrofi, hiperplazi ve metaplazi gibi durumlar gelişmektedir. Bu durumlardan sonra hücre zedelenmesi şekillenir. Bu değişikliklerin bir kısmı şartlar düzelince normale döner ancak bazı durumlarda eski haline dönemez ve geri dönüşümsüz olarak hücre canlılığını daha fazla koruyamaz ve ölür. Hücre zedelenmesinin nedenleri arasında, hipoksi, fiziksel ajanlar (basınç, sıcaklık, radyasyon vs.), kimyasal etkenler ve ilaçlar, mikrobiyolojik etkenler, immünolojik reaksiyonlar, genetik bozukluklar, beslenme bozuklukları ve yaşlanma yer almaktadır (Kumar et al., 1999).

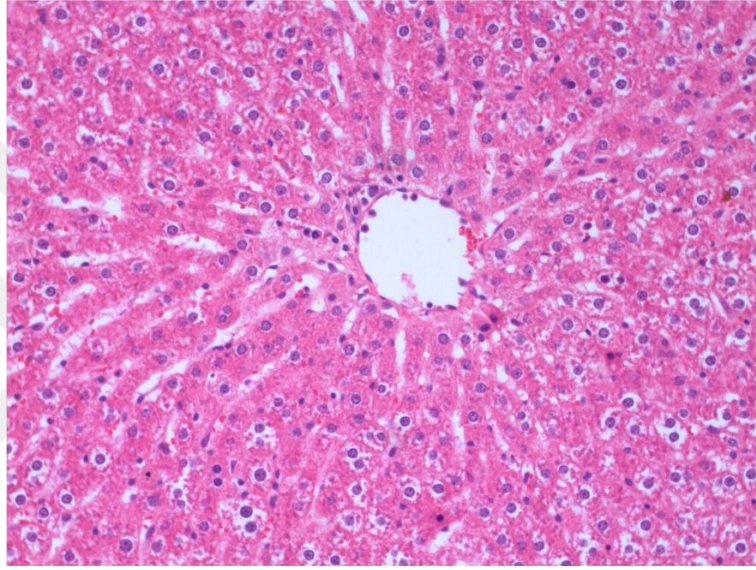
2.3. Hücre Zedelenme Şekilleri

Hücre zedelenmesi şekilleri ve morfolojik bulguları geri dönüşümlü (reversible), geri dönüşümsüz (irreversible) zedelenme olarak bilinen nekrozdan sonra oluşan hücre ölümü, uzun süren veya daha çok etkileyici uyaranlara karşı oluşan organel değişiklikleri, hücre elementleri metabolizmasında yaşanan bozulmalar veya hücre içi/hücreler arası madde birikmesi olarak tanımlanabilmektedir (Karaduman 2006).

2.3.1. Geri Dönüşümlü (Reversible) Hücre Zedelenmesi

Reversible hücre zedelenmesi ışık mikroskopunda iki şekilde gözlenmektedir. Bunlar hücresel şişme ve yağlı dejeneratif değişimden oluşmaktadır. Hücresel şişme olayı

zedelenen hücrelerin iyon ve sıvı homeostazını sürdüremediği takdirde hücrelerde ortaya çıkan ilk belirtidir. Mikroskopik inceleme esnasında hücresel şişmenin görüldüğü sitoplazmada küçük, berrak vakuoller (kofullar) görülebilir. Bu tip ölümle sonuçlanmayan ve geri dönüşümü olan reversibl zedelenme hidropik değişiklik veya vakuoler dejenerasyon olarak adlandırılır (Şekil 2.3). Yağlı değişme ise hücrelerin sitoplazmasında lipit vakuollerinin görülmesi olarak açıklanmaktadır (Kumar et al., 1999).



Şekil 2.3. Hepatositlerde hidropik dejenerasyon (Kumar et al. 1999).

2.3.2. Geri Dönüşümsüz (İrreversible) Hücre Zedelenmesi

Geri dönüşümsüz zedelenme hücrelerde nekroz ve apoptozis biçiminde görülmektedir.

ÖZELLİK	NEKROZ	APOPTOZ
Yol açan nedenler	İskemi Hipertermi Hipoksi Litik viral enfeksiyon Toksik maddelerin yüksek konsantrasyonu Şiddetli oksidatif stres	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması İnsan immündefeksi virüs Kanser ilaçları Radyasyon Yüksek doz glukokortikoid Fas veya TNFR-1 reseptörlerinin aktivasyonu Sitotoksik T lenfositleri Çok şiddetli olmayan oksidatif stres
Morfolojik özellikler	Hücre membranı bütünlüğünün kaybı Kromatin ‘‘ flocculation’’u Hücre şişmesi Organellerin disintegrasyonu Endoplazmik retikulumun dilatasyonu Büyük vakuollerin oluşumu Hücre lizisi	İnfakt hücre membranı fakat membranda ‘‘bleb’’lerin oluşumu Kromatinin nükleer membran civarında toplanması ve yoğunlaşması Hücre küçülmesi Organellerde disintegrasyon yok Hücresinin intaktmitokondri, ribozom, nucleus parçaları ve diğer organelleri içeren membranla kaplı apoptotic cisimciklere parçalanması
Biyokimyasal Özellikler	Bozulmuş iyon hemostazisi ATP gerekmez (Pasif süreç) +4 °C’ de gerçekleşebilir DNA rastgele parçalanır DNA fragmentasyonu	İyi kontrollü, bazı aktivasyonların ve enzimatik basamakların olması için ATP gereklidir DNA internukleozomal alanlarda 180 kb çiftinin katları olacak şekilde kırılır mono ve oligonukleozomlara ayrılır (agaroz jel elektroforezinde merdiven patterni=apoptozisin en önemli belirtisi) Prelitik DNA fragmentasyonu
Diğer özellikler	Hücreler gruplar halinde ölürler Fizyolojik olmayan(patolojik) etkiler sonucu gerçekleşir Lizozomal enzimler salınır İnflamasyona neden olur	Hücreler tek tek veya birkaçı bir arada ölür Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir Komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler İnflamasyon görülmez

Çizelge 2.1. Nekroz ve Apoptoz özellikleri (Engin 2001).

2.3.2.1. Nekroz

Nekroz canlı hücre ve dokularda aniden gelişen hasar (iskemi, hipoksi, toksik madde etkisi) sonucu hücrenin ölmesi olarak tanımlanır. En sık karşılaşılan nekroz tipi koagülasyon nekrozu olup gelişen her hasarda ortaya çıkar. Sitoplazma proteinleri

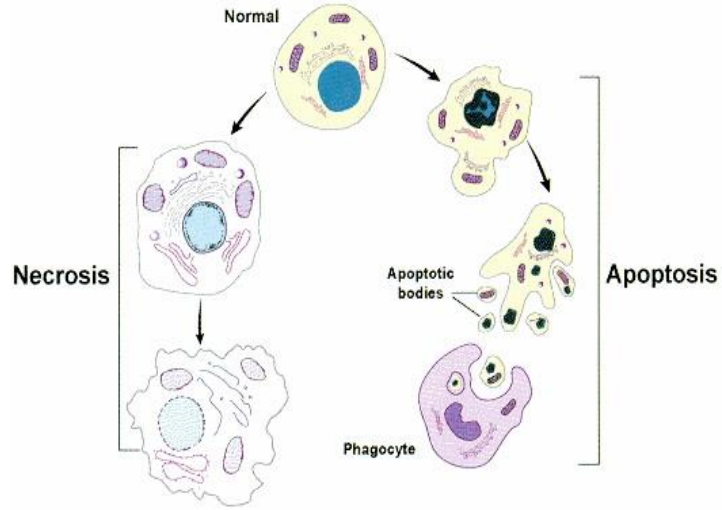
koagülasyona uğrar niteliğini kaybeder, hücre organellerinde nekrozlar oluşmaya başlar (Coşkun ve Özgür 2011).

Nekroz iki temel durumun sonucunda gerçekleşmektedir; bunlar, hücrede enzimatik sindirimin başlaması ve protein yapısının farklılaşması olarak bilinmektedir. Sindirim iki şekilde gerçekleşmektedir. Birincisi ölü hücrelerin sebep olduğu hidrolitik enzimler aracılığıyla gerçekleşir ki buna otoliz denir. İkincisi ise nekrozun gerçekleştiği alana inflamasyon oluşturmak için gelen lökositlerin lizozomlarından kaynaklanır ve buna da heteroliz denir. Bu süreç oldukça uzun bir zamanda gerçekleşir (Nicotera and Melino 2004; Golstein and Kroemer 2007).

Nekrozun protein yapısında farklılaşmaya neden olmasının sonucunda ise piknozis, karyoliz ve karyoreksiz şeklinde değişiklikler ortaya çıkar. Piknozis, hücrelerin kromatinin yoğunlaştığı, çekirdeğin büzüldüğü ve bazofilik hale dönmeye başladığı durumdur. Bu durumdan bir süre sonra çok sayıda küçük bazofilik partiküller oluşturması karyoreksiz şeklinde ifade edilirken, lizisin yaşandığının gözlenmesi karyolizis olarak adlandırılmaktadır (Yenerman 1994).

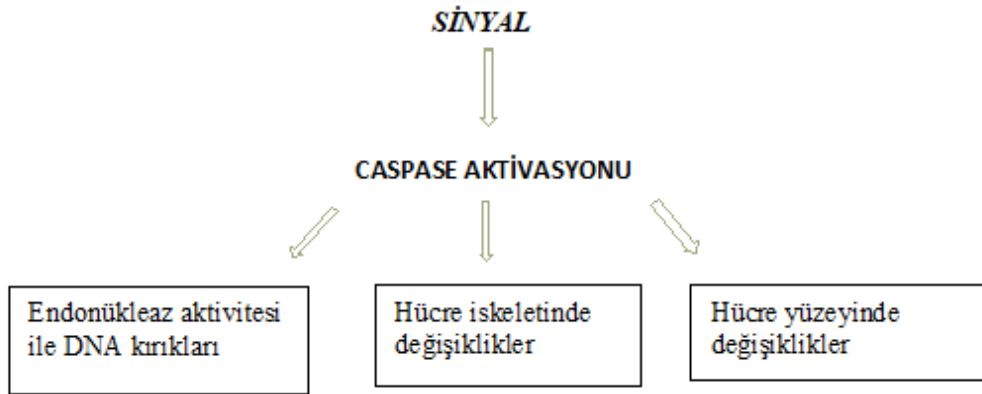
2.3.2.2. Apoptozis

Apoptozis, organizmada artık görevi tamamlanmış hasarlı hücrelerin imha edilmesi, diğer hücrelere zarar vermeden kontrollü bir şekilde yok edilmesi işlemidir. Diğer bir ifadeyle programlanmış hücre ölüm sürecidir (Başardı 2006). Programlanmış hücre ölümü diye adlandırdığımız apoptozis olayı hücreler için normal bir süreçtir. Organizmada homeostazın sağlanması, organların korunması, savunma sistemi, embriyogenez, metamorfoz ve yaşlanmanın kontrolünde varolan apoptozis bütün bu olayları programlı ve sistematik bir şekilde yönetir (Öztürk 2002). Hipoksi, ısı, antikanser ilaçlar, radyasyon, gamma ve ultraviyole ışınları gibi etkenler apoptoza neden olabilirler. Bu etkenler DNA hasarı oluşturarak apoptoz meydana getirirler (Afford and Randhawa 2000).



Şekil 2.4. Nekroz ve Apoptoz oluşumu (Koçtürk 2009).

Apoptozisin gerçekleşme adımları sırasıyla; hücre içinden veya dışından gelen uyaranlar kaspazları harekete geçirir. İnaktif konumdan aktif konuma geçen kaspazlar hasarlı hücredeki proteinleri parçalayarak birtakım değişiklikler meydana getirir. Sonuç olarak ortaya çıkan apoptotik hücreler fagositoz yoluyla ortadan kaldırılırlar (Şekil 2.4) (Koçtürk 2009).

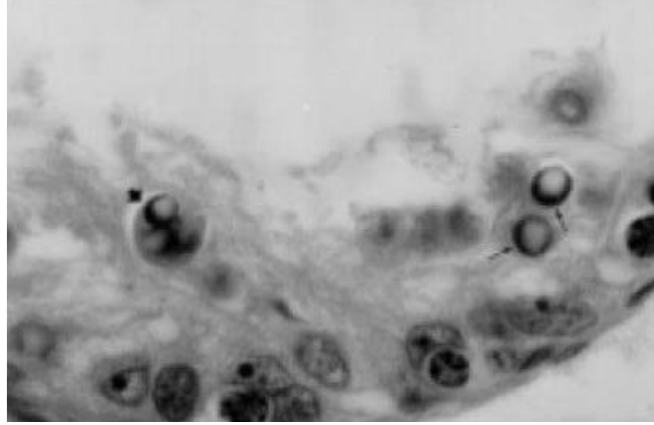


Şekil 2.5. Apoptoz basamakları (Koçtürk 2009).

Çizelge 2.2. Apoptozis oluşumuna neden olan hücre içi ve dışı uyaranlar çizelge de özetlenmiştir (Koçtürk 2009).

Oksidatif stres oluşturan etkenler	ROT, Metaller, Patofizyolojik şartlar
Reseptör aracılı sinyaller	Fas, TNF- α , TGF- β)
Pro-apoptotik genler	p53, Bax, c-myc
Radyasyon	UV, Gamma
Virusler	Influenza virüsleri
Organik solventler, bazı ilaçlar	Kanser ilaçları (Sisplatin)

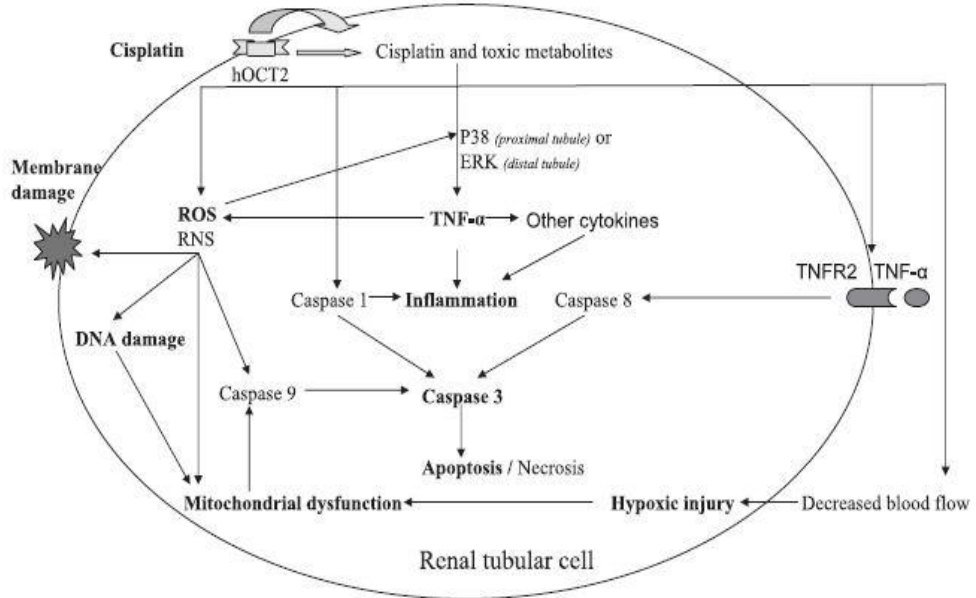
Hücre içi ve dışı uyaranlar proteazları aktif hale getirir. Akabinde proteazlar proteinlerde yapı ve şekil değişiklikleri meydana getirerek hücrenin parçalanmasına ve apoptotik cisimlerin oluşmasına neden olurlar. Fagositoz yoluyla yok edilen apoptotik hücreler hücrenin hacimce küçülmesi, hücre içinin yoğunlaşması ve çekirdeğin parçalanması gibi değişikliklerin yaşanmasına neden olurlar (Göncü 2001; Öztürk 2002). Hücrelerin üstün özelliklerle kuşatılmış yüzeylerinin yapısı bozulur, su kaybeder ve şekil olarak küçülür ve büzülür (Strasser et al., 2000). Apoptoziste en önemli değişikliklerin yaşandığı yer olan çekirdek yarımay, at nalı, orak gibi şekillerde (Şekil 2.6) kendini göstermektedir (Reiter 1998). Bu şekillerden sonra hücre yıkıma uğrar (Kumar et al., 1999). Apoptoza maruz kalma süresi arttıkça sitoplazmada çıkıntılar görülmeye başlar ve bir süre sonra da hücre parçalara bölünür. Bu yeni görünümlü hücrelere “apoptotik cisim” denilmektedir (Öztürk 2002). Makrofajlar ve yok etmekle görevli diğer hücreler apoptotik hücreleri hemen tanırlar ve fagositoz işlemini başlatırlar (Vaux and Strasser 1996). Fagosit edildiklerleri takdirde ikincil nekroz adı altında parçalanırlar ve yok edilirler (Göncü 2001).



Şekil 2.6. Rat testisinde apoptotik hücrelerin yarım ay şeklindeki çekirdekleri, koyu eozifilik sitoplazmalı apoptotik hücreler (Öztürk 2002).

Hücre içinden veya dışından gelen uyarılarla aktif hale geçen proteazlara Caspase (“caspase”= cysteine-containing aspartate specific proteases) denilmiş ve hücrelerde varlığı tespit edilen 10’ dan fazla Caspase olduğu bildirilmiştir. Caspase’ lar hücre içerisinde inaktif zimojenler olarak sentezlenirler ve pro-caspase adını alırlar. Bu inaktif pro-caspase enzimleri apoptoz sinyalinin alınmasıyla birlikte aktifleşirler ve aktifleşen bu Caspase’ lar diğer inaktif caspase’ ları aspartik birimlerinden keserek aktifleştirirler. Caspase’ lar apoptotik yolda “başlatıcılar” ve “bitiriciler” olmak üzere iki önemli görevle kuşatılmışlardır. Başlatıcı Caspase’ lar farklı şekillerde gelen uyarıları bitirici faza taşır ve bu esnada gerekli sayıda bitirici Caspase’ ın aktifleşmesini sağlayarak apoptotik sinyal oluşumunu artırırlar (Mountz 2001). Apoptozda görev alan ve Caspase ailesinin bir üyesi olan Caspase-8, apoptoz başlatıcısı olarak bilinmektedir. Caspase-8 enziminin yapısında bulunan CARD (Caspase Recruitment Domain) bölgeleri adaptör proteinleri ile bir araya gelerek ölüm-reseptör kompleksine bağlanır. Caspase ailesinin önemli üyelerinden biri olan Caspase-3, başlatıcı Caspase olarak anılan caspase-8 ya da Caspase-9 sayesinde aktive olur. Bu aktivasyon işleminin hemen akabinde Caspase-3, Caspase ailesinden olmayan hedef proteinler üzerinde birtakım değişikliklere yol açarak apoptoza neden olur. Başlatıcı ve sonlandırıcı Caspase’ lar birbirinden farklı etkiler meydana getirirler. Sonuç olarak Caspase-3, başlatıcı Caspase’ lar tarafından aktive edilirler ve Caspase-8, gerekli proteine bağlanarak pro-caspase-3 kesilerek aktif Caspase-3

oluşumu sağlayarak apoptozu indükleyebilmektedir (Thornberry and Lazebnik 1998).



Şekil 2.7. Sisplatin’ in indüklediği ana akut tübüler hücre hasar yolları (Yao et al., 2007).

2.4. Karaciğer

Karaciğer, yetişkinlerde karın boşluğunda yer almaktadır. En büyük organ olma özelliğine sahiptir ve ortalama 1,5 kg ağırlığındadır. Vücutta birçok hayati fonksiyonları yerine getirmekle sorumlu olan karaciğerin temel görevlerini sıralayacak olursak; yağda çözünen vitaminlerin depo edilmesi, demirin ferritin şeklinde depolanması, kanın pıhtılaşmasında aktif rol oynaması, ilaçların hormonların ve diğer maddelerin uzaklaştırılması şeklinde sıralayabiliriz (Hall 2013). Karaciğerin sürekli yönettiği metabolizma kontrolleri bulunmaktadır. Bunlar; Karbonhidrat metabolizması; Karaciğerde glikoneojenez, yüksek oranda glikojen depolama, galaktoz ve fruktozu glukozu çevirme, karbonhidrat metabolizmasının ara ürünlerinden birçok önemli kimyasal maddelerin oluşturulması.

Yağ metabolizması; Büyük miktarda kolesterol, lipoprotein ve fosfolipid sentezi, diğer vücut işlevleri için enerji sağlamak üzere yağ asitlerinin oksidasyonu, karbonhidrat ve proteinlerden yağ sentezidir.

Protein metabolizması; Plazma proteinlerinin sentezi, amino asitlerin deaminasyonu, üre oluşumu ile amonyağın vücut sıvılarından uzaklaştırılması, vücuttaki metabolik olaylar için önemli olan maddelerin ve amino asitlerin birbirine dönüşümlerini kapsamaktadır (Hall 2013).

Karaciğerin Yapısı:

Dolaşım sisteminde yer alan kapiler damarlar aracılığıyla vücutta dolaşan kan ihtiyaç duyulan her yere ulaştırılmaktadır. Bu kapiler damar ağı karaciğerin yapısında da vardır ancak bu kapiller çeperden yoksundur. Yani koruyucu tabaka olan bazal tabakaya sahip değildir. Bu özelliğin olmaması karaciğere gelen kanın hemen bir sünger gibi emilmesine sebep olup ve hızlı bir şekilde vücuda pompalanmaktadır. Karaciğerin bünyesinde topladığı kanın ortalama hacmi 450 mililitredir ve gerekli durumlarda hacminde artışa neden olarak daha fazla kanın depolanmasına olanak sağlar. Kalbin kanı pompalamasındaki basınç değişiklikleri karaciğerin hacminin artmasına ve yaklaşık 0,5-1 litre miktarlarında kanı daha depolayabilmesine olanak sağlar (Hall 2013).

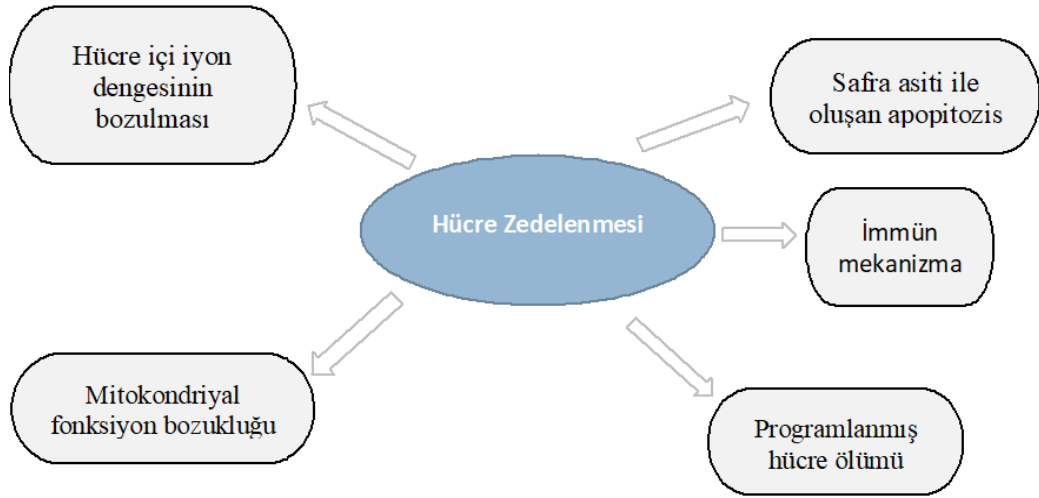
Karaciğer dokusunun en önemli özelliklerinden bir diğeri de kendi kendini yenileyebilme özelliğidir. Bu özelliği akut gelişen karaciğer hasarlarında, hepatektomi gibi doku kayıplarının yaşandığı durumlarda görülmektedir. Eğer ortamda enfeksiyon ya da inflamasyon gibi istenmeyen durumlar yaşanırsa durum yenilenmenin aksine hücre ve/veya doku kayıplarıyla sonuçlanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek oranda karaciğer dokusunun çıkarılması durumunda (kısmi hepatektomi) kalan lobların kendisini yenileyerek veya hacminde artmaya sebep olarak eski formuna geri döndüğü belirlenmiştir. Bu geri dönüşüm olağanüstü hızda gerçekleşmektedir. Sıçan çalışmalarında bu hızın 5 ile 7 gün arasında gerçekleştiği bildirilmektedir. Hepatosit büyüme faktörü, karaciğer hücresinin hacminde artışa ve hücrenin bölünmesine sebep olarak hasarlı karaciğer dokusunun kendisini yenilemesine ve eksik olan hacmini tamamlamasına olanak sağlar. Bunun yanında karaciğer dokusunda oluşan hasarlarda tümör nekrozis faktör ve interlökin-6 gibi sitokinlerde yenilenmeyi ve hacim artışını uyaran diğer etkenlerdir (Hall 2013).

Karaciğerin önemli bir başka işlevi ise Kupffer hücreleri makrofaj özellikleri sayesinde venöz sistem aracılığıyla karaciğere gelen kanda ki bakterileri temizler. Karaciğere gelen bakteriler kupffer hücreleri tarafından bünyesine alınır ve en kısa

sürede sindirilmeye çalışılır. Sindirilme işleminden kaçabilen bakteriler ki oranı yüzde biri geçmemekle beraber sistemik dolaşıma katılabilirler (Hall 2013). Karaciğer epitel hücreleri sayesinde meydana gelen bu olaylar bazı durumlarda yıkım faaliyetleriyle de kendini göstermektedir. Karaciğer dokusunda oluşan hasar sık aralıklarla yenilenen hasara dönüşürse yıkım olayına dönüşür ve bu durum organı siroza götürür. Artan hasarın neden olduğu yıkım olayları vücutta, vasküler sistem ve safra kanalları sisteminde olumsuz etkileyebilmektedir (Junqueira 1992). Karaciğer üstlendiği birçok fizyolojik ve biyokimyasal işlevler dahilinde toksik hasara neden olabilecek birçok ajana maruz kalmaktadır. Bu ajanlardan en dikkat çekici olan antineoplastik özellikteki Sisplatin' dir.

2.4.1. İlaç Ve Toksine Bağlı Karaciğer Hasarları

Karaciğer, sistemler içerisinde en önemli etkinliğe sahip olmasını sağlayan toksik maddelerin mekanizmasını düzenler.



Şekil 2.8. Hücre zedelenme türleri.

Kısaca hücre hasarı mekanizmalarına değinecek olursak;

- Hücre içi iyon dengesinin bozulmasıyla birlikte hücre içindeki kalsiyum oranını etkilemekte ve sonrasında aktin işlevlerinde bozulmalara hücrenin hacminin gereğinden fazla büyümesine ve parçalanmasına ve akabinde hücrede yıkım olaylarının gözlenmesine yol açmaktadır (Eren 2004).

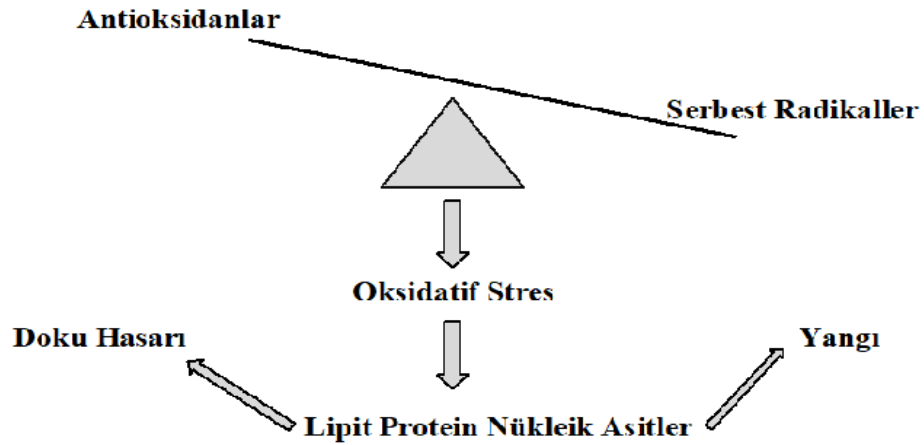
- Safra asiti ile oluşan apoptoziste ise bazı ajanların yardımıyla karaciğerde safra asiti miktarı artar ve durum başlangıçta hafifken ilerledikçe hücre içi miktarı artmakta ve hücre ölümünü aktifleştiren uyarıların plazma membranına geçmesine ve apoptozisin yaşanmasına olanak sağlamaktadır (Eren 2004).
- Programlanmış hücre ölümü olan apoptozis ise hücre hasarı sonrası savunma sistemi sitokinleri etkinleştirir sonrasında bu durumdan etkilenen Caspase' lar hücre ölümünün yaşanmasına sebep olurlar (Eren 2004).
- İmmün mekanizmada adı geçen 'adduct' adlı bazı bileşikler hepatositlere taşıyarak burada ya B lenfositlerinden oluşmuş plazma hücreleri tarafından antikor oluşturacak ya da T lenfositleri aracılığıyla hücresel savunma savaşı başlatarak sitolizise ortam hazırlayacaktır (Eren 2004).
- Mitokondriyal zedelenme; enerji santrali olarak bilinen mitokondri hücrelerin metabolik reaksiyonları için gerekli enerjiyi ATP üretimi ile sağlamaktadır. Hücrelerin devamlılığı için olmazsa olmaz enerji kaynağı olan ATP' dir. Bunun yanında hücre zedelenmesi ve hücre ölümünde de etkin rol almaktadır. Mitokondriyal zedelenmenin içine oksijen olmaması, serbest radikallerin oluşumu, sitozolik kalsiyumun artması ve toksinler girmektedir. Bundan yola çıkarak varacağımız sonuç ya oksidatif fosforilasyonun işlevinin bozularak ATP' nin düşmesi olayı ya da sitokrom c proteinin sitozole sızmasıyla apoptotik sürecin başlamasıyla hücre ölümünün yaşanmasıdır. Söz konusu ilaç hasarı ya da hücre zedelenmesinde ise karaciğer hedef haline gelmektedir. Hücre ölümü; lökosit infiltrasyonu, fibrozis ve siroz gibi sonuçlar doğurmaktadır. Akabinde kupffer hücreleri sitokinleri aktifleştirip zedelenmenin ilerleyip hasarın artmasına olanak sağlar (Eren 2004).

Sonuç olarak karaciğer hasarı ilaç, yabancı madde ya da toksik ajanlara maruz kalma sonucunda oluşmaktadır. Genel anlamda hasar mekanizması içinde; hücre membranının rüptürü, safra kanaliküllerinin hasarı, sitotoksik T hücreler ve sitokinler tarafından ilaç yan etkilerinin hedef alınması, TNF α /Fas apoptotik yolağın aktivasyonu, mitokondriyal fonksiyonun inhibisyonu yer almaktadır.

Karaciğer hasarına neden olan ilaçlar her hastada farklı etkiler ortaya koymaktadır. Birden çok ilaç kullanımında toksik etkiyi oluşturan ilacı belirlemek güçleşir. Birden çok ilaç kullanımı durumunda oluşan hasarın etkisi diğer alınan ilaçlarında etkisiyle uyarılmış olabilir. Hücre zedelenmesine neden olan ajanın tanısını koyarken bu ilacın toksik etkisiyle oluşacak lezyonların iyi bilinmesi gerekmektedir (Damjanov 1996). Hücre zedelenmesiyle oluşabilecek istenmeyen reaksiyonlar ve toksik etki ayrımının iyi yapılması gerekmektedir. İstenilmeyen reaksiyonlar dozla ilişkili midir ya da etki süresi ne kadardır tam olarak bilinmesi oldukça güçtür. Bireyin bu tür reaksiyonlara yanıtı immun sistemi ve ilacı metabolize ettiği hızla doğrudan ilişkilidir. Toksik etki ise gerçekten hepatoksisitenin görüldüğü aşırı doz yüklenmeden kaynaklı kısa sürede etkisini gösteren reaksiyonları kapsar (Damjanov 1996). Toksisiteye neden olan ajanların asıl kaynakları arasında tetrasiklinler, antineoplastik ilaçlar, asetaminofenler bulunmaktadır (Kumar et al., 1999). İlaça bağlı toksisite sonucu karaciğer hücrelerinde yapı ve fonksiyonel olarak birçok hücresel hasarlar ve ölümler gerçekleşebilmektedir (Damjanov 1996).

2.5. Oksidatif Sistem

Hücrelerde bulunan serbest radikaller kararsız bir yapıdadır ve kararlı yapıya geçerken hücrelere zarar verirler. Bu durumda zararlı etkilerini ortadan kaldırmak adına antioksidanlar devreye girer ve zarar en aza indirilmeye çalışılır. Zararı azaltmak için antioksidanlar tarafından yapılan tüm işlevler yetersiz kalırsa serbest radikallerin etkinliği artar ve hücrede hasarlar oluşur. Normal gerçekleşen metabolizma olayları sonucunda da serbest radikaller ortaya çıkmaktadır ve antioksidanlar sürekli bu dengeyi koruyarak hasar oluşmasını ya da hücre ölümünü engellemeye çalışmaktadır. Bu durum oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (Babior 2000; Serafini and Del Rio 2004; Cheeseman and Slater 1993).



Şekil 2.09. Oksidatif Stres (Aksoy 2002; Gülçin 2006).

Sistemler üzerinde hasar oluşumuna yol açan oksidatif strese, süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali gibi serbest radikaller ve radikal olma özelliği taşımayan hidrojen peroksit neden olmaktadır (Yılmaz 2003; Choudhary and Verma 2005). Oluşacak hasar modelleri kısaca DNA üzerinde baz bozulmaları, kontrolsüz zincir kırılmaları ve proteinlerle istenmeyen çapraz bağ etkileşimleridir (Williams and Jeffrey 2000; Cooke et al., 2003).

Günümüzde DNA hasar modellerinin birçoğunun ölçümünde hasar ürünü tespit edilirken, spektrometrik teknikler yardımıyla hasarı tanımlamanın yanında hasarlı ürün miktarı ölçülerek tespiti yapılmaktadır (Dizdaroglu et al., 2002). İnsan yaşamı boyunca karşılaştığı maligniteler, yaşlanma, mutasyonlar DNA hasarlarına hatta hücre ölümlerine sebep olmaktadır. DNA bu durumlar karşısında birçok değişime uğrar ve neticesinde hücre ölüm, yaşlanma veya hücre yapısı bozulmaları şekillenir (Sancar et al., 2004).

SOR' lardan (Serbest Oksijen Radikali) kaynaklı DNA' da oluşmuş oksidatif baz hasarı ürünleri vardır (Dizdaroglu et al., 2002). Hasarın varlığında oluşan modifiye bazlar arasında olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşur ve en çok rastlanılan DNA hasar belirticidir (De Martinis and Bianchi 2002). Sonuç olarak 8-OHdG ölçümü DNA' da oksidatif stresin direkt göstergesi olarak bilinmekte ve oksidatif DNA hasarını

belirlemede en çok başvurulan yöntem olarak kabul edilmektedir (Helbock et al., 1999).

Çizelge 2.3. Oksidatif Stres Belirteçleri (Eken 2010).

	Parametreler
1. Oksidatif Hasar Biyobelirteçlerinin ölçümü	Lipit peroksidasyon ürünlerinin belirlenmesi Malondialdehit (MDA) Aldehit Protein hasarının belirlenmesi Dna hasarının belirlenmesi 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8 OHdG)
2. Antioksidan Savunma Sistemlerinin Ölçümü	Antioksidan Enzimlerin Değerlendirilmesi Süperoksit Dismutaz (SOD) Glutasyon Peroksidaz (GPx) Katalaz (CAT) Glutasyon-S-Transferaz (GST) Glutasyon Redüktaz (GR)

2.6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, yüksek reaktiviteye sahip olup, dış orbitalinde birden fazla eşlenmemiş atom taşıyan reaktif kimyasal türlerdir. Eşlenmemiş atomlar bize serbest radikallerin kararsız yapıda olduğunu gösterir ve bu durumdan diğer atomlarla reaksiyona girerek kurtulur ve kararlı bir yapıya bürünürler. Serbest radikallerin çoğu oksijen kaynaklı olurken bir kısmıda nitrojen kaynaklıdır (Basaga 1990). Oksijen, hücrelerdeki enerji üretiminin sürdürülebilmesi için hücreyi oksidatif fosforilasyon yapmaya zorlar. Kimi durumlarda veya formlarda toksik etkiside görülmektedir. Oksijen moleküllerinin büyük çoğunluğu oksidatif fosforilasyonu mitokondride gerçekleştirir ve böylece enerji üretimini sağlarlar. Oksidatif fosforilasyon sırasında O₂ molekülünün suya indirgenmesiyle SOR oluşmaktadır (Hinder and Stein 1991). Tüm sağlıklı bireylerin normal metabolik işlemleri sonucunda da oluşan SOR' lar vücuttaki savunma sistemini oluşturan antioksidanlar tarafından bertaraf edilirler. Antioksidan sistemdeki yetersizlikler ve oksidatif fosforilasyon sonucunda oluşan

ürünlerde ki artış hücrede hasar ve ölümle sonuçlanan durumları ortaya çıkarmaktadır. Tüm hücre molekülleriyle etkileşime giren SOR özellikle lipidleri etkileyerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar (Cheeseman and Slater 1993; Büyükokuroglu et al., 2001). Eşlenmemiş kararsız yapıdaki atomlar serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırır ve neticede zararlı yapılara dönüşerek DNA, lipid, proteinlere hasar oluştururlar (Halliwell 1994; Nordberg and Arnér 2001; Gulcin et al., 2002). Serbest radikaller tüm hücrelerle etkileşimde bulunurlar. Bu etkileşim sırasında molekülden elektron alarak ya da vererek onun kararlı yapısını bozarlar ve radikal özelliği olmayan yapıları radikale dönüştürmüş olurlar (Diplock 1998; Scandalios 2002). Birçok hastalıkta (kanser, diabet, kardiyovasküler sistem hastalıkları, romatoid artrit, katarak) ve yaşlanmada etkileri görülmektedir (Aslan vd, 1995; Abdel-Wahhab and Aly 2003). Memelilerde bulunan serbest radikallerin O₂ kaynaklı serbest radikaller olduğu bilinmektedir (Wu and Cederbaum 2003). Biyolojik sistemlerde serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROT ya da SOR), reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır (Yu 1994). Serbest radikalleri, merkezinde O₂ olup olmadığına göre iki sınıfa ayırmak doğru olacaktır. SOR, sadece radikal anlamı taşımazken aynı zamanda hidrojen peroksit (H₂O₂), hipokloröz asit (HOCl), ozon (O₃) gibi radikal olmayan oksijen türleri için de kullanılır. Reaktif türler terimi ise reaktif nitrojen, klor, brom, sülfür merkezli türler için de kullanılan geniş bir terimdir (Çizelge 2.4.) (Halliwell and Gutteridge 2007).

Serbest radikaller	Radikal olmayanlar
Reaktif oksijen türleri (ROT) Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) Hidroksil ($\bullet OH$) Hidroperoksil ($HO_2^{\bullet}$) Karbonat ($CO_3^{\bullet-}$) Peroksil ($RO_2^{\bullet}$) Alkoksil ($RO^{\bullet}$) Karbon dioksit ($CO_2^{\bullet-}$) Singlet oksijen ($O_2^1\Sigma g^+$)	Reaktif oksijen türleri (ROT) Hidrojen peroksit (H_2O_2) Hipokloröz asit ($HOCl$) Hipobromöz asit ($HOBr$) Ozon (O_3) Singlet oksijen ($O_2^1\Delta g$) Organik peroksit ($ROOH$) Peroksinitrit ($ONOO^-$) Peroksinitrat (O_2NOO^-) Peroksinitröz asit ($ONOOH$) Nitrozoperoksikarbonat ($ONOOOCO_2^-$) Peroksomonokarbonat ($HOOCO_2^-$)
Reaktif klorin türleri (RCT) Atomik klorin ($Cl^{\bullet}$)	Reaktif klorin türleri (RCT) Hipokloröz asit ($HOOC l$) Nitril klorit (NO_2Cl) Kloraminler Klor gazı (Cl_2) Klorin dioksit (ClO_2)
Reaktif bromin türleri (RBT) Atomik bromin ($Br^{\bullet}$)	Reaktif bromin türleri (RBT) Hipobromöz asit ($HOBr$) Brom gazı (Br_2)
Reaktif nitrojen türleri (RNT) Nitrik oksit ($NO^{\bullet}$) Nitrojen dioksit ($NO_2^{\bullet}$) Nitrat ($NO_3^{\bullet}$)	Reaktif nitrojen türleri (RNT) Nitröz asit (HNO_2) Nitroksil anyonu (NO^-) Nitrozil katyonu (NO^+) Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4) Dinitrojen trioksit (N_2O_3) Peroksinitrit ($ONOO^-$) Peroksinitrat (O_2NOO^-) Peroksinitröz asit ($ONOOH$) Nitronyum katyonu (NO_2^+) Alkil peroksinitrit ($ROONO$) Alkil peroksinitrat (RO_2ONO) Nitril klorid (NO_2Cl) Peroksiasetil nitrat ($CH_3C(O)OONO_2$)

Çizelge 2.4. Serbest radikal ve radikal olmayan reaktif türler (Halliwell and Gutteridge 2007).

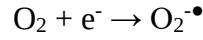
2.6.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT/SOR)

Biyolojik sistemde yer alan serbest radikaller O_2 merkezlidir. Biyokimyasal olayların temeline bakıldığında en etkin maddelerin O_2 ' in kendisinin yanı sıra $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , geçiş metallerinin iyonları ve $\bullet OH$ radikallerinden oluşmaktadır (Yu 1994).

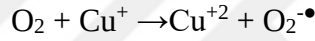
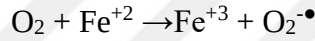
Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$)

Tüm aerobik hücrelerde bulunan O_2 molekülünün bir adet elektron alarak indirgenmesiyle

$O_2^{\bullet-}$ radikali oluşmaktadır (Yu 1994).



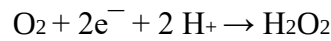
İndirgen geçiş metallerinin otooksidasyonu sonucu da $O_2^{\bullet-}$ radikali oluşur:



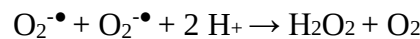
Bu radikalın özelliğinde direkt zararlı etki oluşturmak yoktur. Bu radikale dikkat çektiren nokta H_2O_2 ' in önemli bir kaynağı ve bunun yanında geçiş metalleri iyonlarının en önemli indirgeyicisi olmasıdır (Kruszewski 2003).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Antibakteriyel özelliğinin yanında H_2O ile kolayca etkileşime girebilen aerobik hücrelerin çoğunda bulunur. O_2 molekülünün diğer moleküllerden iki elektron alması ile H_2O_2 radikali oluşmaktadır.



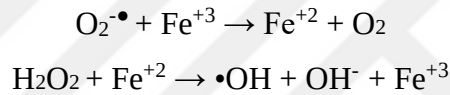
Biyolojik sistemlerde H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ in dismutasyonu ile meydana gelmektedir. Ayrı ayrı iki $O_2^{\bullet-}$ molekülü proton alarak H_2O_2 ' i ve O_2 oluştururlar.



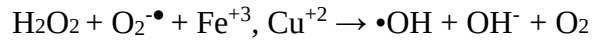
Reaksiyon işlemi sonucunda radikal olmayan ürünlerin varlığı bu reaksiyonun dismutasyon reaksiyonu olduğunun göstergesidir. Bu dismutasyon kendiliğinden gelişebileceği gibi süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından da katalizlenebilir. SOD' un kimyasal reaksiyonun sonucunda açığa çıkan H₂O₂, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleriyle reaksiyona girerek H₂O ve O₂'e dönüştürülür. Membranlardan kolayca geçebilme özelliğine sahip olan H₂O₂ uzun ömürlü oksidan özelliği göstermektedir (Kruszewski 2003).

Hidroksil Radikali (•OH)

Güçlü bir oksidan olma özelliği gösteren •OH özellikle proteinler ve nükleik asitleri okside ederler (Akkuş 1996). Gerçekleştirdiği en önemli iki reaksiyon modelleri Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonudur. Fenton reaksiyonu; •OH oksidanı H₂O₂' in geçiş metallerinin bulunduğu ortamda indirgenmesiyle,



Haber Weiss reaksiyonu; O₂^{•-} ve H₂O₂' nin ortamda bulunan Fe⁺³ veya Cu⁺² molekülleriyle reaksiyona girmesiyle oluşan reaksiyon gerçekleşir,



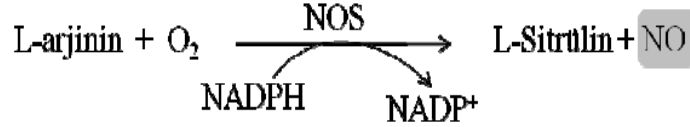
•OH radikali proton koparma özelliği sayesinde yeni radikallerin meydana gelmesine olanak sağlarlar (Akkuş 1996; Belfield et al., 2006).

Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet Oksijen (¹O₂) eşleşmemiş elektron içermediği için radikal olmayan SOR olma özelliğiyle mutajenik ve yüksek enerjilidir. Bu özellik O₂' in eşleşmemiş elektronlardan kaynaklı yüksek enerjinin gösterdiği üstün performansla alakalıdır. Aldığı enerjiyi etrafına değişik formlarda dağıtarak oksijene geri dönebilir. ¹O₂ invivo ortamda Prostoglandin endoperoksit sentaz, bazı sitokrom p450 tepkimelerinde, miyelo/kloro/laktoperoksidaz reaksiyonlarıyla da oluşabilmektedir (Southorn and Powis 1988; Belfield et al. 2006).

2.6.2. Reaktif Nitrojen Türleri (RNT)

Nitrik Oksit (NO), hem fizyolojik hemde patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip nitrojen merkezli serbest bir radikal ve diatomik bir gazdır. Endojen olarak L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentetaz (NOS) kataliziyle sentezlenir (Kılınç 2002).



Sinir iletimi, kan basıncını düzenlenmesi, düz kas gevşemesi, immun sistemin düzenlenmesi ve çeşitli savunma mekanizmaları gibi çeşitli fizyolojik olaylarda önemli oksidatif biyolojik sinyal molekülü şeklinde davranmaktadır. NO, sulu ortamda birkaç saniye kadar kısa yarılanma ömrüne sahip olup düşük oksijen konsantrasyonun da daha kararlıdır. NO, endotel kaynaklı en önemli vazodilatördür ve vasküler düz kas proliferasyonu ile trombosit agregasyonuna olumlu etkileri olup antiaterosklerotik özellik taşımaktadır. Ayrıca NO, radikal olma nedeniyle vücutta birçok molekülle reaksiyona girebilir, gaz olması sebebiyle ise hücre ve dokular arasında kolaylıkla difüze olabilmektedir (Kılınç 2002).

Nitrik oksit sentaz birçok dokuda bulunmakla birlikte sinir sistemi ve kardiyovasküler sistemde önemli bir role sahiptir. NOS enziminin nöronal (nNOS, NOS-1), indüklenbilir (iNOS, NOS-2) ve endotelial (eNOS, NOS-3) olmak üzere üç izoformu tanımlanmıştır. eNOS ve nNOS enzimleri tarafından üretilen çok düşük konsantrasyonlarda ki NO sinir sistemi ve düz kaslarda hücre içi ve hücreler arası haberci molekül olarak kullanılır. Ca^{+2} ve kalmodulin bağımlı esas izoformlardır (Kılınç 2002; Strijdom et al., 2009).

Sitoplazmik guanilat siklazı aktive ederek hücrelerde cGMP derişimini artırır. cGMP ise çeşitli enzimler aracılığıyla hücre içi kalsiyum derişiminin düzenlenmesini sağlar. iNOS formu ise aktive makrofajlar olmak üzere çeşitli hücrelerde bulunur ve sentezi sitokinler ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$) ile bakteriyel toksinler tarafından indüklenir. iNOS enziminin aktivitesi Ca^{+2} dan bağımsız olup kontrol edilemediğinden, ortamda arjinin bulunduğu sürece aktif olup, uzun süreli ve yüksek derişimde NO sentezini katalizler (Kılınç 2002; Strijdom et al., 2009). NO, radikaller ve geçiş metalleriyle

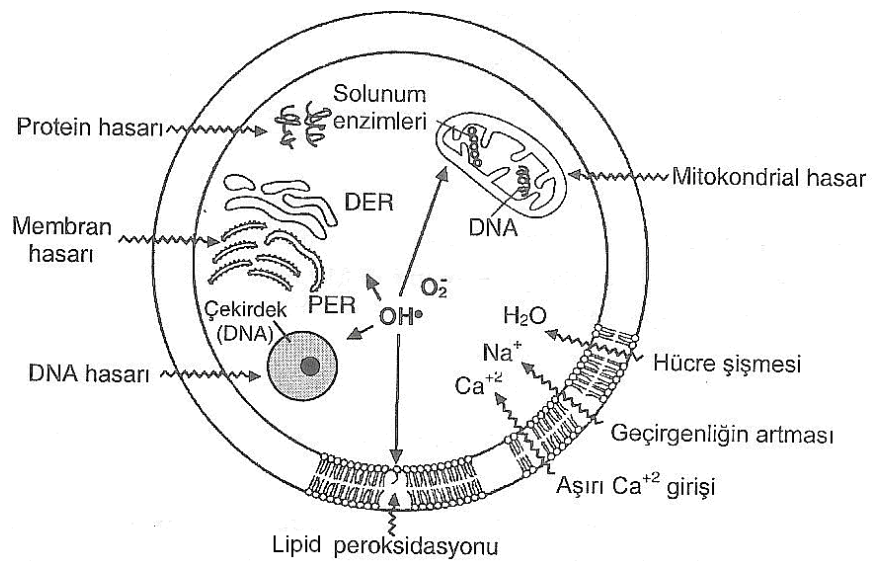
hızla reaksiyona girebilmektedir. SOD ile yarışmaya girmesi ve $O_2^{\cdot-}$ ile etkileşmesi sonucu oluşan peroksinitrit ($ONOO^-$), $\bullet OH$ benzeri aktiviteye sahiptir ve zincir radikal tepkimelerini başlatır, ayrıca biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Peroksinitrit, güçlü bir oksidandır. Bu reaktif ajan, NO toksisitesinin başlıca sorumlusu olup proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır. Azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$), $\bullet OH$, nitronyum iyonu (NO_2^+), peroksinitroz asit ($ONOOH$) gibi toksik ürünlere dönüşür. Peroksinitrit, NO radikalının stabil son ürünleri olan nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-)'a metabolize edilir. Vücut sıvılarında nitritin çoğu nitrata dönüşmüştür (Roberts et al., 2009).

2.6.3. Diğer Reaktif Oksijen Türleri

ROT' un diğer bir grubu, lipid hidroperoksit ($LOOH$) ve bunların hemolitik yıkım ürünleri olan alkoksi ($LO\bullet$) ve peroksik radikali ($LOO\bullet$) veya indirekt olarak hidro ve semikionlar veya nitroaromatlardır. Ayrıca karbon merkezli organik radikaller ($R\bullet$), tiyil radikalleri ($RS\bullet$) gibi önemli radikaller vardır (Wickens 2001).

2.6.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar

Serbest radikaller hücrelerde birçok hasarların ana kaynağını oluşturmaktadır. Bunların başında DNA hasarları, lipid peroksidasyonu, protein, karbonhidrat ve enzimlerin yapısında ve aktivitesinde bir takım olumsuz etkiler gözlenmektedir.



Şekil 2.10. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı (Yıldırım Sözmen 2002).

Serbest radikallerin hücrede artması ya da antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması hücrenin lipitleri, proteinleri, karbonhidratları ve DNA' sı üzerinde önemli derecede olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bu olumsuz etkiler stresin şiddetine, cinsine bağlı olarak toksik, mutajenik veya karsinojenik olarak adlandırılır (Kavas 1989).

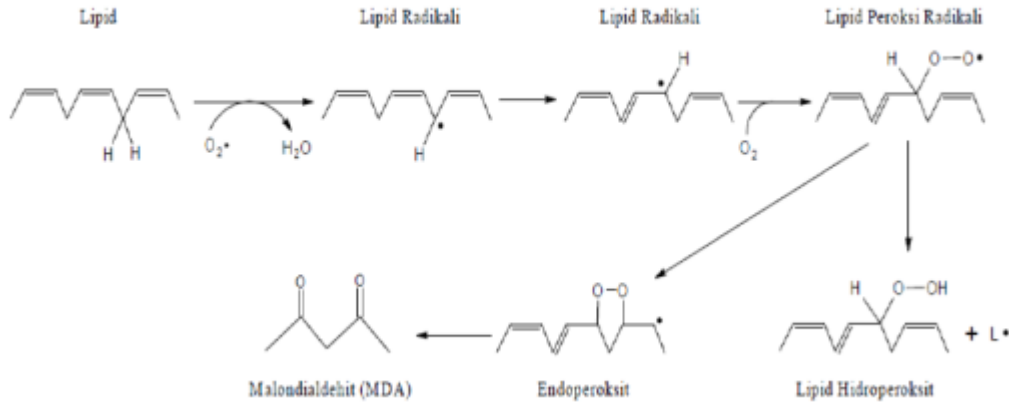
Lipitler Üzerine Etkileri

Hücrede SOR' ların toksik etkileriyle olumsuz etkilenen yerlerden birisi de lipitlerdir. Hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri SOR' larla reaksiyona girer ve lipit peroksidasyonuna sebep olur. Lipit peroksidasyonunun oluşum mekanizması membranda varolan doymamış yağ asitleri ile $O_2^{\cdot -}$ radikalinin reaksiyona girerek LOOH' u oluşturur. Yağ asitlerinin doymamışlık oranı ne kadar artarsa lipit peroksidasyonunda o kadar kuvvetli olur. Oluşan LOOH' larla meydana gelen lipit peroksidasyon sonucu membran yapısı zarar görür ve doymamış yağ asitleri işlev göremez hale gelir. Membran akışkanlığında azalma ve hatta bozulmalar görülür (Erenel vd 1992; Moslen 1994; Marnett 2000).

Hücre membranında gerçekleşen lipit peroksidasyonu sonucunda membran transport sistemleri, hücre içi ve hücre dışı iyon dengeleri bozulur, hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak proteazlar aktive olur ve hücre içi organellerde oluşan lipid peroksidasyonu ve litik enzimlerin salgılanmasına bağlı olarak hücre hasarı gelişir (Erenel vd 1992; Marnett 2000).

Malondialdehid (MDA)

Lipitlerde meydana gelen hasar sonucu görülen lipit peroksidasyonunun en önemli belirteci malondialdehit (MDA)' tir. MDA hücrede bazı özelliklerin değişmesine veya işlevini kaybetmesine, iyon transport bozukluklarına, hücre bileşenlerinin agregasyonuna, nükleik asitlerle etkileşime girerek gen ve DNA diziliminde mutasyonlara neden olabilmektedir. Yağ asitlerinin oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörüdür. Lipid peroksidasyonu, LOOH' lerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Hücrede MDA' nın tespiti için sıklıkla tiyobarbiturikasit (TBA) testi kullanılmaktadır (Erenel vd 1992; Marnett 2000).



Şekil 2.11. MDA oluşumu (Akkuş 1996).

Proteinler Üzerine Etkileri

Oksidatif strese neden olan SOR ve yetersiz antioksidan savunma sisteminden etkilenen diğer bir mekanizma ise proteinlerdir. Oksidatif stres, proteinlerin kovalent modifikasyonuna sebep olurken, sinyal iletim mekanizmasında, enzimlerde ve transport işlemlerinde birtakım hücresel fonksiyonların bozulması gözlemlenir (Moslen 1994; Marnett 2000).

Karbonhidratlara Etkisi

•OH radikalının karbonhidratlarla girdiği reaksiyonda karbon atomlarının birinden hidrojen atomunu kopararak ortaya çıkan karbon merkezli radikaller zincir kopmaları gibi hasarların oluşmasına neden olurlar (Devasagayam et al., 2003).

DNA Üzerine Etkileri

SOR' ların mutajenik etkileri nedeniyle DNA da ciddi hasarlar şekillenmektedir (Ames et al., 1993). DNA üzerinde görülen yarılmalar, DNA-protein çapraz bağları gibi olumsuz durumların yaşanmasında •OH radikallerinin neden olduğu düşünülmektedir. Bu hasarların düzelmesine yardım eden tamir enzimleri veya DNA polimerazları SOR' dan doğrudan etkilenmektedir. Sonucunda ise inflamasyon, kardiyovasküler hastalıklar veya karsinogenez gibi durumlar ortaya çıkmaktadır (Yılmaz and Yılmaz 2006).

2.6.5. Serbest Radikallerin Karaciğer Üzerine Etkileri

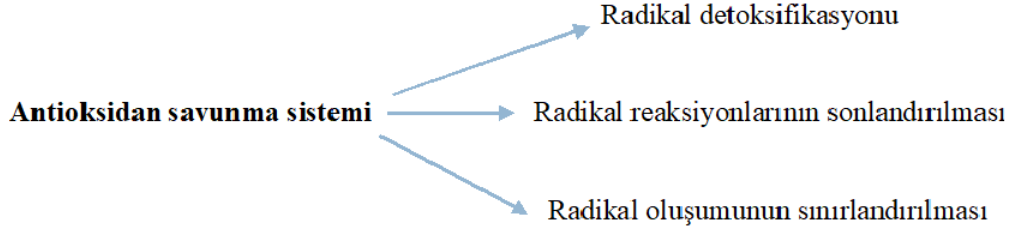
Sisplatin' in neden olduğu karaciğer hasarının büyük çoğunluğundan oksidatif stres sorumludur (Tarladaçalışır vd 2005). Sisplatin' in uzun süre kullanımı ya da aşırı doz

uygulanması ile hücrede bir süre sonra SOR' lar artışa geçmektedir. Hücrede doğal koşullarda var olan endojen antioksidanlar SOR' ların bu artışına karşılık hücrede oluşabilecek hasarı azaltmak adına toksik etkileri durdurmaya çalışırlar. H_2O_2 , $\bullet OH$ ve $O_2^{\bullet}$ ise oksidatif stres varlığında ortaya çıkan radikallerdir. Yine oksidatif stres varlığında radikal oluşturma mekanizmalarından bahsedecek olursak, nitrik oksit ile $O_2^{\bullet}$ reaksiyona girerek toksik hasarı oluşturmuş olur. SOD, CAT ve GPx gibi endojen antioksidanlar ise oksidatif stresle oluşan hasarları düzeltmeye çalışan mekanizmalardır (Koc et al., 2005). Daha önce de bahsettiğimiz gibi mitokondriyal proteinler için kod aktarımı sağlayan mitokondriyal DNA' nın özellikle de Sisplatin' in toksik etkisiyle zarar görmesi sonucu oluşan oksidatif baz hasarı neticesinde protein sentezi yapılamaz. Bu durumdan sonra yaşanacak işlev kayıpları, enzim aktivitesinde bozulmalar meydana getirirken oksidatif fosforilasyonun yaşanmasını engeller. Akabinde ATP üretilemez hale gelir ve Sisplatin toksisitesiyle ortamda SOR' lar artmaya başlar. $O_2^{\bullet}$, $\bullet OH$ radikali oluşabilecek radikaller arasındadır. Ayrıca normalde de var olan antioksidanları ortamda inhibe eder. Bundan yola çıkarak Sisplatin hepatoksisitesinin azaltılması ya da önlenmesine yönelik birden fazla araştırmada birçok antioksidan kullanılmıştır (Tarladaçalışır vd 2005). Yapılan araştırmalar neticesinde antioksidanların SOR' ları süpürerek hasarı azaltmaya gittiği ve kanser tedavisi için kullanılan kemoterapik ilaçların yan etkilerini azalttığı ve bu sayede antineoplastik ilaç kullanımının etkinliğini arttırdıkları gözlenmiştir (Ali and Al Moundhri 2006).

2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücrelerde gerçekleşmeye çalışan serbest radikal oluşumunu inhibe eden, oksidatif stres oluşum mekanizmasında gecikmeye neden olan mekanizmaya antioksidan savunma sistemleri denilmektedir. Bu mekanizmayı oluşturan maddeler ise antioksidanlar olarak tanımlanırlar. Bu tanımlamadan çıkarılacak sonuç ise antioksidanlar SOR' ların etkisini azaltmaya, reaksiyonların inhibisyonuna olanak sağlayarak SOR' ların zararlı etkilerini ortadan kaldırmaya çalışmaktadır (Erenel et al., 1992; Ozkan and Fiskin 2004; Gulcin 2006; Elmastaş et al., 2006). Hücrede meydana gelen oksidatif hasarları önlemeye çalışan, hasar seviyesini düşüren ya da oluşan hasarı düzeltmeye çalışan koruyucu mekanizmalar mevcuttur (Gülçin 2010;

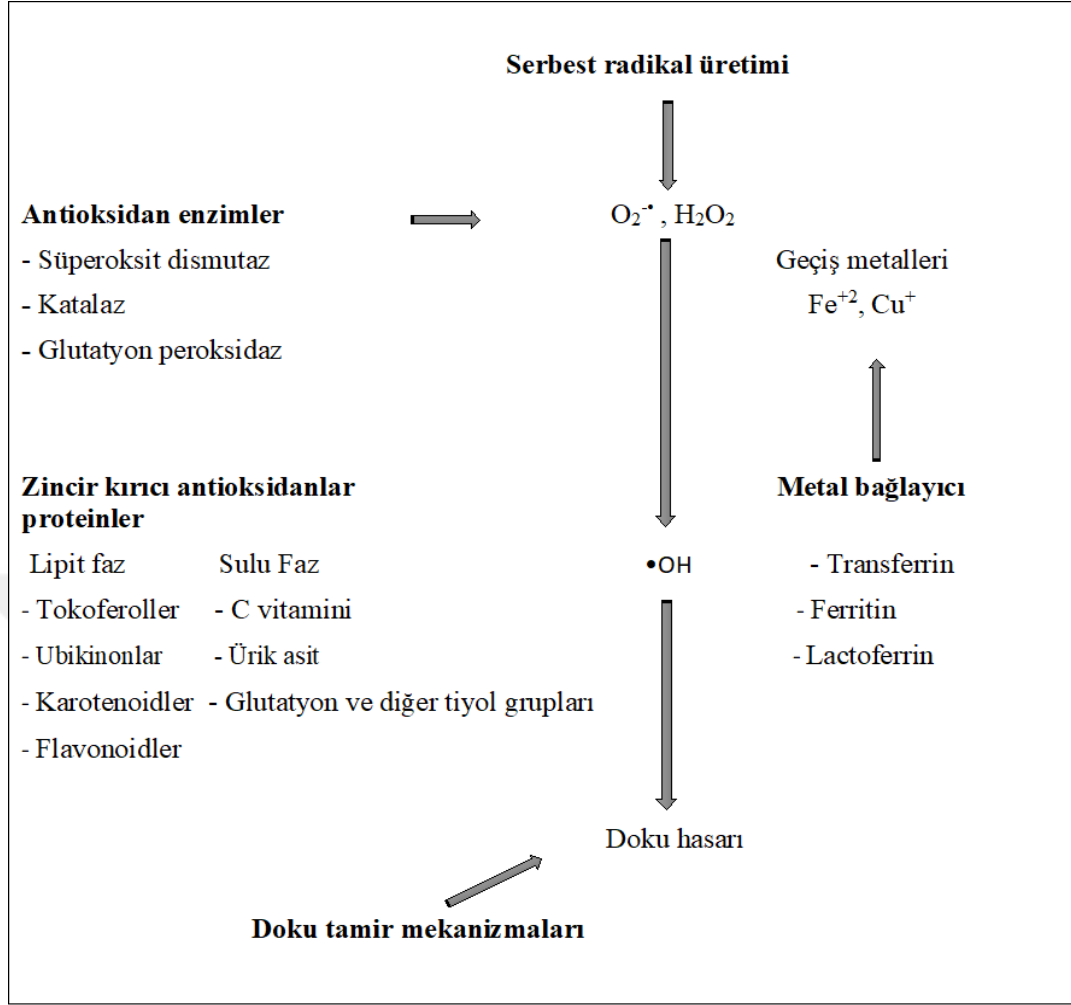
Gülçin et al., 2010). Oksidatif stresin yaşandığı hücrede koruyucu mekanizmalar 3 farklı yolla korumayı gerçekleştirir (Seven 1996):



Şekil 2.12. Antioksidan savunma sistemleri

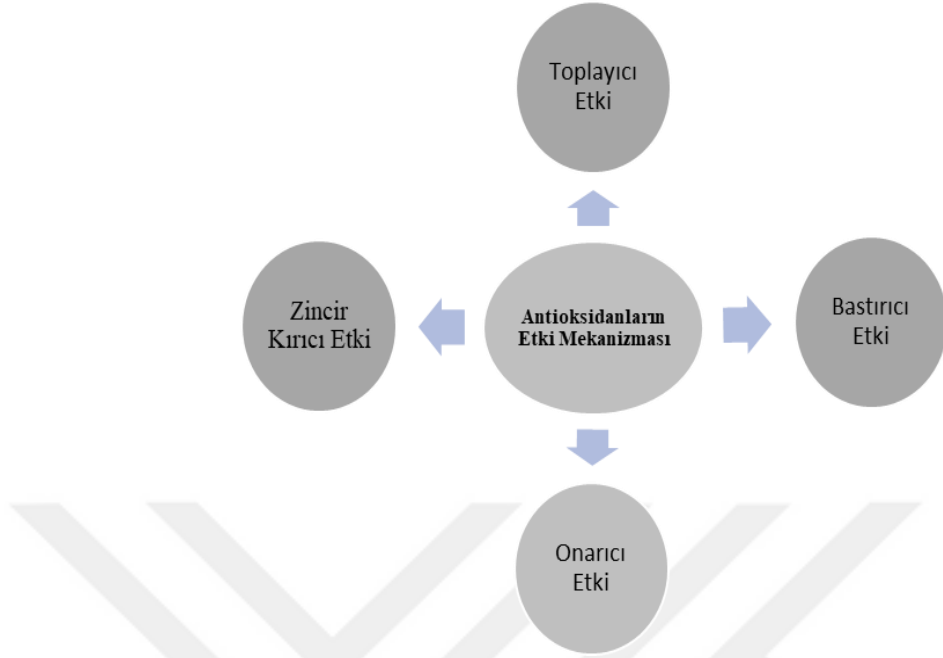
Antioksidan savunma sistemi bütün oksidasyon süreçlerinde kendi lehinde sonuçlanacak işlevler yaptığı sürece patolojik hiçbir sıkıntı yaşanmaz (Gülçin 2007; Göçer and Gülçin 2011). Fakat bazen antioksidan aleyhinde olabilir ki bu durum oksidasyon ya da oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır. Bu durumda lipitler, karbonhidratlar ve proteinler üzerinde hasar oluşturarak membran hasarına, DNA hasarı veya karsinogenez gibi istenmeyen durumların yaşanmasına neden olmaktadır. Organizmanın yaşamını devam ettirmesi bakımından antioksidanlar ile serbest radikaller arasında ki dengenin korunması önem arz eden bir durumdur (Gulcin 2006).

Antioksidan savunma mekanizması kendi içinde enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemi olarak ikiye ayrılır. Enzimatik savunma sisteminin içine; SOD, CAT, GST, GPx, GR antioksidanlar girerken, nonenzimatik savunma sisteminin içine; vitamin A, vitamin E, askorbat, GSH gibi antioksidanlar girmektedir. Antioksidan savunma sisteminin serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik reaksiyonları yönettikleri yapılan birçok çalışma tarafından ortaya konulmuştur (Marnett 2000; Gülçin et al., 2011).



Çizelge 2.5. Serbest radikallere karşı antioksidan savunma sistemi (Young and Woodside 2001).

2.7.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları



Şekil 2.13. Antioksidan etki mekanizması

Antioksidanların etki mekanizması temel olarak 4 farklı şekilde belirtilmektedir (Cross et al., 1987).

Toplayıcı Etki: Antioksidanlar SOR' ları yakalar veya daha güçsüz ve etki gücü zayıf olan yeni moleküle dönüştürme etkisi gösterirler.

Onarıcı Etkisi: Oksidatif stresi oluşturan SOR' lara karşı SOD enziminin onarıcı rol üstlenmesi durumudur.

Bastırıcı Etki: SOR' ların zararlı etkilerini azaltmak için onlara bir Hidrojen atomu aktarılmasıyla ya da inaktif forma çevirmekle oluşturulan antioksidan etkidir.

Zincir Kırıcı Etki: Antioksidanların SOR' lara bağlanarak onların aktivitesini bozacak bazları ya da zincirlerinin kırılmasıyla oluşan etkidir.

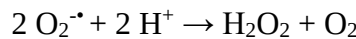
I. Endojen Antioksidanlar - Enzim olanlar - Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi - Süperoksid dismutaz - Katalaz - Glutasyon peroksidaz, Glutasyon S- transferaz - Hidroperoksidaz - Enzim olmayanlar - Lipid fazda bulunanlar - A-tokoferol (E vitamini) - B- karoten - Sıvı fazda bulunanlar: askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, transferin, laktoferin, hemoglobin, ferritin, albümin, glutasyon
II. Eksojen Antioksidanlar (ilaçlar) - Ksantinoksidaz İnhibitörleri: folik asit, oksipurinol - NADPH Oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestetikler - Rekombinant Süperoksid Dismutaz - Endojen antioksidan aktiviteyi arttıran maddeler: Asetilsistein - Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol, albümin - Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferroksamin, seruloplazmin - Sitokinler: Tümör nekroz factor (TNF), IL-1 - Demir şelatörleri
III. Gıda antioksidanları - Butylated Hydroxytoluen (BHT) - Butylated Hydroxyanisone (BHA) - Sodyum Benzoat - Fe-Süperoksid Dismutaz

Çizelge 2.6. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması (Akkuş 1996).

Enzimatik Antioksidanlar

1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve O_2 molekülüne dönüşümü sağlayarak koruyucu etkisiyle oksidatif hasarın kontrolünde önemli görevler üstlenmektedir (Erenel et al., 1992; Ozkan and Fiskin 2004).

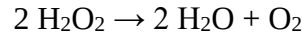


İnsanda SOD enziminin 2 izomeri vardır. İlki olan sitozolde bulunan SOD ile bakır (Cu) ve çinkonun (Zn) birlikte bulunduğu dimerik yapı olan CuZn-SOD, ikinci

izomer ise mitokondride SOD ile manganez (Mn) arasındaki tetramerik bağdan oluşan Mn-SOD' dur. SOD' un önemli fonksiyonlarından birisi de $O_2^{\cdot\cdot}$ in sebep olabileceği lipid peroksidasyonun oluşmasını önlemektir. Ayrıca yüksek O_2 kullanımının olduğu dokularda yine SOD düzeyinde artış gözlenmiştir. SOD' un aktivitesi normalde izomer oluşumlarına göre çok düşüktür. Cu-Zn SOD izomeri şeklindeki aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlı bireylerin eritrositlerinde düşük bulunmuştur. Serbest radikallere karşı ilk savunma sistemi SOD ile oluşturulur. Oksidatif stresin artması SOD' un hasarı önlemeye yönelik aktivitesi artarak devam eder. Diğer enzimatik antioksidanların aktivitesinin azalması durumunda yine SOD devreye girerek aktivitesini arttırır. SOD ile diğer enzimatik antioksidanlar olan CAT ve GPx' te savunma sisteminde önemli görevler üstlenirler. Ortamda SOD' un aktivitesi arttıkça açığa çıkan H_2O_2 ' i ve H_2O ' yu ortamdan temizleyen CAT ve GPx' te savunmanın devamında etkili ikincil güçlerdir (Erenel vd 1992; Ozkan and Fiskin 2004).

2.Katalaz (CAT)

Katalaz enzimi yapısında 4 tane hem grubu bulunan aynı zamanda hemoprotein yapısında olan ve H_2O_2 ' i oksijene ve suya ayırıştıran antioksidandır.



Bünyesinde bulunan H_2O_2 ' yi hidroksil serbest radikalini ($\bullet OH$) oluşturup oksidatif stres ortamını kurmasını engellemek adına ortadan temizler (Gulcin 2006; Gulcin 2007).

3.Glutatyon ve Glutatyon Enzimleri

Glutatyon enzimleri 3 grupta incelenmektedir (Akkuş 1996).

a.Glutatyon Peroksidaz (GPx)

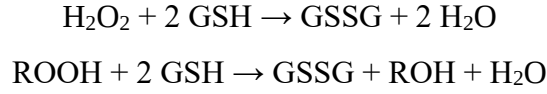
b.Fosfolipid Hidroperoksit Glutatyon Peroksidaz (PGPx)

c.Glutatyon S-Transferaz (GST)

Bir antioksidan enzim olan GPx selenyum atomu içermektedir (Urso and Clarkson 2003).

Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Tetramerik yapıda ve 4 selenyum atomu içeren GPx membran lipidlerini oksidatif strese/hasara karşı korumakla görevlidir.



GPx hücre membranını peroksidasyona karşı koruduğu gibi fagositik hücrelerin korunmasında da önemli bir göreve sahiptir. Eritrositlerde de oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır (Erenel vd 1992; Ames et al., 1993). Eritrositlerin oksidatif hasarlardan etkilenmesini engellemek ve membran bütünlüğünü korumak adına GPx enzimatik antioksidanı iki yola başvurabilir. Selenyumla birlikte hareket eden GPx, eritrositleri oksidatif hasara karşı korur. Ya da selenyumdan bağımsız hareket eden GPx özellikle karaciğer mitokondrisinde oksidatif hasarın oluşmasını önler. Aynı zamanda E vitamininin eksikliğinde yaşanacak olan membran peroksidasyonuna karşı koruma oluşturur (Erenel vd 1992; Ames et al., 1993).

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.Glutatyon (GSH)

Glutatyon (GSH) karaciğerde sentezlenen tripeptit yapıda bir antioksidandır. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasar oluşumunu engellemeye çalışır. Hemoglobinin zararlı bir formu olan methemoglobine dönüşümünü engeller ve böylece oksidatif hasarın önüne geçmiş olur. Ayrıca lökositleri de SR' lerin artmasıyla oluşabilecek zarara karşıda korumaktadır (Arteel and Sies 2001; Yilmaz et al., 2014).

2.8. Sitokinler

Hücrede hasar oluşunca bölgeye inflamatuvar mediatörleri olan IL-1, IL-6, TNF- α gibi sitokinler gelmeye başlar. Sitokinler hücrede hem koruyucu hem de yıkıcı etki gösterirler. Hücrede ki yıkıcı etki ile hasarın şiddetine göre nekroz ya da apoptoz yaşanmaktadır. Hasarın şiddeti çok ise direkt nekroz olayı gerçekleşirken hasar şiddeti daha az ise apoptoz yaşanmaktadır (Kültürsay 2003). İnflamasyondan kastettiğimiz; infeksiyon, hipoksi-iskemi ya da zedelenme gibi çeşitli durumlara karşı oluşturulan koruyucu yanıttır. Bu yanıt makrofajlar tarafından oluşturulan inflamatuvar sitokinler tarafından oluşturulur. Sitokinlerin hedefleri astrosit, nöron, mikrogliya, oligodendrosit ve santral sinir sistemindeki endotel hücreleridir. Pro-

inflatuvar sitokinler olan interlökin-1 (IL-1), interlökin-2 (IL-2), interlökin-5 (IL-5), interlökin-6 (IL-6), interlökin-18 (IL-18), interferon- γ (IFN- γ), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) etkili savunmayı başlatmaktan sorumludur. Anti-inflatuvar sitokinler olan interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-10 (IL-10) ise abartılı inflamatuvar sürecin dengelemesinde ve vital organların fonksiyonunu sürdürmesinde rol alır. Platelet aktive eden faktör, araşidonik asit ve metabolitleri (prostaglandinler, lökotrienler, tromboksan) gibi mediyatörler de inflamatuvar yanıtta yer almaktadır. Sepsis, nekrotizan enterokolit, bronkopulmoner displazi, periventriküler lökomalazi perinatal dönemde inflamasyonla karakterize hastalıklardır (Kültürsay 2003; Cornette 2004).

Pro-inflatuvar sitokinlere, immun sistem hormonları da denilmektedir. Etkileri bakımından lokal ve sistemik olarak ele alınır. Lokal etkileri: endotel hücresi aktivasyonu ile adezyon molekülü ekspresyonu, lökosit endotel yapışması ve etkileşimi, lökositlerin endoteli geçip inflamasyon bölgesine kemotaksisi, lökosit aktivasyonu (hücrede solunumsal patlama, serbest oksijen radikalleri salınımı, degranülasyon, fagositoz ve sitotoksikite aktivasyonu), prokoagülan aktivite, sitokin sentezini yeniden aktive etme ve endojen mediatör salınımı lokal etkilerinden birkaçıdır. Sistemik etkiler: ateş, akut faz reaksiyonu, spesifik olmayan konakçı reaksiyonu ile ilişkili koloni stimüle edici faktör artışı, doğal öldürücü (NK) hücre aktivasyonu, B hücre aktivasyonu ve sitotoksik T hücre artışı yer almaktadır. Pro-inflatuvar sitokinler içinde TNF- α ve IL-1 sitokin kaskadındaki çok önemli rolleri nedeniyle pro-inflatuvar orkestra şefleri olarak tanımlanabilirler. TNF (TNF- α , TNF- β) ve IL-1 (IL-1 α , IL-1 β , IL-1 ra (reseptör antagonist)) bu ailenin önemli üyeleridir. Diğer pro-inflatuvar mediatörler endotelden TNF- α ve IL-1 etkisi ile salınırlar ve vazodilatatör (NO, PAF, trombosit aktive edici faktör, PGE-2, PGI-2) veya vazokonstriktör (endotelin) etki oluştururlar. TNF- α , proinflatuvar sitokinlerin yanı sıra anti-enflatuvar sitokinleri (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β), ayrıca doğal sitokin inhibitörleri olan IL-1ra ve solubl TNF reseptörlerinin üretimini de tetikler. Böylece aşırı sitokin yanıtı dengelenir (Kültürsay 2003). Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenlerler. (Noronha et al., 1995).

Sitokinlerin genel özellikleri

Sitokinler çok geniş bir protein grubudur ve bu moleküllerin birçok ortak özellikleri vardır (Güner et al., 1997).

*Sitokinler immüitenin doğal fazında etki gösterirler. Bağışıklık düzenlenmesinde ve enflamatuar yanıtın oluşturulmasında etkilidirler. Doğal immün sistemde oluşan fagosit hücreler sitokinleri uyararak salgılanmasını sağlarlar. T hücreleri tarafından antijenlere cevap olarak sitokinler oluşturulmaktadır.

*Sitokinler hızlı bir şekilde salgılanırlar ve kısa sürede de salınımı durdurulur. Sitokinlerin depolanma özellikleri olmadığı gibi sentezlenmeleri de farklı genlerin transkripsiyonları ile gerçekleşmektedir. Her genin transkripsiyonunun ardından hızlı bir şekilde sitokinler salınırlar.

*Sitokinler birçok hücre tarafından üretilmektedir.

*Sitokinler pleiotropizm etki şekliyle birden çok hücreyi etkilemektedirler.

*Sitokinler hedef olunan hücrede farklı etkisiyle anında ya da başka bir zamanda değişikliklere neden olabilir.

*Sitokinler özel sinyallere cevap olarak oluşurlar.

*Sitokinlerin sentezlenmesi başka sitokinleri etkileyebilir.

*Sitokinler hormonlar gibi hedef hücrenin membran reseptörlerine bağlanarak etkinlik oluştururlar.

*Sitokinlere cevap olarak yeni mRNA oluşur veya yeni protein sentezi gerçekleşir.

*Sitokinlerin etki gücü oldukça fazladır.

*Sitokinler hücre bölünmesini kontrol ederler ve büyüme faktörü gibi davranırlar.

Sitokinlerin sınıflandırılması

Sitokinlerin sınıflandırılması 4 grupta incelenir. Bunlar (Güner vd 1997);

- 1.Doğal bağışıklıkta etkili olan sitokinler: Tip 1 interferonlar, TNF, IL-1, IL-6 ve kemokinler
- 2.Lenfosit aktivasyonu, gelişmesi ve farklılaşmasında etkili olan sitokinler: IL-2, IL-4 ve transforme olan büyüme faktörü alfa
- 3.İnflamatuar hücreleri aktive eden sitokinler: İnterferon γ , Lenfotoksin, IL-10, IL-5 ve IL-12

4.Hematopoezi stimüle eden sitokinler: C-kit-ligand, IL-3 Granulosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, Monosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, Granulosit koloni uyarıcı faktör, IL-7, IL-9, IL-11.

Tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- α)

Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), kaşektin olarak da adlandırılan ve 17-70 kDa ağırlığında bir sitokindir (Male et al., 1987). Homotrimer bir yapıya sahip olan TNF- α , özellikle makrofajlar ve monositler olmak üzere fibroblast, endotel hücreler, adipositler, B hücreleri gibi birçok hücre tarafından üretilmektedir (Abbas et al., 1994; Anderson et al., 1996).

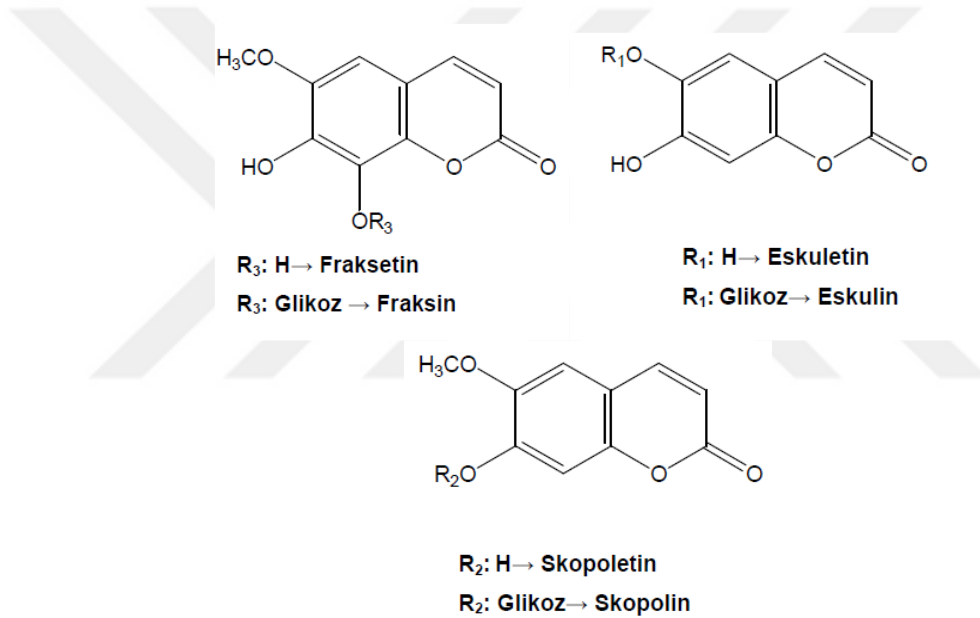
Etkileri:

TNF- α özellikle lipit metabolizması, koagülasyon, insülin rezistansı ve endotel üzerine etki etmektedir. IL-1 ve IL-6 ile birlikte inflamatuvar olaylarda sitokin kaskadını harekete geçirmede rol oynar (De Jong et al., 1996). Bu özelliklerinin yanı sıra apoptozisi indükler, akut inflamasyon sırasında fagositlerin aktivasyonunu ve karaciğerde akut faz reaktanlarının sentezi ve salgılanmasını artırır (Bienvenu 1995). Ayrıca hücre farklılaşması ve proliferasyonu, apoptozis, nekrotik hücre ölümü, tümör oluşumu, viral replikasyon, enerji metabolizması ve immun sistem fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi çok farklı süreçlerde görev almaktadır (Perez et al., 1990).

2.9. Fraksin

Tüm dünyada Atkestanesi (*Aesculum hippocastanum*) ismiyle bilinen bir cins ağaçtır. Latince “esca” kelimesinin karşılığı olan besin anlamını içerirken, biyolojik olarak Aesculus kelimesini ifade etmektedir. Atkestanesi denilmesinin nedeni, ağacın tohum kısımlarının atın gözüne benzetilmesinden ve atların kırık tedavisinde kullanılmasından dolayıdır. Atkestanesinin latince karşılığı tam olarak *Aesculum hippocastanum* L. (Hippocastanaceae) dir. Ayrıca yine atkestanesi için kullanılan diğer isimler arasında *Aesculus castaneo* Gilib., *A. Procera* Salisb., *Castanea equino*, *Hippocastanum vulgare* Gaertner yer almaktadır ve literatür araştırmalarında bu isimlerle de karşılaşılmaktadır (Mahady et al., 2001).

Atkestanesi ağacı kök, tohum, yaprak ve çiçek kısımlarından oluşmaktadır. Tüm bu bölümler önemli bioaktif kimyasallar içermektedir. Başta “aescin” olmak üzere atkestanesinin kabuğunda; kumarin glikoziti olan esculin (aglikonu aesculetin), oksikumarin glikoziti olan Fraksin (aglikonu fraksetin) ve skopolin (aglikonu skopoletin) bulunmaktadır. Atkestanesinin çiçeklerinde; flavonoid türevleri rutin ve kuersitrin, aescin, kolin ve purin, tohumlarında; nişasta, aescin, protein, yağlar, şeker ve kateşik tanenler yapraklarda; kuersitrin, izokuersitrin, kuersetin adlı flavonoidler ve karotenoidler bulunur (Koçkar 1989).



Şekil 2.14. *A. hippocastanum* kabuk ve yapraklarından izole edilen kumarin ve kumarin glikozitleri (Wilkinson and Brown 1999).

Kumarin glikoziti dediğimiz, dışarıdan bir enzim yardımıyla hidrolize edilen glikozitin, glikoz ve glikoz olmayan kısımlara ayrılarak oluşturduğu yeni organik bileşikler ifade eder. Glikoz olarak kalan kısmı monosakkaritlerden, glikoz olmayan kısımlar ise aglikon, genin ya da genol olarak isimlendirilen yapılardan oluşmaktadır. Glikoziti oluşturan glikoz ve aglikon arasındaki bağ atomların cinsine göre değişmektedir. Glikoz ile aglikon arasında oksijen atomunun oluşturduğu bağ O-glikozitleri, kükürt atomu ile S-glikozitleri, azot atomu ile N-Glikozitleri ya da karbon atomu ile C-glikozitleri olarak adlandırılan bağlar vardır (Tyler et al., 1981).

Glikoz ile aglikon arasında daha çok O-glikozitleri bulunmaktadır. O-glikozitlerinde ki aglikonun karboksil grubu ile glikozun indirgen grubunun bir molekül su kaybederek birleşmesi sonucu oluşurlar. Çoğu glikozitlerin O-glikozitler grubunda yer aldığı yapılan literatür araştırmalarınca bilinmektedir. Aglikonun yapısı bize glikozitin hangi gruba dahil olduğunu gösterir. Bunlar (Tyler et al., 1981);

1.Alkol Glikozitleri

- *Siyanogenetik Glikozitler

2.Fenol Glikozitleri

- *Basit Fenol Glikozitleri

- *Antresan Glikozitleri

- *Flavon Glikozitleri

- *Antosiyan Glikozitleri

- *Kumarin Glikozitleri

3.Steroid Glikozitleri

- *Kalp Kuvvetlendirici Glikozitler

- *Saponinler

- a.Steroid Saponinler

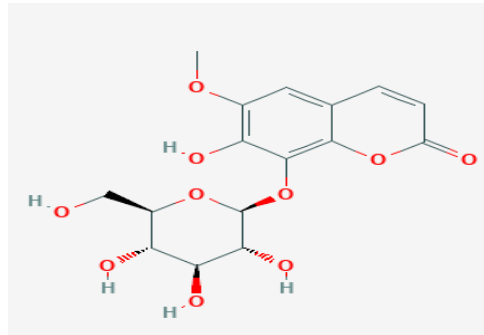
- b.Triterpenik Saponinler

Fraksin gibi kumarin glikoziti yapısında olan birden çok bileşik vardır. Kısaca etkilerine değinecek olursak; Arbutin armutta yaygın olarak bulunan bir glikozittir. Armutta ateş yanıklığı etmeninin istilasına karşı arbutin salınımı artarak güneş yanığı patojeni olan *Erwinia amylovora* gelişimi engellenir. Floridzin, elma dokularında yaygın olarak bulunan bir glikozittir ve elma yapraklarında hızlı bir şekilde floretin meydana getirmekte ve floretinin oksidasyon ürünleri *Venturia inaequalis*'in sporlarının gelişimini engellemektedir. Bu sonuçlar sadece floretinin oksidasyon ürünlerinin *V. inaequalis* üzerinde toksik olduğunu ve elma yapraklarındaki direncin floridzine bağlı olduğunu göstermektedir (Noveroske et al., 1964). Laleler tulipozid A ve tulipozid B olarak adlandırılan iki glikozid içermektedir ve bunların yardımıyla laleler *B.cinerea* enfeksiyonuna karşı daha dayanıklı olmaktadır (Beijersbergen and Lemmers 1972).

Kumarinler, SOR oluşumunu tetikleyebileceği gibi serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar üzerinde de etkilidir. Doku da meydana gelen ödemi ve inflamasyonu azaltır. Esculetin, fraxetin, daphnetin ve diğer ilgili kumarin türevleri gibi doğal ürünler sadece lipoksigenaz ve siklooksijenaz enzim sistemlerinin inhibitörleri olarak değil aynı zamanda nötrofile bağımlı süperoksit anyon üreticilerinin de inhibitörleri olarak kabul edilmektedir. Kumarin türevleri son zamanlarda geniş farmakolojik aktiviteleri nedeniyle çok dikkat çekmiştir (Ivanovska 1994; Fylaktakidou et al., 2004).

2.9.1. Fraksin ve Antioksidan Özelliği

Fraksin (7-hydroxy-6-methoxycoumarin 8-glucoside), yapısal olarak bir kumarin glikozidinin bir türevi olup, kül kabuğunda (Fraxinus) bulunan renksiz kristal ($C_{16}H_{18}O_{10}$) bir maddedir ve atkestenesi kabuğundaki eskalin ile birlikte bulunur. Fraksin' in anti-oksidatif etkisi de kanıtlanmıştır (Schempp et al., 2000). Ayrıca nonsteroid antienflamatuar ilaçlar gibi analjezik etki gösterir (Klein-Galczinsky 1998). Önceki araştırmalarda, bazı bitkilerden izole edilen Fraksin' in çeşitli aktiviteler gösterdiğini ileri sürmüş ve bu özelliklerin anti-inflamatuar ve antimetastatik özellikleri olduğu öğrenilmiştir (Ivanovska 1994). Bunun yanı sıra Fraksin, yüksek konsantrasyonda serbest radikal süpürme etkisi ve H_2O_2 aracılı oksidatif strese karşı hücre koruyucu etkisiyle güçlü bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır (Whang et al., 2005). Hidroksikumarinlerin biyolojik çalışmaları, önemli antimikrobiyal, antiinflamatuar, immünomodülatör, antiviral ve diüretik faaliyetler ortaya koymaktadır (Kostova 2001).



Şekil 2.17. Fraksin'in kimyasal yapısı (Chang et al., 2017)

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 26.10.2017 tarih ve 149 nolu onayı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızın hayvan deneyleri Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde yapılmış olup deney sonunda elde edilen dokuların biyokimyasal analizleri Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Laboratuvarında, histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeleri ise Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Laboratuvarında tamamlanmıştır. Deney hayvanları 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünün sağlandığı, ortalama % 55 oranında nem, 24 ± 1 °C sıcaklık ortamında tutuldular. Standart pellet yem ve ad libitum ile beslendiler. Denekler her kafeste 3 rat olacak şekilde yerleştirildiler.

3.2. İlaçlar ve Kimyasallar

Cisplatin (50 mg/100ml) İ.E. Koçak ilaç firmasından temin edildi (Koçak Farma, İstanbul, Türkiye). Ketamin (50 mg 1 Flakon) Pfizer firmasından (Pfizer Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye), Ksilazin HCl (Alphazilyne %2 Enjektabl) ise Ege vet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti' den (Ege vet Hayvancılık San. ve Tic. Ltd. Şti., İzmir, Türkiye) temin edildi.

3.3. Deney planı ve Grupların Oluşturulması

Bu çalışmada, üç aylık yirmi dört adet 150-170 gr ağırlıklarında Wistar tipi erkek rat kullanıldı. Ratlar tartıldıktan sonra randomize şekilde ve her grupta 6 denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplarımız, Kontrol, Fraksin, Sisplatin ve Fraksin+Sisplatin grupları şeklinde planlandı.

1.Kontrol grubu: Bu gruptaki ratlara hiçbir ilaç uygulaması yapılmadı (n:6).

2.Fraksin Grubu: Önceki bir deneysel rat çalışmasında kullanılan Fraksin dozu (Niu et al., 2017) olarak 40 mg/kg dozda bir hafta boyunca hergün oral olarak Fraksin uygulandı (n:6).

3.Sisplatin Grubu: Sisplatin deneyin 5. günü 12 mg/kg tek doz intraperitoneal (i.p) yolla ratlara uygulanıp 72 saatlik Sisplatin indüksiyonu yapıldı ve Sisplatin uygulamasından 72 saat sonra bu gruptaki denekler sakrifiye edildi (n:6).

4.Fraksin+Sisplatin Grubu: Bu gruptaki deneklere çalışmanın ilk günü oral olarak 40 mg/kg dozda Fraksin bir hafta süresince verildi ayrıca deneyin 5. günü 12 mg/kg tek doz olacak şekilde Sisplatin i.p yolla uygulandı. Sisplatin indüksiyonundan 72 saat sonra karaciğer dokuları alındı (n:6).

Deney sonunda karaciğer dokuları hızlıca alınıp bir bölümü serum fizyolojikte yıkanıp çalışılacakları güne kadar -80 °C de saklandı. Geri kalan karaciğer doku parçası ise % 10' luk formalin solüsyonunda tespit edilip histopatolojik ve immünohistopatolojik değerlendirmelerde kullanılmak üzere muhafaza edildi.

3.4. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Deney sırasında derin anestezi oluşturmak üzere Ketamin (ROMPUN Ketalar) (50 mg/kg)/ Ksilazin (10 mg/kg) ile anestezi edilerek karaciğer dokuları alındı. Karaciğer dokularında biyokimyasal olarak, oksidatif stres belirteci ve lipid peroksidasyon göstergesi olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri ve doku antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GSH), histopatolojik değerlendirme, apoptotik marker olarak Caspase-3 ve sitokin düzeyi (TNF- α) ölçüldü. Bunun yanında ratların karaciğer dokuları histopatolojik değerlendirmeye tabi tutulup patolojik doku hasarı değerlendirildi.

3.5. Biyokimyasal Analiz

Malondialdehid (MDA) (nmol/g doku) seviyesi Placer ve ark. tarafındanda tanımlanan metoda göre çalışıldı (Placer et al., 1966). Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Sun et al. tarafından belirlenen yöntemle göre ölçüldü (Sun et al. 1988). Katalaz (CAT) (katal / g protein) aktivitesi ise Aebi' nin yöntemine göre çalışıldı (Aebi 1984). Glutasyon (GSH) (nmol / g doku) seviyesi Sedlak ve Lindsay tarafından geliştirilen yöntem ile değerlendirildi (Sedlak and Lindsay 1968). Glutasyon peroksidaz (GPx) (U / g protein) aktivitesi Lawrence ve Burk (1976) metoduna göre ölçüldü. Süpernatantın protein içeriği ise Lowry metodu kullanılarak belirlendi (Lowry et al., 1951).

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Yapılan nekropsi sonucu histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan doku örnekleri % 10' luk formalin solüsyonunda 48 saat tespit edildi. Rutin doku takip işlemleri sonucu parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksil-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Olympus BX51, USA). Kesitler immun pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak skorlanarak değerlendirildi

3.7. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunperoksidaz inceleme amacıyla adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, deparafinize ve dehidre edildi. Daha sonra distile suda 5 dk yıkandı. Kesitler çekirdekteki antijen maskelenmesini önlemek amacıyla antijen retrieval (sitrata buffer, pH 6.1) solüsyonu içerisinde, 5'er dk. süre ile 4 kez mikrodalga fırında ısıya maruz bırakıldıktan sonra mikrodalga fırından çıkarıldı ve 30 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Bu sürenin sonunda distile su ile yıkanıp, kesitlerin etrafı kurularak özel cam kalemi ile çizildi. Fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 7.2) ile 5 dk yıkanıp, % 3' lük H₂O₂ de 10 dk tutularak, endojen peroksidaz inaktive edildi. PBS de 5-10 dk yıkandıktan sonra, nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikorlarla uyumlu olan Protein blok ile 5 dk inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solusyonunun fazlası döküldükten sonra yıkanma yapılmadan primer antikorlar (kontrol grubunda PBS) damlatıldı. Primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında ya da 1 gece +4 °C'de bekletildi. PBS ile 2 kez 5'er dk yıkanıp, biotinize sekonder antikor ile oda sıcaklığında 10-30 dk. inkube edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 10-30 dk. bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra kesitlere 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kromojen, damlatılarak kromojeni almasına göre 5-10 dk. bekletildi. Zemin boyanması için Mayer's hematoksilende 1-2 dk. tutulduktan sonra musluk suyunda yıkandı. Daha sonra alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobu (Olympus BX51) ile incelendi. Kesitler immün

pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak skorlanarak değerlendirildi.

3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen biyokimyasal parametreler One-Way ANOVA varyans analiz testi uygulandı. Daha sonra gruplar arası karşılaştırma için Tukey HSD testi ile analiz edildi. Tüm sonuçlar minimum ve maksimum değerler ile Ort±SEM şeklinde sunuldu. Histopatolojik incelemede ise semikantitatif olarak elde edilen verilerin gruplar arasındaki farklılıkların analizi için nonparametrik testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grupların mukayesesi için Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI

Biyokimyasal Bulgular

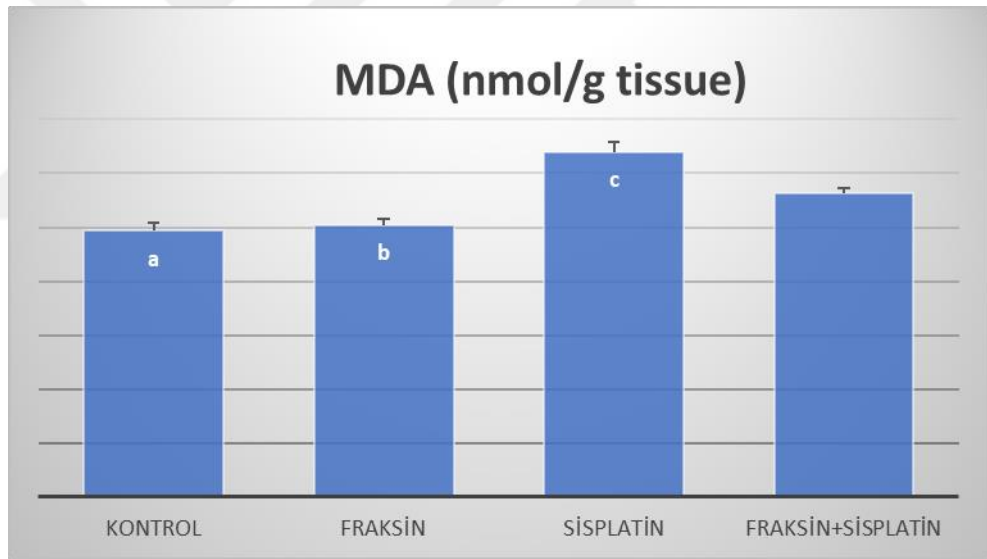
Çalışmamızda karaciğer dokusundan elde edilen lipid peroksidasyon belirteci olan Malondialdehit (MDA) düzeyi, Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Katalaz (CAT) antioksidan enzim aktiviteleri ile nonenzimatik antioksidan olarak ise Glutasyon (GSH) seviyesi sonuçları Çizelge 4.1 de verilmiştir. Tüm sonuçlar Ort±Standart Error Mean (SEM) olarak sunulmuştur.

Çizelge 4.1: Tüm gruplara ait Malondialdehit (MDA) düzeyi, Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Katalaz (CAT) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) seviyesine ilişkin minimum-maksimum değerler ile Ort±SEM sonuçları sunulmuştur.

Ort±SEM ve				
Minimum-Maksimum Değerler				
	Kontrol	Fraksin	Sisplatin	Fraksin+Sisplatin
MDA (nmol/g tissue)	24.69±0.70 (21.47-26.05)	25.20±0.58 (24.02-27.84)	31.98±0.97 (28.12-35.11)	28.20±0.42 (26.88-29.44)
GSH (nmol/g tissue)	3.41±0.05 (3.28-2.56)	3.63±0.05 (3.48-3.83)	1.97±0.04 (1.87-2.13)	2.93±0.12 (2.46-3.33)
GPx (U/g protein)	13.70±0.35 (12.69-15.04)	14.13±0.52 (12.31-15.77)	8.82±0.46 (7.21-10.06)	12.07±0.57 (10.73-14.63)
SOD (U/g protein)	25.16±0.68 (23.02-27.43)	25.90±0.65 (23.49-28.04)	16.22±0.39 (14.92-17.52)	18.77±0.35 (17.54-20.01)
CAT (katal/g protein)	9.43±0.34 (8.23-10.33)	9.72±0.42 (8.23-11.02)	3.82±0.12 (3.54-4.32)	5.70±0.17 (4.98-6.32)

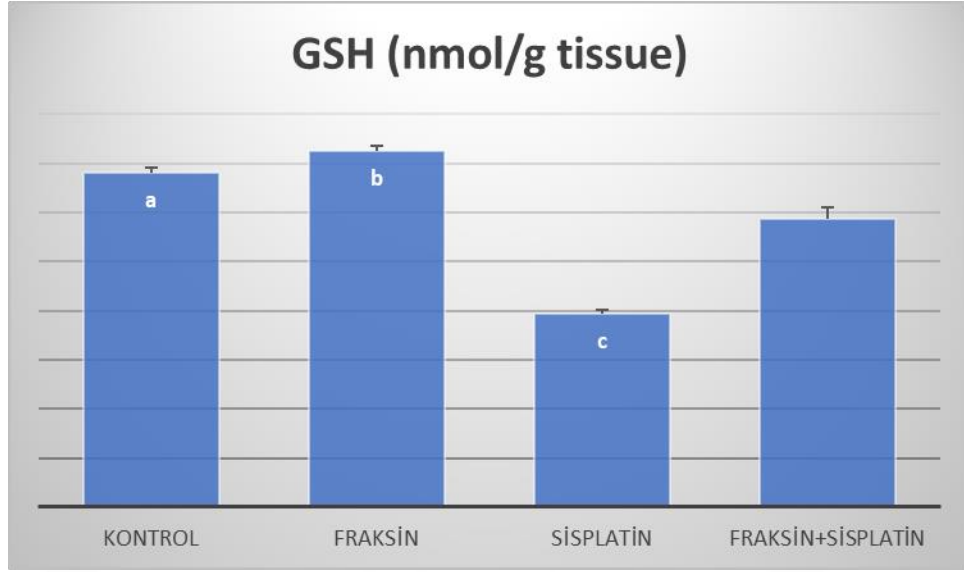
Çizelge 4.1 değerlendirildiğinde yalnızca Sisplatin uygulanan grupta lipid peroksidasyonun önemli belirteçlerinden olan MDA düzeyi önemli şekilde yüksek iken özellikle Fraksin+Sisplatin grubunda çok azaldığı ancak sadece Fraksin

uygulanan grupta Kontrole yakın olduğunu göstermektedir. Yine Sisplatin uygulanan grupta oksidatif hasar oluşumunu engelleyen enzimatik olmayan antioksidanlardan GSH düzeyi düşük olarak gözlenirken özellikle Fraksin+Sisplatin grubunda orta düzeyde ve Fraksin grubunda en yüksek çıkmıştır. Ayrıca enzimatik antioksidanlardan olup lipid peroksidasyonunun önlenmesinde ve SOR' lara karşı ilk savunma sistemini oluşturan SOD enzim aktivitesinin Sisplatin uygulanan grupta en düşük seviyelerde tespit edilirken Fraksin+Sisplatin grubunda orta düzeyde ve Fraksin grubunda ise en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Diğer enzimatik antioksidanlar olan ve savunma sisteminin ikincil güçleri olarak bilinen CAT ve GPx aktiviteleri yalnızca Sisplatin uygulanan gruplarda en düşük düzeylerde Fraksin+Sisplatin uygulanan grupta orta düzeyde ve yalnızca Fraksin uygulanan grupta ise en yüksek düzeyde olduğu görülmektedir.



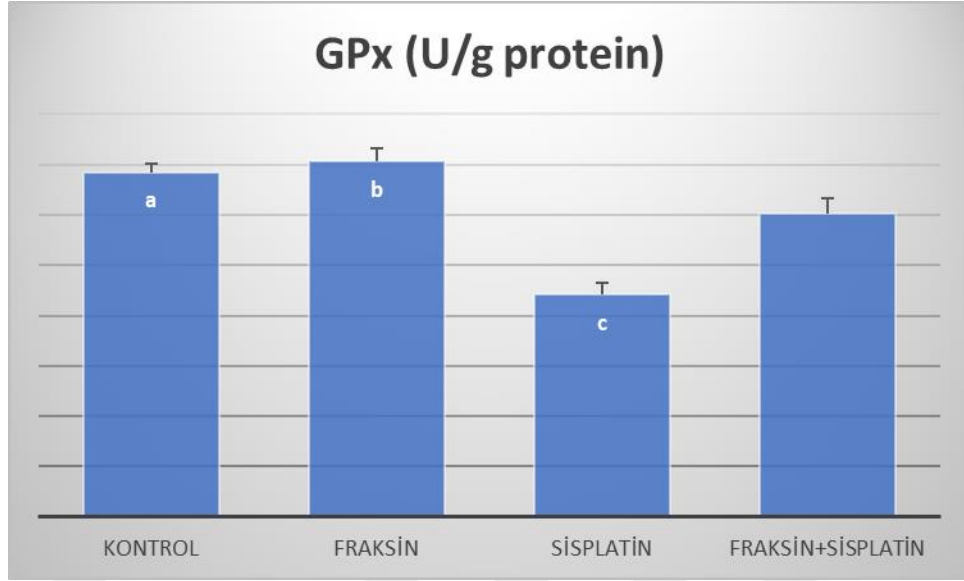
Şekil 4.1:Tüm gruplara ait MDA (nmol/g tissue) sonuçları.

a: Kontrol grubu ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.010$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. b: Fraksin ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.038$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. c: Sisplatin ile Fraksin+Sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır ($p=0.006$).



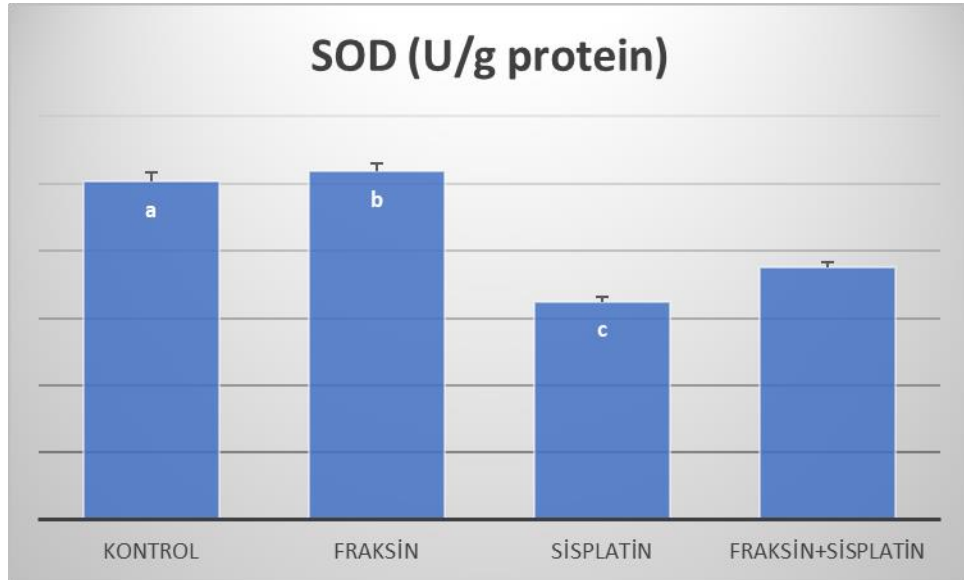
Şekil 4.2: Tüm gruplara ait GSH (nmol/g tissue) sonuçları.

a: Kontrol grubu ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.001$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. b: Fraksin ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. c: Sisplatin ile Fraksin+Sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır ($p=0.000$).



Şekil 4.3: Tüm gruplara ait GPx (U/g tissue) sonuçları.

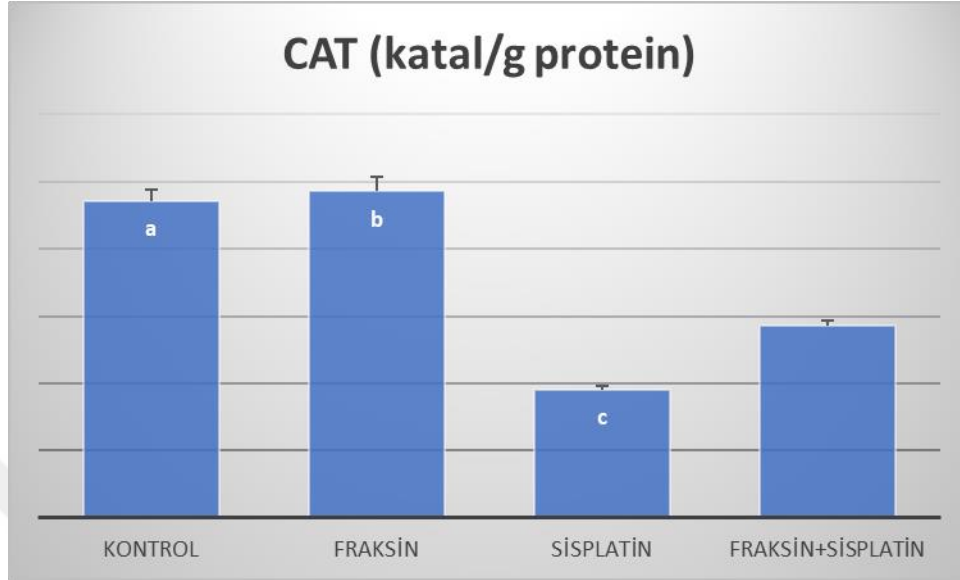
a: Kontrol grubu ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. b: Fraksin ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.033$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. c: Sisplatin ile Fraksin+Sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır ($p=0.001$).



Şekil 4.4: Tüm gruplara ait SOD (U/g tissue) sonuçları.

a: Kontrol grubu ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. b: Fraksin ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve

Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. c: Sisplatin ile Fraksin+Sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır ($p=0.016$).



Şekil 4.5: Tüm gruplara ait CAT (katal/g protein) sonuçları.

a: Kontrol grubu ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. b: Fraksin ile Sisplatin grubu ($p=0.000$) ve Fraksin+Sisplatin grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır. c: Sisplatin ile Fraksin+Sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmaktadır ($p=0.001$).

Histopatolojik Bulgular

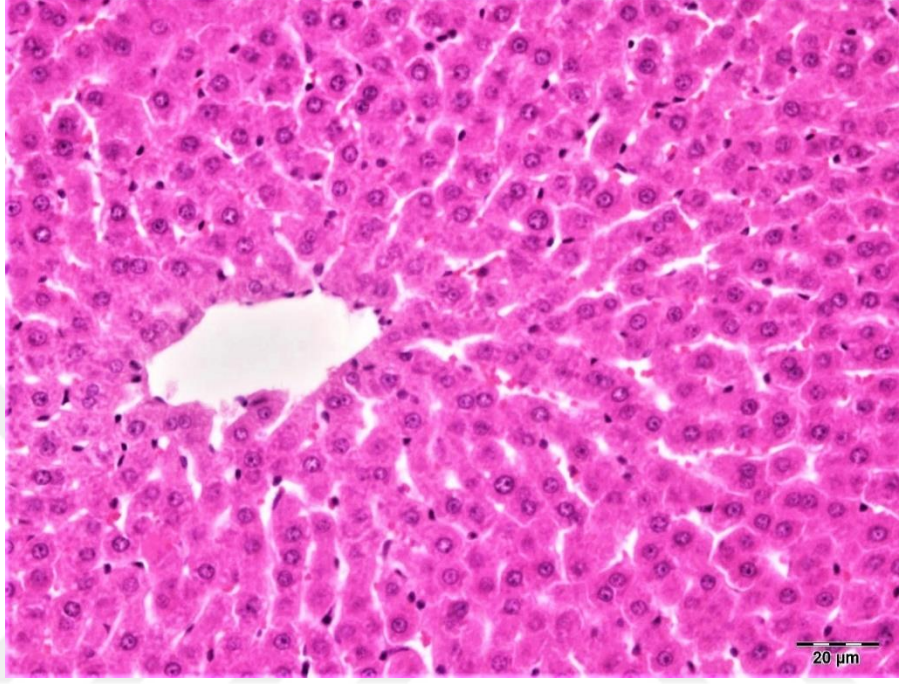
Kontrol grubu: Bu gruptaki karaciğer dokuları incelendiğinde normal histolojik görünümde olduğu belirlendi (Şekil 4.6).

Fraksin Grubu: Bu gruptaki karaciğer dokuları incelendiğinde normal histolojik görünümde olduğu belirlendi (Şekil 4.7).

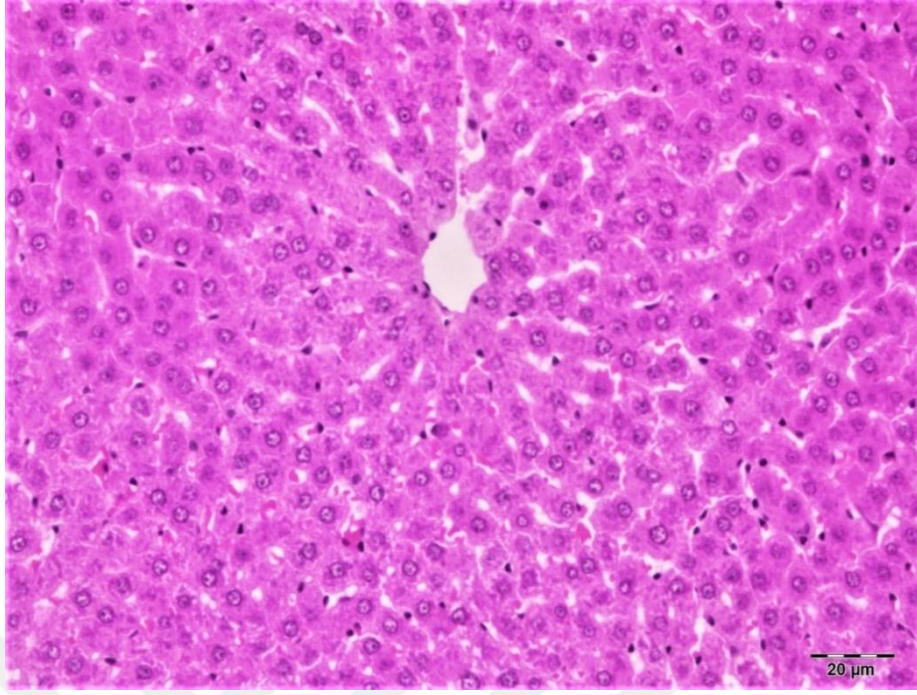
Sisplatin Grubu: Bu gruptaki karaciğer dokuları incelendiğinde, özellikle asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon, koagulasyon nekrozu ve sinüzoidlerde dilatasyon ve hiperemi tespit edildi (Şekil 4.8).

Fraksin+Sisplatin Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokuları incelendiğinde, asiner bölgede hepatositlerde hafif düzeyde hidropik dejenerasyona, çok hafif

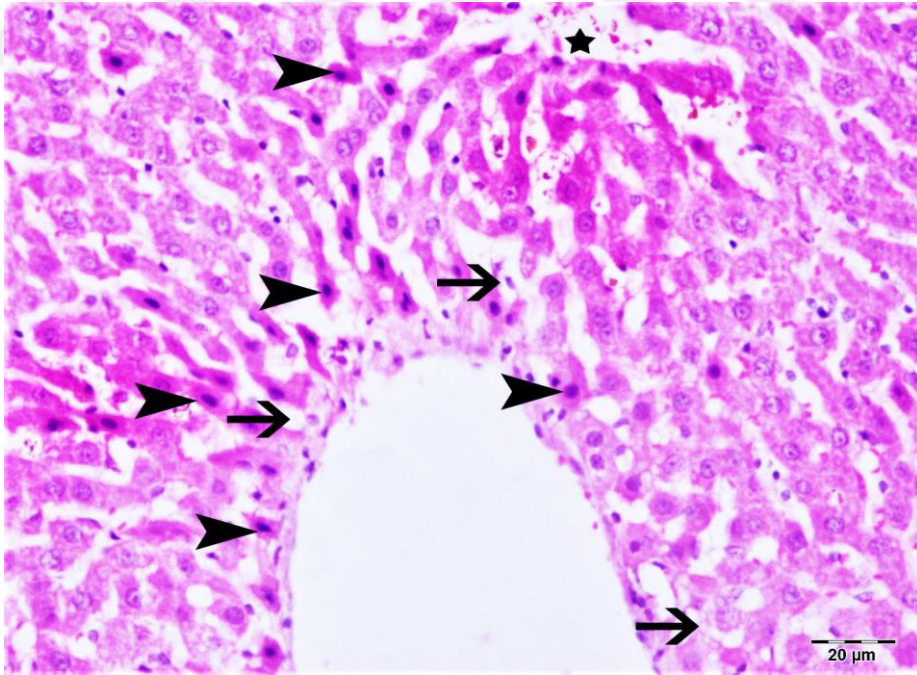
düzeyde koagulasyon nekrozuna ve sinüzoidlerde hafif düzeyde dilatasyon ile daha az hiperemiye rastlandı (Şekil 4.9). Tüm histopatolojik bulgularımıza ait skorlamalar Çizelge 4.2 de özetlendi.



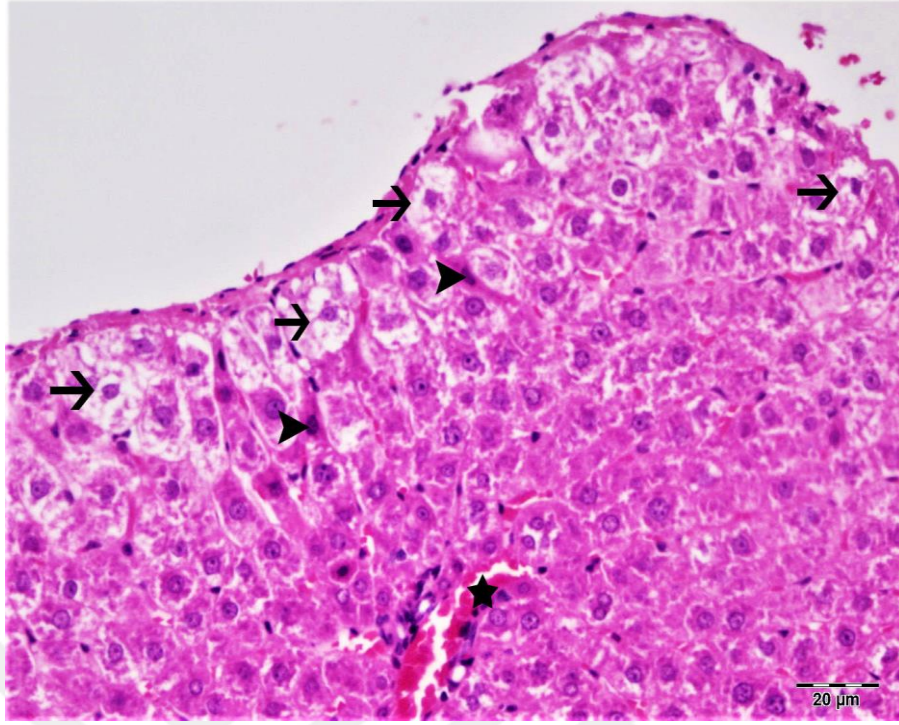
Şekil 4.6: Kontrol grubu karaciğer dokusuna ait normal histolojik görünüm, H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.7: Fraksin grubunda karaciğer dokusuna ait normal histolojik görünümü, H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.8: Sisplatin grup, Karaciğer dokusu, asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon (oklar), koagulasyon nekrozu (okbaşları), sinüzodlerde dilatasyon ve hiperemi (yıldız), H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.9: Fraksin+Sisplatin grubunda karaciğer dokusuna ait asiner ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon (oklar), az sayıda hepatositte koagulasyon nekrozu (okbaşları), damarlarda hiperemi (yıldız), H&E, Bar: 20µm.

İmmunohistokimyasal Bulgular

Kontrol grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokularının immunohistokimyasal incelemesinde TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonları negatif olarak belirlendi (Şekil 4.10-4.14).

Fraksin Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokularının immunohistokimyasal incelemesinde TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonları negatif olarak belirlendi (Şekil 4.11-4.15).

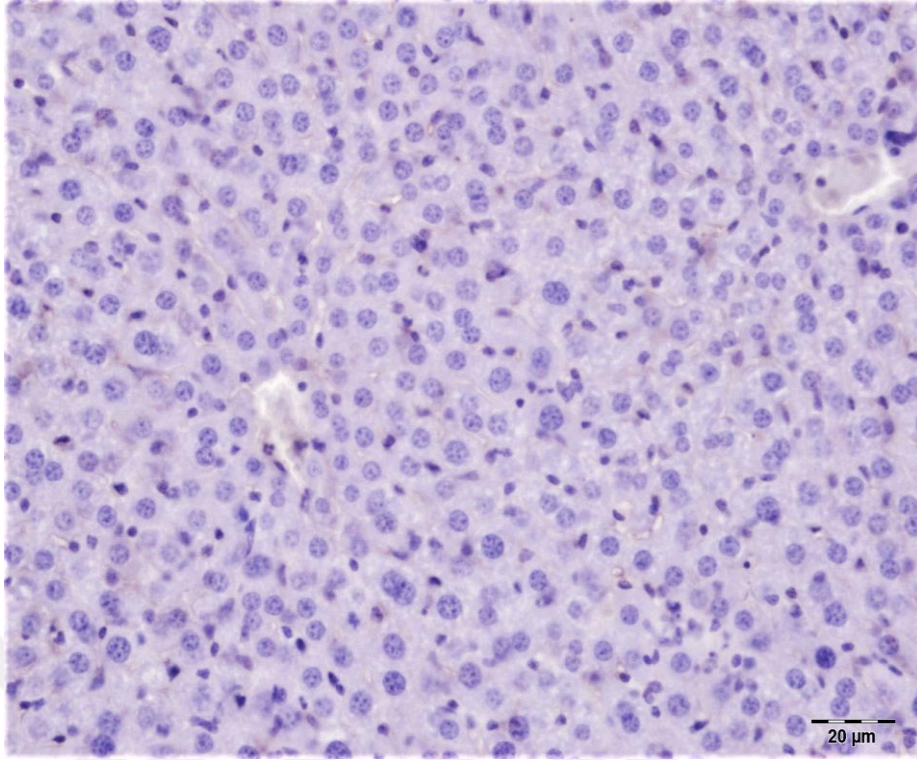
Sisplatin Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokularının immunohistokimyasal incelemesinde, sinüzoid duvarında ve portal aralıklarda şiddetli TNF- α ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.12). Özellikle asinar bölgede hepatositlerde, şiddetli düzeyde intrastoplazmik Caspase- 3 ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.16).

Fraksin+Sisplatin Grubu: Bu gruptaki ratların karaciğer dokularının immunohistokimyasal incelemelerinde, sinüzoidal duvarlarda ve portal aralıklarda hafif düzeyde TNF- α ekspresyonu tesbit edildi (Şekil 4.13). Asinar bölgede

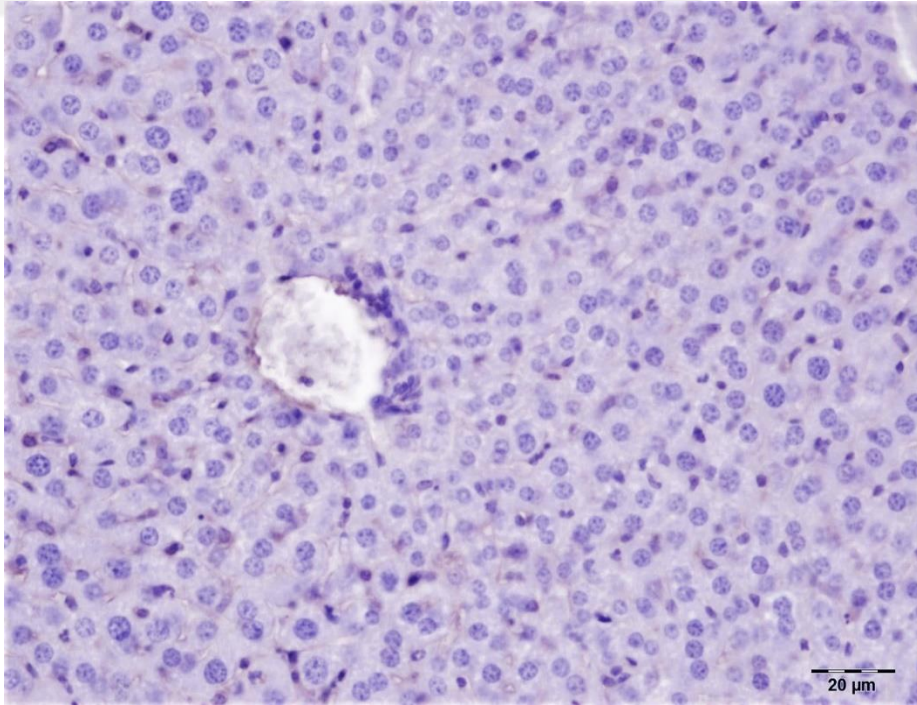
hepatositlerde, hafif düzeyde intrastoplazmik Caspase-3 ekspresyonları görüldü (Şekil 4.17). İmmunohistokimyasal bulgular Çizelge 4.2 de özetlendi.

Çizelge 4.2: Karaciğer dokusunda histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeye hepatositlerde hidropik degenerasyon, koagulasyon nekrozu, sinüzoidal dilatasyon ve hiperemi, Tnf- α , ve Caspase-3 için değerlendirme skorlamaları özetlenmiştir.

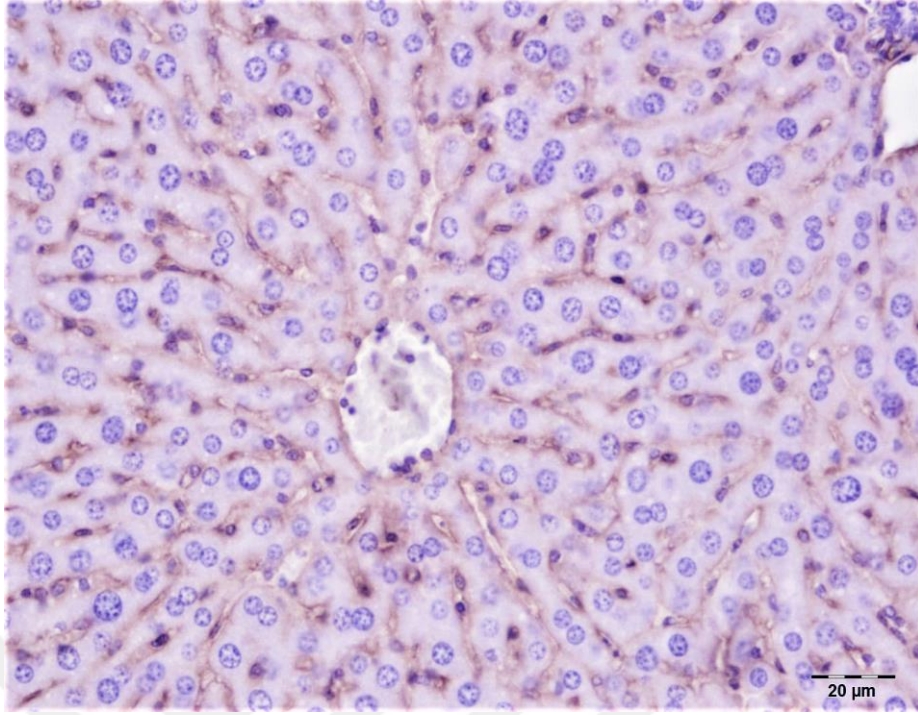
Gruplar	Kontrol Grubu	Fraksin Grubu	Sisplatin Grubu	Fraksin+Sisplatin Grubu
Hepatositlerde hidropik degenerasyon	-	-	+++	++
Koagulasyon nekrozu	-	-	+++	+
Sinüzoidal dilatasyon	-	-	+++	++
Hiperemi	-	-	+++	++
Tnf α	-	-	+++	++
Caspase 3	-	-	+++	+



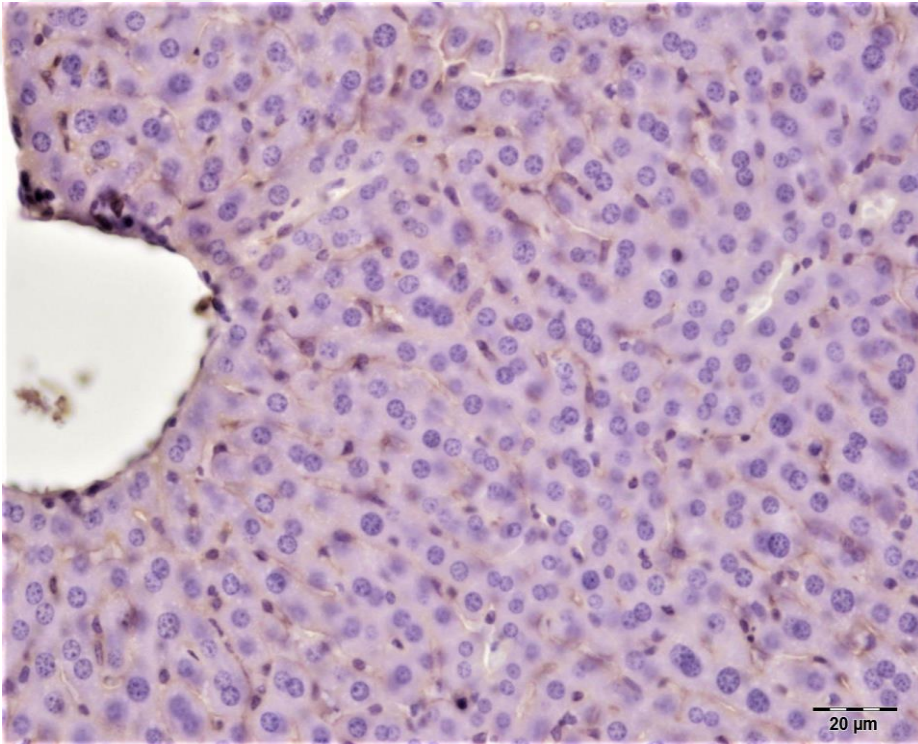
Şekil 4.10: Kontrol grubunun karaciğer dokusu, TNF- α ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20 μ m.



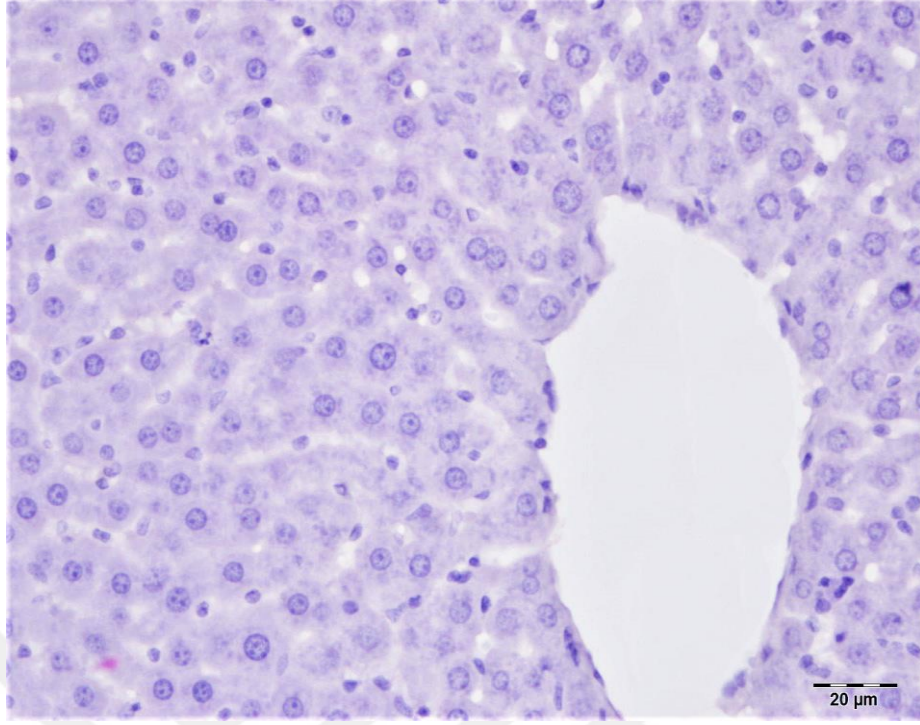
Şekil 4.11: Fraksin grubunun karaciğer dokusunda TNF- α ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20 μ m.



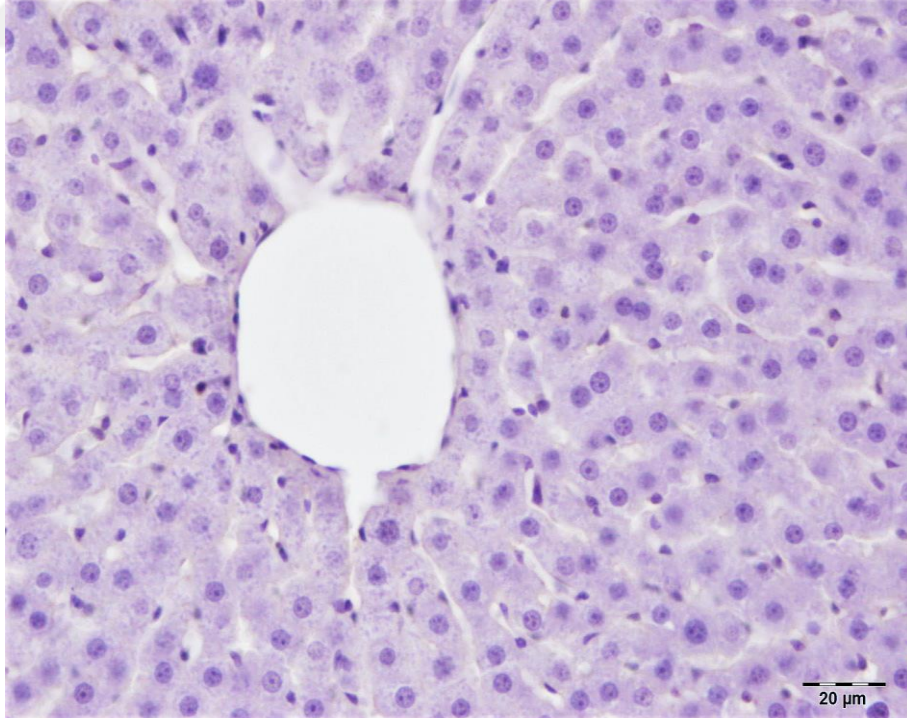
Şekil 4.12: Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, sinüzoidal ve sentral ven duvarında şiddetli TNF- α ekspresyonu, IP, Bar: 20 μ m.



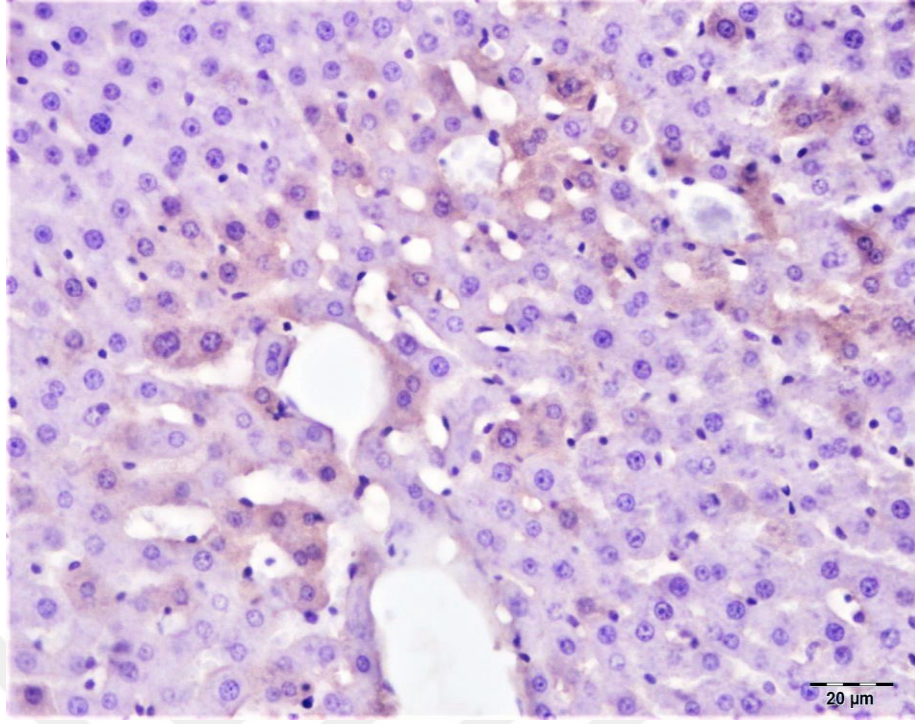
Şekil 4.13: Fraksin+Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, hafif düzeyde bazı sinüzoidlerin duvarında TNF- α ekspresyonu, IP, H&E, Bar: 20 μ m.



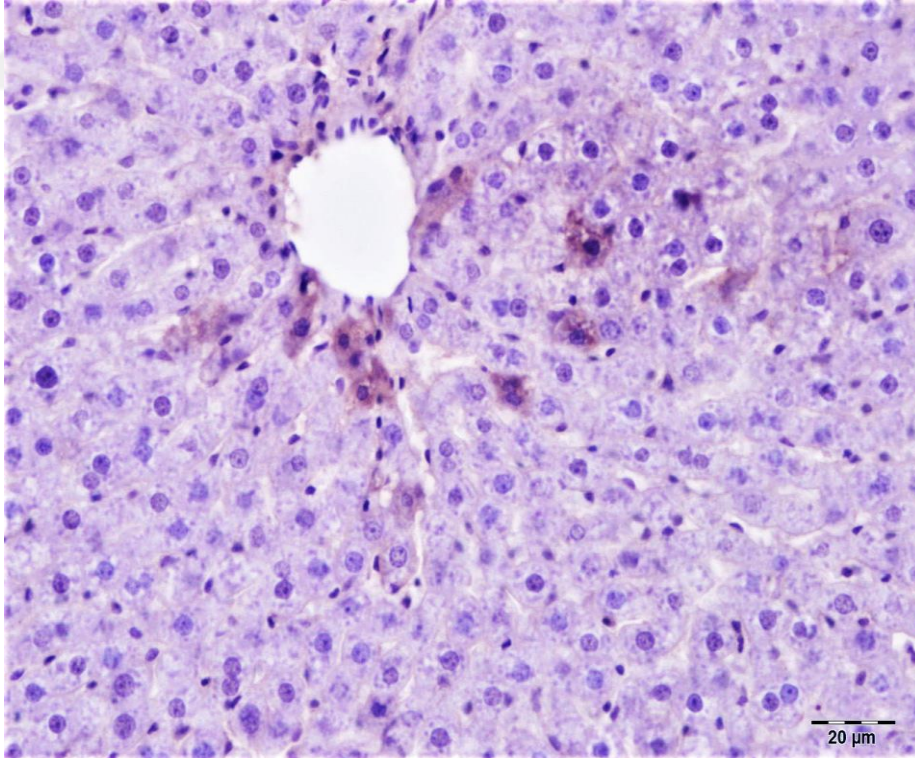
Şekil 4.14: Kontrol grubunda karaciğer dokusuna ait Caspase-3 ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.15: Fraksin grubunda karaciğer dokusu, Caspase-3 ekspresyonu negatif, H&E, Bar: 20µm.



Şekil 4.16: Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, şiddetli düzeyde asiner ve midzonal bölgede hepatositlerde Caspase-3 ekspresyonu, IP, Bar: 20µm.



Şekil 4.17: Fraksin+Sisplatin grubunda karaciğer dokusu, hafif düzeyde asiner bölgede hepatositlerde Caspase-3 ekspresyonu, IP, H&E, Bar: 20µm.

5. TARTIŞMA

5.1.Tartışma

Hepatotoksisite hastaların morbiditesini olumsuz yönde etkileyen bir durumdur. Toksisiteden kaynaklı olumsuz sonuçları en aza indirmek amacıyla yeni ilaçların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Sisplatin uygulaması antineoplastik bir ajan olmasından dolayı kanser tedavisinde kullanımı oldukça yaygındır. Ancak bu ajanın kullanımına bağlı olarak olumsuz bir durum olan toksisite ortaya çıkmaktadır. Bununla ilgili olarak antineoplastik ajan olan Sisplatin' in kanser tedavisinde kullanımıyla oluşabilecek toksisiteyi azaltarak hastayı koruyacak ilaçların uygulanması olumlu ve fayda sağlayacak bir yaklaşım olacaktır. Bu amaçla kemoterapi de sıklıkla kullanılan bir antineoplastik ajan olarak Sisplatin' in karaciğer dokusunda oluşturduğu hücresel hasarı ve bir antioksidan olan Fraksin' in bu hasarı ne yönde ve ne derece etkilediğini araştırmak ve literatüre katkıda bulunulması planlandı. Çok sayıda kanser türünün tedavisinde etkin bir biçimde kullanılan Sisplatin ile serbest radikal süpürücüsü olarak önemli bir antioksidan özellikğine sahip kumarin glikoziti Fraksin' in verildiği ratların karaciğer dokularında meydana gelen biyokimyasal (SOD, CAT, GSH ve GPx), immünohistokimyasal (TNF- α ve Caspase-3) ve histopatolojik değişiklikler ayrı ayrı ve birlikte karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Kanser tedavisi sırasında yararlanılan sitotoksik ajan olan antineoplastik ilaçlar genellikle birçok organda fizyolojik homeostazinin bozulmasına neden olur. Kanser tedavisinde, son derece etkili bir platin türevi olan Sisplatin metabolitlerinin vücuttan atılımında hepatobiliyer sistem ile böbrekler birlikte çalışır (Van Montfoort et al., 2003). Sisplatin; nefrotoksisite, hepatotoksisite, kemik iliği toksisitesi, gastrointestinal toksisite, ototoksisite ve periferik nöropati gibi istenmeyen yan etkilere sıklıkla sebep olabilmektedir (Güleç vd 2004).

Karaciğerde dahil olmak üzere canlı doku ve hücrelerde zedelenmeye sebep olan hasar modelleri görülmektedir. Bunlar apoptoz ve nekroz olarak iki şekilde görülmektedir. Apoptoz daha çok tümör oluşumu, oksidatif stres, immun sistem hastalıkları, radyasyon gibi patolojik durumlarda gözlenmektedir (Hughes and

Gorospé 1991; Leblanc et al., 1999). Apoptoz hücrede kontrollü olarak kendini imha etme süreci olarak tanımlanır. Hücre bu andan itibaren apoptotik cisimcikler oluşturur. Apoptotik cisimcikler makrofajlar tarafından hücre içine alınıp sindirilir. Apoptozun düzenlenmesinde Bcl-2 ailesi, p53, Caspase, sitokrom-c gibi proteinler ve mitokondriyal enzimler rol oynar. Bcl-2 ailesi birbirine zıt 2 grup olan proapoptotik ve antiapoptotik üyelerden oluşur. Bunların birbirinden farkı proapoptotik proteinlerin ortamdaki varlığı bize apoptozun kesin gerçekleşeceğini söylerken antiapoptotik proteinlerin varlığı apoptoza eğilimin düşük olduğunu kanıtlar (Adams and Cory 2001). Proapoptotik üyeler arasında Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa vardır. Bunlar apoptozu indüklerler. Antiapoptotik üyeler ise Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1'dir. Bunlarda apoptozu inhibe ederler. Apoptozun düzenlenmesinde etkin olan diğer bir grupta Caspase'lerdir. Sitoplazma içerisinde aktif olamamakla birlikte çok sayıda Caspase birbirini proteolitik olarak aktive etmektedirler. Böylece apoptozu başlatırlar (Adams and Cory 2001; Adrain and Martin 2001). Hasar modellerinden bir diğer mekanizma nekrozdur ve en yaygın nedeni iskemi/hipoksidir. Bazı toksik maddeler ve kimyasallar nekroz oluşumuna neden olurlar. Nekroz sırasında mitokondriyal SOR üretimi artar, nonapoptotik proteazlar aktive olur (Golstein and Kroemer 2007).

Oksidatif stres durumunun devam ederek SOR oluşumunu tetiklemesi ve ortamdaki SOR' un uzaklaştırılamaması üzerine apoptozis başlar. Apoptoz birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Apoptoz bilindiğinin aksine hasarlanmış, enfekte olmuş, bozulmuş hücreleri uzaklaştırmaya yarar ancak bu durumun yaşanması halinde patolojik hastalıklar ortaya çıkar. Bizim çalışmamız için önem arz eden apoptozis' in özellikle kanser ile bağlantısının olmasıdır. Normal hücreler eğer kanseri önlemek için kullanılan ilaçlarla karşılaşırse ölüm için programlanırlar. Ve apoptozise neden olurlar. Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin aktivitesi artış gösterirken pro-apoptotik (Bax) genlerin yetersizliği apoptozise ve ardından malign hücrelerin büyümesine neden olurlar. Bunu destekler tarzda birçok çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada apoptozisin başlatılmasında görev alan genler arasında Bax, Apaf-1, Caspase-9, Fas' ın olduğu bildirilmektedir (Toshiyuki and Reed 1995). Caspase-8 aktivasyonu efektör Caspase'lerin aktivasyonuna neden olarak apoptoza neden olmakta ve Caspase-8' in spesifik inhibitörlerle inhibisyonu

hücreyi apoptozdan korumaktır (Chang and Yang 2000). Dahası yapılan bir diğer araştırmada hücrenin ölümüyle sonuçlanan anti-apoptotik Bcl-2 ve Bcl-xl genleri belirlenmiştir (Weiss 2003). Bu genleri aşırı ekspresyonları kanserde ilaç tedavisine karşı hücrelerde direnç gelişmesine neden olur; artmış Bcl-2 seviyesi; etoposid, kamptothecin, doxorubisin, vinkristin ve aktinomisin D gibi kemoterapotik ajanlara ve dexamethasone' a karşı cevapta apoptozisi baskıladığı ortaya konulmuştur (Campos et al., 1993). Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan birçok ilaç, apoptozis indüksiyonuyla hedef hücreleri öldürmek amaçlı kullanılmıştır (Kroemer and Reed 2000). Malign hücreler apoptozisi inhibe etmek için çok sayıda farklı moleküler mekanizmalardan yararlanır. Bu hücreler pro-apoptotik proteinlerin mutasyonu, antiapoptotik proteinlerin ekspresyonu veya down regülasyonu aracılığıyla apoptozise karşı direnç gösterebilirler (Miyashita et al., 1994). Doxorubisin, Sisplatin, Methotrexate, Sitarabin ve Etoposid tedavisini takiben Fas sisteminin aktivasyonu ve FasL'nin indüksiyonu farklı mekanizmalara ile değerlendirilmiştir (Friesen et al., 1996). Tüm bu terapötikler bize hücrede tümör oluşumunun izlerini vermektedir. Sisplatin tümör hücrelerinin yok ederken ortamda oksidatif stres ve SOR' ların oluşmasına zemin hazırlar ve akabinde yaşanacak apoptoz gibi durumlarda Bcl-2, Bax, Caspase-8' in ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Bouscary ve ark. (2000) yaptıkları 54 miyelodisplazi tanılı hastalarda apoptozun ve Caspase-3 aktivitesinin arttığını gözlemlemişlerdir (Bouscary et al., 2000). Bir diğer yapılan araştırmada yetişkin farelerde Caspase-3' ün beyindeki lokalizasyonu ile ilgili çalışmada Caspase-3' ün oklüzyon periyodu boyunca aktive edildiği gözlenmiştir ve sonuç olarak beyinde oluşturulan iskeleyle apoptozun uyarıldığı ve Caspase-3 aktivasyonunun varlığı tespit edilmiştir (Namura et al., 1998). Yakovlev ve ark. (1997) ratlarda yapılan deneysel travmatik beyin hasarı sonucu Caspase-3 aktivasyonunun arttığı, bir başka iskele üzerine yapılan çalışmada ise Caspase-3' ün önemli rolü olduğunu tespit edilmiştir (Yakovlev et al., 1997). Geçici iskele üzerinde yapılan çalışmalarda Caspase-3 mRNA' sının ve proteininin gözlemlenebilir oranda arttığı tespit edilmiştir (Krajewska et al., 1997). Nöronlarda BAD translokasyonunu gösteren Caspase-3 aktivasyonunun arttığını gösteren çalışmalarda mevcuttur (Springer et al., 2000). Yine diabetik ratlarda apoptoza neden

olan yüksek doz glukoz kullanımının Caspase-3 aktivitesini arttırdığını gösteren çalışmalarda mevcuttur (Cai et al., 2002). Bizim çalışmamızda bu araştırmaların sonuçları ile uyumlu olup Sisplatin uygulanan karaciğer dokusunda Caspase-3 ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir.

İlaçlara bağlı ortaya çıkan hasarlar, karaciğer toksisitesinin en önemsenecek nedenleri arasındadır. Toksikiteye götüren bu olay karaciğerde birçok ilaç ve kimyasal ajanların metabolizmasının ana yeri olmasından kaynaklıdır. Toksikitenin nedenleri 3 grupta incelenmekte ve bunlar sırasıyla ilaçlar, doğal toksik ajanlar ve kimyasal maddelerdir. Sisplatin böbreklerden sonra en fazla karaciğerde biriktiğinden, yüksek doz uygulamasıyla hepatotoksite gerçekleşir (Zicca et al., 2002; Tarladaçalışır vd 2005). Yapılan çalışmada karaciğer ve böbrekte biriken platin miktarı karşılaştırılmış ve karaciğerde birikimin fazla olduğu belirtilmiştir (Uozumi et al., 1993). Ayrıca yapılan bir diğer çalışmalarda insandan alınan karaciğer ve böbrek örneklerinde, hepatositlerde biriken platin konsantrasyonunun doza bağlı olduğunu fakat böbrek tübüllerdeki birikim için dozun önemli olmadığı ileri sürülmüştür (Stewart et al., 1985; Martins et al., 2008). Mitokondriler Sisplatin toksisitesinde en önemli ve ilk hedef olan organellerdir (Martins et al., 2008). Martins ve ark. (2008), bu durumu desteklemiş ve Sisplatin' in mitokondri fonksiyonu ve yapısında hasara neden olarak antioksidan sistem faaliyetlerini azaltmakta olduğunu, apoptozisin meydana geldiğini belirtmişlerdir. Serbest radikaller mitokondrilerin fonksiyonunda bozukluklara neden olmaktadır (Martins et al., 2008). Daha önceki araştırmalard Sisplatin tarafından kaynaklanan serbest radikallerin oluşumu doğrudan lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere ve DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir (Yılmaz vd 2004; Martins et al., 2008). Bazı araştırmacılar Sisplatin hepatotoksitesinin mitokondrilerde meydana gelen hasarlardan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Hepatotoksite mitokondriyon ile nükleer bölgedeki platin konsantrasyonu karşılaştırıldığında mitokondriyonda daha yüksek oranda bulunduğu anlaşılmıştır. Böbrekler üzerindeki toksikitenin karaciğerden yüksek olmasını, mitokondriyal DNA hasarının böbreklerde daha ileri seviyede olmasına ve böbreklerin hasarlı DNA' yı kompanse etmede karaciğerden daha başarısız olmasına bağlıdır (Tarladaçalışır vd 2005).

Koç ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada; Sisplatin' e bağlı olan karaciğer hasarında dokunun histolojik analizlerinde, özellikle hücrelerin çevresindeki santral venlerdeki değişimler ile hepatoselüler vakuolizasyonlar ve sinüzoidal dilatasyonlar ile açıklanmıştır. Sisplatin uygulaması, karaciğerde mikroskopik olarak da gözlenebilecek çeşitli hasarlara neden olmaktadır. Karaciğer hücre morfolojisi; çeşitli Kupffer hücre aktivasyonlarıyla, hepatositlerin dejenerasyonu ve sinüzoidlerin hafifçe genişlemesi ile karakterize bir tablonun şekillendiği ortaya konulmuştur (Koc et al., 2005). Sisplatin ile indüklenen karaciğer hasarının mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir, ancak apoptotik lezyonlar hasarlı karaciğer parankimini karakterize etmektedir. Koc ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada karaciğer dokusunun histolojik analizi, özellikle santral ven ve hücrelerin çevresindeki sitoplazmik değişiklikleri ve hepatosellüler boşluklaşma ve sinüzoidal genişlemeleri ortaya koymuştur (Koc et al., 2005). İşeri ve ark.' nın (2007) yaptığı bir başka çalışmada ise, Sisplatin ($2,5 \text{ mg kg}^{-1}$) tek dozunun ciddi karaciğer hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur (İşeri et al., 2007).

Oksidatif strese karşı SOD, CAT, GSH-Px ve GSH gibi antioksidan enzimler SOR' lara karşı temel savunma sistemini oluştururlar. Çalışmamızda dokuda gelişen oksidatif stresi azaltmak adına antioksidan olarak bulunan GSH, SOD, GPx ve CAT gibi enzimlerin aktivitelerini değerlendirildi. Aynı zamanda oksidatif stres göstergesi olan MDA' nın düzeyi ölçüldü. Karaciğer hasarında önemli rolü olan oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu şekillendiği bilinmektedir. Bu nedenle, oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tükeniminin araştırılması enzim aktivitelerinde meydana gelen azalma ya da metabolitlerindeki yükselişin incelenmesi ile mümkün olabileceği ileri sürülmüştür (Blumberg 2004). Martins ve ark. ları (2008), Sisplatin' e bağlı hepatoksisitede oksidatif stresin rol oynadığını göstermiştir (Martins et al., 2008). Sisplatin; $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ radikali gibi SOR' ların üretimin artışına neden olmaktadır (Masuda et al., 1994; Matsushima et al., 1998; Gülçin et al., 2002). Serbest radikaller canlı hücrelerde mitokondriyel ve sitoplazmik olarak bulunan SOD, GPx ve CAT gibi antioksidan enzimler yanında transferrin, vitamin C, seruloplazmin, indirgenmiş GSH ve alfa-tokoferol gibi nonenzimatik antioksidanlar tarafından temizlenirler (Valko et al. 2007). Kısaca oksidatif strese karşı temel savunma

sisteminde SOD, CAT, GPx gibi enzimler ve GSH fazlasıyla rol alırlar. Bizim çalışmamızda da Sisplatin' in neden olduğu oksidatif strese karaciğer dokusunda SOD, CAT, GPx aktiviteleri ve GSH düzeyinin değerlendirilmesi önemsenmektedir.

Biyolojik membranlar ve intraselüler yapılarda yer alan fosfolipitlerdeki çoklu doymamış yağ asitlerinin olması nedeniyle radikalik saldırılara oldukça duyarlıdırlar. Serbest radikal ve lipidler arasındaki etkileşim sonucu gelişen lipid moleküllerinin peroksidasyonu sonucu üretilen MDA, biyomembranlarda iyon giriş-çıkışını etkileyerek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasıyla sonuçlanıp iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA, genetik materyalin bazıları ile reaksiyona girebilmesi nedeniyle oldukça karsinojenik, genotoksik ve mutajenik etkilere sahiptir (Mercan 2004). Oksidatif stresle birlikte artan reaktif oksijen türleri de DNA hasarına ve membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir (Salahudeen et al., 1995). Sisplatin' in radikal oluşumuna neden olduğunun ortaya koyan çok sayıda çalışma yapılmıştır. Masuda ve arkadaşlarının (1994) yaptığı çalışmada Sisplatin' in, $O_2^{\bullet-}$ ve $\bullet OH$ gibi SOR' ların oluşumunda etkili olduğunu gözlemlemişlerdir (Masuda et al., 1994). Clerici ve ark.' nın (1996) yaptığı çalışmada; Sisplatin' in, $\bullet OH$ ve diğer serbest radikallerin artışına (Clerici et al., 1996), Sasada ve ark.'nın (1996) yaptığı bir çalışmada ise (Sasada et al., 1996); peroksit radikallerinin artışına neden olduğunu bildirmektedirler. SOR ve serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu, doku hasarlı birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA ölçümü, oksidatif stresin değerlendirilmesinde oldukça önemli bir belirteç olarak uzun süredir kullanılmaktadır. MDA gibi sekonder ürünlerin ölçümü, indirekt olarak lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Tukoşkan et al., 2006). Yılmaz ve arkadaşları (2005) Sisplatin ile indüklenen karaciğer toksisitesi çalışmalarında oksidatif stresin, lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal disfonksiyonun artmasına neden olduğunu belirtmiştir (Yılmaz et al., 2005). Sisplatin dozundan kaynaklı oluşan hepatotoksosite; lipid peroksidasyonunun artışına neden olarak MDA' nın artmasına, oksidan oluşumunun uyarılması ve doku içeriğindeki GSH' ın azalmasına sebep olmaktadır. İşeri ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada Sisplatin uygulamasının karaciğerde MDA düzeyinde belirgin bir artışa neden olduğunu ortaya koymuştur

(İşeri et al., 2007). Doğru-Abbasoğlu ve ark.'nın (2004) yaptıkları bir çalışmada karaciğer homojenatlarında lipid peroksidasyon düzeyini iki farklı yöntemle ölçmüşlerdir. Bu yöntemlerden biri lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA, diğeri ise ara ürün olan dien konjugat düzeyleri olup bu yöntemler sonucunda lipopolisakkarit uygulanan sirozlu ratlarda karaciğer hasarının arttığını MDA artışı ile tespit etmişlerdir (Doğru-Abbasoğlu et al., 2004). SOR ve serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu, doku hasarlı birçok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Çalışmamızda kontrol gruplarına göre Sisplatin uygulanarak toksisite oluşturulmuş karaciğer dokusunda ortamda SOR'ların miktarının artması nedeniyle ve bu SOR'ların lipid peroksidasyonuna neden olarak MDA miktarının artmasına neden olduğu görülmektedir. Ancak Fraksin+Sisplatin grubunda ise MDA düzeyinin azalarak oksidatif stres yanıtının hafiflediği de görülmüştür.

SOD, en etkin intraselüler enzimatik antioksidanlardan biridir. Bu enzim $O_2^{\cdot -}$ den ilk oluşan reaktif bir ürün olan $O_2^{\cdot -}$ moleküler $O_2^{\cdot -}$ e ve daha az reaktif bir ürün olan H_2O_2 dönüşümünü katalize ederek radikallerin etkisini azaltmış olur (Koca ve Karadeniz 2003; Derviş 2011). Oksidatif stres, hücrel savunma mekanizmaları ile hücre içi serbest radikal arasındaki denge durumunun radikaller lehine bozulması olarak tanımlanır. Hem SOD hem de CAT, hücreyi hasardan korumanın en etkili yolu olan H_2O_2 'yi parçalayıp ve $O_2^{\cdot -}$ yi indirgeyerek oksidatif hasarı azaltırlar. Bu enzimler SOR'ları ortadan kaldırmak için birlikte çalışırlar ve fizyolojik konsantrasyonlar da aktivite veya miktarlarındaki azalma sonucu hücrel lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif hasara karşı olumsuz etkilenmesine neden olurlar (Nagi and Almakki 2009; Ince et al., 2012). GPx enzimi GSH vasıtasıyla H_2O_2 'nin H_2O ve $O_2^{\cdot -}$ ye dönüşümünü katalize ederek dokuları oksidatif hasara karşı korur (Ali et al., 2014). Sıçanlarda yapılan *in-vivo* çalışmalarda Siplatin' in SOD ve GPx gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini düşürdüğü gözlenmiştir. Artan SOR'lar da DNA hasarına ve membranlarda lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedir (Salahudeen et al., 1995). Yine Sugiyama ve ark. (1989) tarafından yapılan bir çalışmada ise Sisplatin' in; dokuda SOD, GPx gibi radikal süpürücü enzimlerin aktiviteleri ile GSH' un düzeylerini azaltırken, $O_2^{\cdot -}$ ve O_2 -türevli radikallerin miktarının artışına neden olduğu tespit edilmiştir (Sugiyama et al., 1989). Ayrıca yapılan literatür araştırmaları sonucu toksisiteye maruz kalan karaciğer, böbrek ve

barsak gibi farklı dokularda antioksidan özellik gösteren SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerini azalttığı bildirilmiştir. Mansour ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada, GPx ve SOD' da gözlemlenen azalma, Sisplatin' e bağlı hepatotoksisite ile oksidatif hasarı ortaya koymaktadır (Mansour et al., 2006). Hasegawa ve ark. (1992), GPx' in aktivitesindeki azalmanın potansiyel olarak oksidatif hasarın yoğun olduğu durumlarda SOR veya lipid peroksitlerde artışa bağlı enzim inaktivasyonuna bağlı olarak şekillendiğini bildirmiştir (Hasegawa et al., 1992). Iraz ve arkadaşları (2006), Sisplatin ile yaptıkları deneysel çalışmada; Sisplatin SOD ve GPx enzim aktivitelerinde anlamlı ölçüde azalma olduğunu saptamışlardır (Iraz et al., 2006). Sonuç olarak, Sisplatin' in hücrel antioksidan aktiviteyi azalttığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Bizde çalışmamızda Sisplatin' in neden olduğu hepatotoksisite sonucu dokuda SOR oluşumunun artması nedeniyle SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde yetersizlik nedeniyle anlamlı düzeyde bir azalma belirledik.

GSH, suda çözünen bir antioksidandır. Vücutta doğrudan sistein, glisin ve glutamattan sentezlenmektedir. C vitamini ile sinerjik çalışır. Direkt olarak serbest radikalleri temizlemesinin yanı sıra; GPx ile birlikte enzimatik olarak da etki gösterir. GSH hücrelerde enzim ve diğer hücrel bileşenlerin redükte halde tutulmalarını için hayati fonksiyon görmektedir. Birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlar da bulunan GSH, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. GSH en çok karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık % 40' ı safra ile atılır. Safradaki bu GSH diyetteki ksenubiyotiklere karşı vücudu korumaktadır (Koca ve Karadeniz 2003; Derviş 2011; Çaylak 2011). Yine İşeri ve arkadaşları (2007) yaptıkları çalışmada, Sisplatin uygulamasının, karaciğer dokusundaki GSH içeriğinde belirgin bir azalmaya neden olduğunu saptanmıştır (İşeri et al., 2007). Bizim çalışmamızda bunu destekler nitelikte olup yalnızca Sisplatin uygulanmış ratların karaciğer dokularında kontrol ve tedavi gruplarına göre GSH düzeyinde anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir.

Tüm bu bilimsel çalışmalar ışığında çalışmamızda kullandığımız Sisplatin, mevcut literatürde gösterildiği gibi, karaciğer dokusunda belirgin biyokimyasal değişiklikler meydana getirmiştir. Biyokimyasal değerlendirmede sadece tek doz 12 mg/kg dozda i.p. olarak uygulanan Sisplatin ve bunun sonucunda karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı

şekilde arttığı, buna karşın GSH düzeyi, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde önemli bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidler olan sitokinler, enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve enflamatuvar olayları düzenlerler. Sitolinler hormona benzemekle beraber tam hormon değildirler (Nororiha 1995). Çeşitli uyarılara karşı cevap olarak özel hücreler tarafından salgılanarak hedeflenen hücrenin davranışlarını etkilerler. Her sitokin kendine özgü hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak, hücre içi sinyal yollarının etkinliğinin değişmesine neden olurlar. Sitolinler kendi arasında da yapı ve etkinlik bakımından gruplara ayrılırlar. Bunlar arasında; Lenfokinler (IL-1 β , IL-6 β), Transforme edici büyüme faktörü (TGF- β 1), TNF- α , Siklooksijenaz (COX-2) bulunmaktadır (Koleske and Young 1994).

IL-1 ve TNF- α , aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve proinflatuar sitokinler olarak adlandırılırlar (Bienvenu 1995). Proinflatuar sitokinler çoğunlukla aktive makrofajlar tarafından üretilir ve inflamatuvar reaksiyonlarda yer alırlar. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi bazı proinflatuar sitokinlerin patolojik ağrı sürecine karıştığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (Zhang and An 2007). IL-1 β , öncelikle monositler ve makrofajlar tarafından hücre yaralanması, enfeksiyon ve enflamasyon sırasında salınırken bunun yanında fibroblastlar ve endotel hücreler tarafından da salınmaktadır (Coprav et al., 2001). TGF- β 1' in makrofaj ve T-helper hücre aktivitesini inhibe ederek sitokin üretimini baskıladığı ve IL-1, IL-2, IL-6 ve TNF' ye karşı müdahale ettiği bilinmektedir (Roberts and Sporn 1993). İnflatuar yanıt sırasında IL-1, IL-6, TNF- α , TNF- β ve FGF gibi faktörlerin ekspresyonu artar (Jingushi et al., 1990). COX-2' nin bu faktörlerin salınımını veya etkilerini engellediği düşünülmektedir (Koide et al., 1999). Çünkü COX-2 aralarında IL-1, TNF- α , büyümeyi ve inflamasyonu sitmüle eden diğer pek çok sitokin tarafından sitümüle edilebilen bir enzimdir. Tüm hücre ve dokularda glukokortikoidler tarafından COX-2' nin etkileri inhibe edilir. Kronik viral hepatitlerde kronik inflamasyon ve bunun sonucunda gelişen fibrozisin COX-2 selektif inhibitörleriyle önlenebileceği düşünülmektedir.

TNF- α 'nın hem enflamatuvar hem de nöropatik hiperalejide önemli roller oynadığı gösterilmiştir. Yetişkin farelerde, iltihaplı pençede TNF- α , IL-1 β ve TGF- β düzeylerinde belirgin yükselmenin olduğu görülmüştür (Woolf et al., 1997). Sirozda görülen fibrozisin temel maddesi olan kollajenin başlıca kaynağı perisinüzoidal stellat hücrelerdir. Bu hücreler TNF- α , limfotoksin, interlökin-1 (IL-1), dönüştürücü büyüme faktörü- β (Transforming growth factor- β (TGF- β)), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (Platelet derived growth factor (PDGF)) gibi çeşitli sitokinlerin, lipid peroksidasyon ürünlerinin ve çeşitli toksinlerin etkisiyle aktifleşip kollajen salgılayan miyofibroblast hücrelerine dönüşürler (Kumar et al., 2014). Yapılan bir başka çalışmanın sonucunda kanser tedavisi olan radyoterapinin hemen ardından, TNF- α ve interlökin 1- α , IL-6 gibi proenflamatuvar sitokinlerin arttığı gözlenmiştir (Chen et al., 2002). TNF- α , IL-1, IL-6 en erken ortaya çıkan sitokinler arasındadır ve monositler, makrofajlar, endotel hücreler tarafından salındığı düşünülmektedir (Seki et al., 1993; López-Cortés et al., 2000). TNF- α , IL-1 ve IL-6 sitokinlerinin travmatik ve iskemik olgularda normal iyileşme sürecinde artmış olduğuna dair birçok veri mevcuttur (Sprenger et al., 1996). Paul ve ark. (2003) yaptığı deneysel bir çalışmada IL-6'nın antiinflamatuvar etki gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada inflamasyonun var olduğu olaylarda dokularda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 çalışılmış ve IL-6'nın tanı değeri en yüksek olarak tespit edilmiştir (Vázquez et al., 2012). TNF- α monositler, makrofajlar, mikrogial hücreler, astrositler ve endotel hücreleri tarafından üretilmektedir (Van Furth et al., 1996). Beyin hasarının yaşandığı menenjit vakaları üzerine yapılan bir çalışmada çocuklarda menenjitte TNF- α seviyeleri menenjit olmayan hastalara göre belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur (Taskın et al., 2004; Mukai et al., 2006). Yapılan bir diğer çalışmada TNF- α 'nın mononükleer hücrelerde hızlı apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (Kawakami et al., 2011). Ayrıca çalışmalarda TNF- α düzeyleriyle lökosit, protein ve glukoz seviyeleriyle ilişkili bulunmuştur (Mukai et al., 2006). Bizim çalışmamızda Sisplatin uygulanmış ratların karaciğer dokularında TNF- α ekspresyonu, Sisplatin grubunda şiddetli düzeyde iken Fraksin tedavisine bağlı olarak Fraksin+Sisplatin grubunda daha hafif düzeyde olduğu görülmüştür.

SOR'lar oksidatif strese neden olarak radikalik zincir reaksiyonlarını başlatırlar. Bunun sonucunda başta kanser olmak üzere, kalp-damar hastalıkları ve şeker

hastalığı gibi hastalıklar ortaya çıkar. Antioksidanlar, bu serbest radikallerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırırlar (Karaman 2008). Antioksidanlar, hücrelere zarar veren prooksidanları büyük ölçüde indirgeyerek toksik olmayan ürünlere dönüştürmektedirler. Prooksidanlar serbest radikaller, reaktif oksijen ve azot türleri olarak tanımlanır. Antioksidanlar, yağların oksidasyonunu önlemeyi ve/veya yavaşlatmayı sağlarlar. Gıdalardaki antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu engelleyici veya mevcut olan serbest radikalleri etkisiz hale getirci özelliğe sahiptir (Floyd 1990). Flavonoid grubuna ait olan kumarinler, polifenol yapıdadır ve serbest radikaller ile reaksiyona girerek, daha kararlı ürünler oluşturarak hidroperoksit oluşumunu engellerler. Sentetik ve/veya doğal yapıda olabilirler (Vardar 2012). Sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkilere sahip olması nedeniyle, doğal antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Antioksidan olarak fenolik bileşiklerin kanser, kalp hastalıkları, göz hastalıkları, yaşlılık hastalıkları vb. birçok hastalığı engelleyebildiği ifade edilmektedir. Bu nedenle fenolik madde içeriği yüksek olan meyve ve sebze tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azaltmakta ve sağlığı olumlu yönde etkilemektedir (Nizamlioglu ve Sebahattin 2010). Suda çözünen zincir kırıcı antioksidan olan C vitamini, $O_2^{\bullet}$ ve $^{\bullet}OH$ radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Vitamin C' nin oksidasyonu ile doğrudan H_2O_2 de meydana gelebilir (Niki 1987). Oral vitamin E' nin yüksek dozlarının profilaktik olarak besinlerle verilmesinin, kronik CCl_4 uygulanmasıyla oluşan karaciğer hasarından ratları koruduğu da gösterilmiştir (Urano and Matsuo 1989). Bundan yola çıkılarak, C vitamini ve E vitamininin CCl_4 ' e bağlı karaciğer toksisitesine karşı karaciğeri koruyucu etkiye sahip oldukları, C vitamini ve E vitamininin karaciğer üzerindeki koruyucu etkilerinin antioksidan özelliklerinden kaynaklandığı söylenebilir (Brattin et al., 1985; Sinclair et al. 1990; Bekerecioğlu vd 1998). Resveratrol bitkilerde ve meyvelerde bulunabilen antioksidan bir üründür (Çetin et al., 2006). Şimşek ve ark. (2003) çalışmalarında resveratrol' ün Sisplatin ototoksitesinde etkin olduğunu ortaya koymuşlardır (Şimşek et al., 2013). Antioksidan etkinliği bildirilen N-asetilsisteinin de Sisplatin ototoksitesini önleyebildiği bir çalışmada gösterilmiştir (Dickey et al., 2005). Ancak sodyum tiosülfat gibi N-asetilsisteinin de antineoplastik Sisplatin aktivitesini azaltılabileceği bildirilmiştir (Muldoon et al., 2000).

Kumarinler bitkilerden elde edilen bileşiklerdir. Farmakolojik olarak flavanoid grubuna dahildirler. Birçok kumarin türevi doğal olarak elde edilmektedir (Jesus 1982). Bitkilerden oluşturulan doğal kumarinler, sentetik ve yarı sentetik kumarin türevleri olarak ikiye ayrılır. Kumarin türevlerinin sahip olduğu biyolojik etkinlik sonucunda ilaç endüstrinde (Ito et al., 2003), parfümlerde, temizlik ürünlerinde ve gıdalarda hoş kokusu nedeniyle ve tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır (Lacy and O'kenney 2004). Kumarinlerin yıllarca farmakolojik özellikleri ve antioksidan özellikleri incelenmiştir. Kumarinlerin bitki biyokimyası ve fizyolojisinde, antioksidan gibi hareket etme, enzim inhibitörü, toksik maddeleri önleme gibi önemli etkileri gözlenmiştir. Kumarinler, antienflamatuar, antioksidan, antialerjik, antitrombotik, antiviral, karaciğer koruyucu ve antikanserojen aktivite gösterme özellikleriyle tanımlanmaktadır. Bu yüzden ilaç endüstrisinde iyi bir potansiyel göstermektedirler (Vardar 2012). Hidrokumarinler tipik fenolik bileşiklerdir. Güçlü metal şelasyonu ve serbest radikal toplayıcılar şeklinde hareket ederler. Bunlar güçlü zincir kırıcı antioksidanlardır (Kostova 2006).

Schempp ve arkadaşları (2000) yaptığı çalışmada Fraksin' in bir kumarin glikoziti olduğunu ve atkestanesinin kabuğunda bulunduğunu göstermiş ve antioksidan özelliğini kanıtlanmıştır (Schempp et al., 2000). Bir başka çalışmada Fraksin' in nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar gibi analjezik etki gösterdiğini kanıtlanmıştır (Klein-Galczinsky 1999). Önceki araştırmalar ayrıca, bazı bitkilerden izole edilen Fraksin' in çeşitli aktiviteler gösterdiğini ileri sürmüş ve Fraksin' in anti-inflamatuar ve antimetastatik özelliklere sahip olduklarını göstermiştir (Ivanovska et al., 1994). Whang ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada Fraksin' in çok yüksek radikal süpürme etkisinin olduğu ve Fraksin' in antiapoptotik genleri (clusterin ve apoptoz inhibitörü 5) ve tümör süpresör genini arttırdığı farkedilmiştir. Bunun yanında Fraksin' in CAT ve SOD gibi antioksidatif mekanizmalarda yer alan biyolojik aktivitelere etkisinde anlamlı bir değişiklik saptanmazken H₂O₂ aracılı oksidatif strese, lipid peroksidasyona karşı koruyucu etkisi olduğunda açıklanmıştır (Whang et al., 2005).

Çalışmamızda kullandığımız Fraksin' in, Sisplatin' in neden olduğu toksik karaciğer hasarının Fraksin ile önlenip önlenemeyeceğini belirten bir literatür tespit edilememiştir. Bizim çalışmamızda sıçanlara bir hafta boyunca 40 mg/kg dozda ve

oral olarak Fraksin uygulandı. Biyokimyasal değerlendirmeler sonunda karaciğer dokusunda lipid peroksidasyon grtergesi MDA düzeyinin kontrol grubuna azaldığı, buna karşılık GSH düzeyi, SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerinin arttığı gözlendi. Ayrıca Caspase-3 ve TNF- α ekspresyonun seviyesinde Fraksin tedavisine bağlı olarak azaldığı görüldü. Dahası Sisplatin uygulamasına bağlı olarak şekillenen hepatositlerde hidropik dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon, koagulasyon nekrozu ve hiperemi gibi patolojik göstergelerin Fraksin tedavisi ile hafıflediği de histopatolojik olarak gösterildi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda Sisplatin ile indüklenen oksidatif stres sonucunda lipid peroksidasyonun temel belirteçlerinden olan MDA' nın Sisplatin grubunda arttığını gözlemlerken aynı zamanda Fraksin tedavisine bağlı olarak MDA seviyesinin azaldığını saptadık.
2. Nonenzimatik antioksidan olan GSH seviyesi ve enzimatik antioksidan olan SOD aktivitesinin, Sisplatin ile indüklenen oksidatif stres nedeniyle azaldığını; bir kumarin glikoziti olan Fraksin' in verilmesi ile Sisplatin grubuna göre anlamlı olarak SOD aktivitesi ve GSH düzeyinin arttığını gözlemledik.
3. Antioksidan enzimlerden GPx ve CAT aktivitesinde ise, kontrol grubuna göre Fraksin grubunda artış gözlenirken, Sisplatin grubunda azaldığı belirlenmiştir.
4. Histopatolojik olarak karaciğer dokusu incelendiğinde Sisplatin grubunda şiddetli düzeyde özellikle asinar ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon, koagulasyon nekrozu, snüzoidlerde dilatasyon ve hiperemi tespit edilmiştir.
5. Karaciğer dokusu incelenmeye devam edildiğinde Fraksin+Sisplatin grubunda hafif düzeyde özellikle asinar ve midzomal bölgede hepatositlerde hidropik dejenerasyon, koagulasyon nekroz ve hiperemiye rastlanmıştır.
6. İmmunohistokimyasal olarak karaciğer dokusu değerlendirildiğinde ise Kontrol grubunda TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonunun negatif olduğu ancak Sisplatin grubunda şiddetli düzeyde TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonu gözlenmiştir.
7. Ayrıca Fraksin+Sisplatin grubu hepatositlerde ise hafif düzeyde TNF- α ve Caspase-3 ekspresyonu tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar göstermektedir ki Sisplatin tarafından indüklenen karaciğer hasarın da Fraksin' in antioksidan, antienflamatuar, antiapoptotik etkiler göstererek serbest radikal oluşumunu azalttığı, apoptotik ve enflamatuar yanıtı azaltarak karaciğer dokusunu Sisplatin kaynaklı oksidatif hasarakarşı korumada oldukça

etkili olduğu biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik bulgularımızla ortaya konmuştur. Sisplatin uygulamasıyla meydana gelen hepatotoksik etkilerin azaltılmasında Fraksin' in Sisplatin tedavisinde destek bir tedavi olarak kullanılabileceği düşüncesindeyiz. Fraksin' in klinikte sıklıkla tercih edilen Sisplatin tedavisinde destekleyici tedavi amacıyla kullanılabilmesi için daha ileri klinik çalışmaların yapılması gerekliliğini vurgulamakta yarar görmekteyiz.



KAYNAKÇA

- Abbas, A., Lichtman, A. and Pober, J. 1994. Functional anatomy of local and systemic immune responses. Cellular and Molecular Immunology, 2nd ed., Edition: B. Wolach. Saunders Company, Philadelphia, 222-236.
- Abdel-Wahhab, M. A. and Aly, S. E. 2003. Antioxidants and radical scavenging properties of vegetable extracts in rats fed aflatoxin-contaminated diet. Journal of agricultural and food chemistry, 51(8), 2409-2414.
- Adams, J. M. and Cory, S. 2001. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. Trends in biochemical sciences, 26 (1), 61-66.
- Adrain, C. and Martin, S. J. 2001. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. Trends in biochemical sciences, 26 (6), 390-397.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymology, 105, 121-126.
- Afford, S. and Randhawa, S. 2000. Apoptosis. Molecular Pathology, 53 (2), 55-63.
- Akkuş, İ. 1996. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, 3-95, Konya.
- Aksoy, Y. 2002. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 22 (4), 442-448.
- Al-Majed, A. A. 2007. Carnitine Deficiency Provokes Cisplatin-Induced Hepatotoxicity in Rats. Basic & clinical pharmacology & toxicology, 100 (3), 145-150.
- Alghool, S. 2010. Metal complexes of azo coumarin derivative: synthesis, spectroscopic, thermal, and antimicrobial studies. Journal of Coordination Chemistry, 63 (18), 3322-3333.
- Ali, B. H. and Al Moundhri, M. S. 2006. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. Food and chemical toxicology, 44 (8), 1173-1183.
- Ali, N., Rashid, S., Nafees, S., Hasan, S. K., and Sultana, S. 2014. Beneficial effects of Chrysin against Methotrexate-induced hepatotoxicity via attenuation of oxidative stress and apoptosis. Molecular and cellular biochemistry, 385 (1-2), 215-223.

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90 (17), 7915-7922.
- Anderson, W. H., Davidson, T. M. and Broide, D. H. 1996. Mast cell TNF mRNA expression in nasal mucosa demonstrated by in situ hybridization: a comparison of mast cell detection methods. *Journal of immunological methods*, 189 (2), 145-155.
- Arteel, G. E. and Sies, H. 2001. The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (4), 153-158.
- Aslan, R., Şekeroğlu, M. and Bayiroğlu, F. 1995. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2, 137-142.
- Ateşşahin, A., Karahan, I., Türk, G., Gür, S. Yılmaz, S. and Çeribaşı, A. O. 2006. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reproductive Toxicology*, 21 (1), 42-47.
- Babior, B. M. 2000. Phagocytes and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 109 (1), 33-44.
- Basaga, H. 1990. Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*, 68 (7-8), 989-998.
- Başardı, A. 2006. Doksorubisin ve Asetilsalik Asit Verilmiş Farelerde (Mus musculus) Karaciğerde Oluşan Histolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu Düzeyinde Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Beijersbergen, J. and Lemmers C. B. 1972. Enzymic and non-enzymic liberation of tulipalin A (α -methylene butyrolactone) in extracts of tulip. *Physiological Plant Pathology*, 2 (3), 265-270.
- Bekerecioğlu, M., Uğraş, S., Dilek, O., Tercan, M. and Özyazgan, İ. 1998. Serbest radikaller. *Sendrom*, 10 (3), 85-94.
- Belfield, K. D., Corredor, C. C., Morales, A. R., Dessources M. A. and Hernandez, F. E. 2006. Synthesis and characterization of new fluorene-based singlet oxygen sensitizers. *Journal of fluorescence*, 16 (1), 105-110.

- Bienvenu, J. 1995. Exploration of cytokines in inflammation in biological fluids. *Comptes rendus des seances de la Societe de biologie et de ses filiales*, 189 (4), 545-555.
- Blumberg, J. 2004. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *The Journal of nutrition*, 134 (11), 3188S-3189S.
- Bouscary, D., Chen, Y. L., Guesnu, M., Picard, F., Viguier, F. Lacombe, C., Dreyfus, F. and Fontenay-Roupie, M. 2000. Activity of the caspase-3/CPP32 enzyme is increased in “early stage” myelodysplastic syndromes with excessive apoptosis, but caspase inhibition does not enhance colony formation in vitro. *Experimental hematology*, 28 (7), 784-791.
- Brattin, W. J., Glende, E. A. and Recknagel, R. O. 1985. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Journal of free radicals in biology & medicine*, 1 (1), 27-38.
- Büyükokuroglu, M. E., Gülçin, İ., Oktay, M. and Küfrevioğlu, Ö. İ. 2001. In vitro antioxidant properties of dantrolene sodium. *Pharmacological Research*, 44 (6), 491-494.
- Cai, L., Li, W., Wang, G., Guo L., Jiang, Y. and Kang, Y. J. 2002. Hyperglycemia-induced apoptosis in mouse myocardium: mitochondrial cytochrome C-mediated caspase-3 activation pathway. *Diabetes*, 51 (6), 1938-1948.
- Campos, L., Rouault, J.P., Sabido, O., P., Oriol, N., Roubi, C., Vasselon, E., Archimbaud, Magaud, J. and Guyotat, D. 1993. "High expression of bcl-2 protein in acute myeloid leukemia cells is associated with poor response to chemotherapy. *Blood*, 81 (11), 3091-3096.
- Chang, B. Y., Jung, Y. S. Yoon, C. S., Oh, J. S., Hong, J. H., Kim, Y. C. and Kim, S. Y. 2017. Fraxin Prevents Chemically Induced Hepatotoxicity by Reducing Oxidative Stress. *Molecules*, 22 (4), 587.
- Chang, H. Y. and Yang, X. 2000. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases. *Microbiology and molecular biology reviews*, 64 (4), 821-846.
- Cheeseman, K. and Slater, T. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49 (3), 481-493.

- Chen, Y., Williams, J., Ding, I., Hernady, E., Liu, W., Smudzin, T., Finkelstein, J. N., Rubin, P. and Okunieff, P. 2002. Radiation pneumonitis and early circulatory cytokine markers. *Seminars in radiation oncology*, 12, 26-33.
- Choudhary, A. and Verma, R. 2005. Ameliorative effects of black tea extract on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the liver of mice. *Food and chemical toxicology*, 43 (1), 99-104.
- Clerici, W. J., Hensley, K., DiMartino, D. L. and Butterfield, D. A. 1996. Direct detection of ototoxicant-induced reactive oxygen species generation in cochlear explants. *Hearing research*, 98 (1), 116-124.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. and Lunec, J. 2003. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17 (10), 1195-1214.
- Copray, J., Mantingh, I., Brouwer, N., Biber, K., Küst, B., Liem, R., Huitinga, I., Tilders, F., Van Dam, A. M. and Boddeke, H. 2001. Expression of interleukin-1 beta in rat dorsal root ganglia." *Journal of neuroimmunology*, 118 (2), 203-211.
- Cornette, L. 2004. Fetal and neonatal inflammatory response and adverse outcome. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, Elsevier.
- Coşkun, G. and Özgür, H. 2011. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20 (3).
- Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L., McCORD, J. M. and Harman, D. 1987. Oxygen radicals and human disease. *Annals of internal medicine* 107 (4), 526-545.
- Cvitkovic, E., Spaulding, J., Bethune, V., Martin, J. and Whitmore, W. F. 1977. Improvement of Cis-dichlorodiammineplatinum (NSC 119875): Therapeutic index in an animal model. *Cancer*, 39 (4), 1357-1361.
- Çamur, M. 2005. Bazı 4-Hidroksifenilasetikasit Türevi Ftalosiyanın Metal Komplekslerinin Sentezi ve Yapılarının Spektroskopik Yöntemlerle Aydınlatılması. Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Çaylak, E. 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.

- Çetin, R., Devrim, E., Kılıçoğlu, B., Avcı, A., Çandır, Ö. and Durak, İ. 2006. Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. *Journal of Applied Toxicology*, 26 (1), 42-46.
- Damjanov, I., Linder, J. 1996. *Anderson's Pathology*, 10. Edition, St Louis, Mosby Company.
- De Jong, A. L., Green, D. M., Trial, J. and Birdsall, H. 1996. Focal effects of mononuclear leukocyte transendothelial migration: TNF-alpha production by migrating monocytes promotes subsequent migration of lymphocytes. *Journal of leukocyte biology*, 60 (1), 129-136.
- De Martinis, B. S. and Bianchi, M. D. P. 2002. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. *Pharmacological research*, 46 (2), 129-131.
- Demir, M., Vural, C. D., Yılmaz, N., Yüksel, Ş., Vural, H. and Sezer, M. T. 2007. Tek seans hemodiyalizinde çeşitli oksidatif stres markerleri üzerine etkisi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 5 (2), 74-77.
- Derviş, E. 2011. Oral antioksidanlar. *Dermatoz*, 2 (1), 263-267.
- Devasagayam, T., Boloor, K. and Ramasarma, T. 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. *Indian journal of biochemistry & biophysics*, 40 (5), 300-308.
- Dickey, D. T., Wu, Y. J., Muldoon, L. L. and Neuwelt, E. A. 2005. Protection against cisplatin-induced toxicities by N-acetylcysteine and sodium thiosulfate as assessed at the molecular, cellular, and in vivo levels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 314 (3), 1052-1058.
- Diplock, A. 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. *ILSI Europe concise monograph series*, 59.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., and Rodriguez, H. 2002. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement 1, 2. *Free Radical Biology and Medicine*, 32 (11), 1102-1115.
- Doğru-Abbasoğlu, S., Balkan, J., Kanbağlı, Ö., Çevikbaş, U., Aykaç-Toker, G. and Uysal, M. A. 2004. N-Asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer

- hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. Kocatepe Tıp Dergisi, 5, 27-32.
- Einhorn, L. H. 2002. Curing metastatic testicular cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99 (7), 4592-4595.
- Eken, A. 2010. Rat kan ve doku örneklerinde oksidatif stres parametreleri. Journal of Clinical and Analytical Medicine, 69-75.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö. İ., and Aboul-Enein, H. Y. 2006. A study on the in vitro antioxidant activity of juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. Analytical letters, 39 (1), 47-65.
- Engin, K. ve Özyardımcı, N. 2001. Akciğer Kanseri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar. 1. Baskı, Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Şti., İstanbul, 135-183.
- Erdlenbruch, B., Pekrun, A., Roth, C., Grunewald, R. W., Kern, W. and Lakomek, M. 2001. Cisplatin nephrotoxicity in children after continuous 72-h and 3× 1-h infusions. Pediatric Nephrology, 16 (7), 586-593.
- Eren, M., Saltık-Temizel, İ. N., Koçak, N. 2004. İlaça Bağlı hepatoksisite. Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi, 47.
- Erenel, G., Erbaş, D. and Arıcıoğlu, A. 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi medical journal, 3 (4).
- Fenoglio, C., Boncompagni, E., Chiavarina B., Cafaggi, S., Cilli, M. and Viale M. 2005. Morphological and histochemical evidence of the protective effect of procainamide hydrochloride on tissue damage induced by repeated administration of low doses of cisplatin. Anticancer research, 25 , 123-4128.
- Floyd, R. A. 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. The FASEB journal, 4 (9), 2587-2597.
- Friesen, C., Herr, I., Krammer, P. H. and Debatin, K.M. 1996. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor/ligand system in drug-induced apoptosis in leukemia cells. Nature medicine, 2 (5), 574-577.
- Fylaktakidou, K. C., Hadjipavlou-Litina, D. J., Litinas, K. E. and Nicolaides, D. N. 2004. Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. Current pharmaceutical design, 10 (30), 3813-3833.

- Gardner, R. V., McKinnon, E., Poretta, C. and Leiva, L. 2003. Hemopoietic function after use of IL-1 with chemotherapy or irradiation. *The Journal of Immunology*, 171 (3), 1202-1206.
- Gilman, A. 1963. The initial clinical trial of nitrogen mustard. *The American Journal of Surgery*, 105 (5), 574-578.
- Go, R. S. and Adjei, A. A. 1999. Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *Journal of Clinical Oncology*, 17 (1), 409-422.
- Golstein, P. and Kroemer, G. 2007. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends in biochemical sciences*, 32 (1), 37-43.
- Göçer, H. and Gülçin, İ. 2011. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): correlation of structure and antioxidant properties. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62 (8), 821-825.
- Göncü, N. E. 2001. Apoptozisin Morfolojik, Biyokimyasal ve Moleküler İşaretleri." *Arşiv Dergisi*, 10 (3), 292-305.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G. 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood. *Clinical Chemistry*, 37 (11), 1932-1937.
- Gulcin, I. 2006. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences*, 78 (8), 803-811.
- Gulcin, I., Buyukokuroglu, M. E., Oktay, M. and Kufrevioglu, O. I. 2002. On the in vitro antioxidative properties of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 33 (3): 167-171.
- Gülçin, I. 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa. *Amino acids*, 32 (3), 431.
- Gülçin, İ. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217 (2-3), 213-220.
- Gülçin, İ. 2010. Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (1), 210-218.
- Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M. and Gören, A. C. 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (8-9), 2227-2238.

- Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ. and Aslan, A. 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79 (3), 325-329.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Bilsel, M., Gören, A. C. and Erdogan, U. 2011. Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis, and antioxidant properties of domesticated and 3 wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). *Journal of food science*, 76 (4).
- Güleç, M., Yılmaz, H. R., Iraz, M., Ağlamış, S. and Söğüt, S. (2004). Sisplatin Nefrotoksitesisi Oluşturulan Sıçanların Plazma Glutasyon Peroksidaz, Süperoksit Dismutaz, Adenozin Deaminaz Aktiviteleri ve Nitrik Oksit Seviyelerine Ginkgo Biloba Ekstraktının Etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 24 (6), 585-591.
- Güner, İ., Özmen D. and Bayındır, O. 1997. Sitokinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 17 (2), 65-74.
- Hall, J. E. 2013. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*, 12th Edition. Nobel Tıp Kitapevleri/Elsevier, İstanbul/London.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The lancet*, 344 (8924), 721-724.
- Halliwell, B. and Chirico, S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition*, 57 (5), 715-724.
- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge 2007. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford University Press, USA.
- Hasegawa, T., F. Kaneko and Y. Niwa (1992). Changes in lipid peroxide levels and activity of reactive oxygen scavenging enzymes in skin, serum and liver following UVB irradiation in mice. *Life sciences*, 50 (24), 1893-1903.
- Helbock, H. J., Beckman, K. B. and Ames, B. N. 1999. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage." *Methods in enzymology*, 300, 156-166.
- Hinder, R. A. and Stein, H. J. 1991. Oxygen-derived free radicals. *Archives of Surgery*, 126 (1), 104-105.

- Hughes, F. M. and Gorospe, W. C. 1991. Biochemical identification of apoptosis (programmed cell death) in granulosa cells: evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*, 129 (5), 2415-2422.
- Ince, S., Keles, H., Erdogan, M., Hazman, O. and Kucukkurt, I. 2012. Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride–induced hepatotoxicity in mice. *Drug and chemical toxicology*, 35 (3), 285-292.
- Iraz, M., Ozerol, E., Gulec, M., Tasdemir, S., Idiz, N., Fadillioglu, E., Naziroglu, M. and Akyol, O. 2006. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. *Cell biochemistry and function*, 24 (4), 357-361.
- İşeri, S., Ercan, F., Gedik, N., Yüksel, M. and Alican, I. 2007. Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Toxicology*, 230 (2), 256-264.
- Ito, C., Itoigawa, M., Mishina, Y., Filho, V. C., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H. and Furukawa, H. 2003. Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*. 2. Structure of three new coumarins and cancer chemopreventive activity of 4-substituted coumarins. *Journal of natural products*, 66 (3), 368-371.
- Ivanovska, N., Yossifova, T., Vassileva, E. and Kostova, I. 1994. Effect of some hydroxycoumarins on complement-mediated hemolysis in human serum. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 16 (8), 557-562.
- Ivanovska, N., Yossifova, T., Vassileva, E. and Kostova, I. 1994. Effect of some hydroxycoumarins on complement-mediated hemolysis in human serum. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, 16 (8), 557-562.
- Jesus, M. 1982. *The Natural Coumarins: Occurrence Chemistry and Biochemistry*, John Wiley and Sons.
- Jingushi, S., Heydemann, A., Kana, S., Macey, L. and Bolander, M. 1990. Acidic fibroblast growth factor (aFGF) injection stimulates cartilage enlargement and inhibits cartilage gene expression in rat fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research*, 8 (3), 364-371.

- Junqueira, L. C., Carneiro, J. and Kelley, R. O. 1992. Basic Histology. Seventh Edition. New Jersey, Prentice Hill International Inc.
- Karaduman, D. 2006. Beta-glukan ve taksol etkisiyle fare (*Mus musculus*) karaciğerinde oluşan histolojik değişikliklerin ışık mikroskobu düzeyinde araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Karaman, Ş. 2008. Türkiye’de yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan özellik gösteren başlıca bileşenlerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü: 12-19, İstanbul.
- Kavas, G. Ö. 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 9 (1), 1-8.
- Kawakami, Y., Tsukimoto, M., Kuwabara, K., Fujita, T., Fujino, O., Kojima S. and Fukunaga, Y. 2011. Tumor necrosis factor- α -induced mononuclear cell death may contribute to polymorphonuclear cell predominance in the cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. Journal of Nippon Medical School, 78 (6), 360-366.
- Kayaalp, S. O. 2012. Tıbbi Farmakoloji. Ankara, Pehlivan yayıncılık Ltd. Şti.
- Kelland, L. 2007. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. Nature Reviews Cancer, 7 (8), 573-584.
- Kılınç, K. 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi, 33 (2), 110-118.
- Kimura, Y. and Sumiyoshi, M. 2015. Antitumor and antimetastatic actions of dihydroxycoumarins (esculetin or fraxetin) through the inhibition of M2 macrophage differentiation in tumor-associated macrophages and/or G 1 arrest in tumor cells. European journal of pharmacology, 746, 115-125.
- Kintzel, P. E. 2001. Anticancer drug—induced kidney disorders. Drug safety, 24 (1), 19-38.
- Klein-Galczinsky, C. 1998. Pharmacological and clinical effectiveness of a fixed phytogetic combination trembling poplar (*Populus tremula*), true goldenrod (*Solidago virgaurea*) and ash (*Fraxinus excelsior*) in mild to moderate

- rheumatic complaints. Wiener medizinische Wochenschrift, 149 (8-10), 248-253.
- Klein-Galczinsky, C. 1999. Pharmacological and clinical effectiveness of a fixed phytogenic combination trembling poplar (*Populus tremula*), true goldenrod (*Solidago virgaurea*) and ash (*Fraxinus excelsior*) in mild to moderate rheumatic complaints." Wiener medizinische Wochenschrift, 149 (8-10), 248-253.
- Koc, A., Duru, M., Ciralik, H., Akcan, R. and Sogut, S. 2005. Protective agent, erdosteine, against cisplatin-induced hepatic oxidant injury in rats. Molecular and cellular biochemistry, 278 (1), 79-84.
- Koca, N. and Karadeniz, F. 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. Gıda Mühendisliği Dergisi, 16, 32-37.
- Koçkar, Ö. M. 1989. Atkestanesi ekstraksiyonu ve essin izolasyonu, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Koçtürk, S. 2009. Oksidatif hasar/Apoptoz. Biokimya AD Retrieved 24.10.2017.
- Koide, M., Murase, Y., Yamato, K., Noguchi, T., Okahashi, N. and Nishihara, T. 1999. Bone morphogenetic protein-2 enhances osteoclast formation mediated by interleukin-1 α through upregulation of osteoclast differentiation factor and cyclooxygenase-2. Biochemical and biophysical research communications, 259 (1), 97-102.
- Koistinaho, J. and Hökfelt, T. 1997. Altered gene expression in brain ischemia. Neuroreport, 8 (2), 1-8.
- Koleske, A. J. and Young, R. A. 1994. An RNA polymerase II holoenzyme responsive to activators. Nature, 368 (6470), 466-469.
- Kostova, I. 2001. *Fraxinus ornus* L. Fitoterapia, 72 (5), 471-480.
- Kostova, I. 2006. Synthetic and natural coumarins as antioxidants. Mini reviews in medicinal chemistry, 6 (4) 365-374.
- Krajewska, M., Wang, H. G., Krajewski, S., Zapata, J. M., Shabaik, A., Gascoyne, R. and Reed, J. C. 1997. Immunohistochemical analysis of in vivo patterns of expression of CPP32 (Caspase-3), a cell death protease. Cancer research, 57 (8), 1605-1613.

- Kroemer, G. and Reed, J. C. 2000. Mitochondrial control of cell death. *Nature medicine*, 6 (5), 513-519.
- Kruszewski, M. 2003. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 531 (1), 81-92.
- Kuhlmann, M., Burkhardt, G. and Köhler, H. 1997. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association*, 12 (12), 2478-2480.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N. and Aster, J. C. 2014. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition E-Book*, Elsevier Health Sciences.
- Kumar, V., Cotran, R. and Robbins, S. 1999. *Basic Pathology*, WD Saunders Company, Çeviri: Çevikbaş, U. 2000. *Temel Patoloji*, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti, 4-24.
- Kültürsay, N. 2003 Fetal ve neonatal proenflamatuar sitokin yanıtı-perinatal beyin ve akciğer zedelenmesi ile ilişkisi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 46, 299-307.
- Lacy, A. and O'kenedy, R. 2004. Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current pharmaceutical design*, 10 (30), 3797-3811.
- LeBlanc, A., Liu, H., Goodyer, C., Bergeron, C. and Hammond, J. 1999. Caspase-6 role in apoptosis of human neurons, amyloidogenesis, and Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry*, 274 (33), 23426-23436.
- Lebwohl, D. and Canetta, R. 1998. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *European Journal of Cancer*, 34 (10), 1522-1534.
- Links, M. and Lewis, C. 1999. Chemoprotectants. *Drugs*, 57 (3), 293-308.
- Liu, C., Lian, F., Smith, D. E., Russell, R. M. and Wang, X.D. 2003. Lycopene supplementation inhibits lung squamous metaplasia and induces apoptosis via

- up-regulating insulin-like growth factor-binding protein 3 in cigarette smoke-exposed ferrets. *Cancer Research*, 63 (12), 3138-3144.
- Liu, F., Cao, X., Wang, H. and Liao, X. 2010. Changes of tomato powder qualities during storage. *Powder Technology*, 204 (1), 159-166.
- López-Cortés, L. F., Marquez-Arbizu, R., Jimenez-Jimenez, L. M., Jimenez-Mejías, E., Caballero-Granado, F. J., Rey-Romero, C., Polaina, M. and Pachón, J. 2000. Cerebrospinal fluid tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , interleukin-6, and interleukin-8 as diagnostic markers of cerebrospinal fluid infection in neurosurgical patients. *Critical care medicine*, 28 (1), 215-219.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), 265-275.
- Mahady, G., Fong, H. and Farnsworth, N. 2001. St. John's wort. Botanical dietary supplements: quality, safety and efficacy. Lisse, The Netherlands: Swets & Zeitlinger BV, 245-261.
- Male, D., Champion, B. and Cooke, A. 1987. *Advanced immunology*, Gower Medical Publishing.
- Mansour, H. H., Hafez, H. F. and Fahmy, N. M. 2006. Silymarin modulates cisplatin-induced oxidative stress and hepatotoxicity in rats. *Journal of biochemistry and molecular biology*, 39 (6), 656.
- Marnett, L. J. 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21 (3), 361-370.
- Martins, N., Santos, N., Curti, C., Bianchi, M. and Santos, A. 2008. Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. *Journal of Applied Toxicology*, 28 (3), 337-344.
- Masuda, H., Tanaka, T. and Takahama, U. 1994. Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. *Biochemical and biophysical research communications*, 203 (2), 1175-1180.
- Matsushima, H., Yonemura, K., Ohishi, K. and Hishida, A. 1998. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 131 (6), 518-526.

- Mercan, U. 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 15 (1), 91-96.
- Miyashita, T., Krajewski, S., Krajewska, M., Wang, H. G., Lin, H., Liebermann, D. A., Hoffman, B. and Reed, J. C. 1994. Tumor suppressor p53 is a regulator of bcl-2 and bax gene expression in vitro and in vivo. *Oncogene*, 9 (6), 1799-1805.
- Moslen, M. T. (1994). Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. *Free radicals in diagnostic medicine*, Springer, 17-27.
- Mountz, J. D., Zhou, T. 2001. Apoptosis and autoimmunity. In: Kopman WJ (Ed.), *A Textbook of Rheumatology: Arthritis and allied conditions*. Lippincott-Williams & Wilkins, Pennsylvania, USA.
- Mukai, A. O., Krebs, V. L., Bertoli, C. J. and Okay, T. S. 2006. TNF- α and IL-6 in the diagnosis of bacterial and aseptic meningitis in children. *Pediatric neurology*, 34 (1), 25-29.
- Muldoon, L. L., Pagel, M. A., Kroll, R. A., Brummett, R. E., Doolittle, N. D., Zuhowski, E. G., Egorin, M. J. and Neuwelt, E. A. 2000. Delayed administration of sodium thiosulfate in animal models reduces platinum ototoxicity without reduction of antitumor activity. *Clinical Cancer Research*, 6 (1), 309-315.
- Nagi, M. N. and Almakki, H. A. 2009. Thymoquinone supplementation induces quinone reductase and glutathione transferase in mice liver: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Phytotherapy research*, 23 (9), 1295-1298.
- Namura, S., Zhu, J., Fink, K., Endres, M., Srinivasan, A., Tomaselli, K. J., Yuan, J. and Moskowitz, M. A. 1998. Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience*, 18 (10), 3659-3668.
- Nazıroğlu, M., Karaoğlu, A. and Aksoy, A. O. 2004. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*, 195 (2), 221-230.
- Nicotera, P. and G. Melino 2004. Regulation of the apoptosis–necrosis switch. *Oncogene*, 23 (16), 2757-2765.

- Niki, E. 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44 (2-4), 227-253.
- Nizamlioğlu, N. M. and Sebahattin, N. 2010. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5 (1), 20-35.
- Niu, X., Liu, F., Li, W., Zhi, W., Yao, Q., Zhao, J., Yang, G., Wang, X., Qin, L. and He, Z. 2017. Hepatoprotective effect of fraxin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in vitro and in vivo through regulating hepatic antioxidant, inflammation response and the MAPK-NF-κB signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 95, 1091-1102.
- Nordberg, J. and Arnér, E. S. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31 (11), 1287-1312.
- Noronha, I., Niemir, Z., Stein, H. and Waldherr, R. 1995. Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 10 (6), 775-786.
- Nororiha, I., Niemir, Z., Stein, H., Waldher, R. 1995. Cytokines and growth factors in renal disease: *Nephrol Dial Transplant*, 10, 775-786.
- Noveroske, R., Kuc, J., and Williams, E. 1964. "Oxidation of Phloridzin+ Phloretin Related to Resistance of Malus to Venturia Inaequalis. *Phytopathology*, 54 (1), 92.
- Ozden, M., Maral, H., Akaydın, D., Cetinalp, P. and Kalender, B. 2002. Erythrocyte glutathione peroxidase activity, plasma malondialdehyde and erythrocyte glutathione levels in hemodialysis and CAPD patients. *Clinical biochemistry*, 35 (4), 269-273.
- Ozkan, A. and Fiskin, K. 2004. Free radicals, carcinogenesis and antioxidant enzymes. *Turkish Journal of Hematology*, 14, 52-60.
- Öztürk, F. 2002. Apoptoz. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9 (2), 143-148.
- Pan, H., Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Patel, V., Mukhopadhyay, B., Gao, B., Haskó, G. and Pacher, P. 2009. Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and

- cell death. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 328 (3), 708-714.
- Paul, R., Koedel, U., Winkler, F., Kieseier, B. C., Fontana, A., Kopf, M., Hartung, H. P. and Pfister, H. W. 2003. Lack of IL-6 augments inflammatory response but decreases vascular permeability in bacterial meningitis. *Brain*, 126 (8), 1873-1882.
- Perez, C., Albert, I., DeFay, K., Zachariades, N., Gooding, L. and Kriegler, M. 1990. A nonsecretable cell surface mutant of tumor necrosis factor (TNF) kills by cell-to-cell contact. *Cell*, 63 (2) 251-258.
- Placer, Z. A., Cushman, L. L. and Johnson, B. C. 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, 16 (2), 359-364.
- Pratibha, R., Sameer, R., Rataboli, P. V., Bhiwgade, D. A. and Dhume, C. Y. 2006. Enzymatic studies of cisplatin induced oxidative stress in hepatic tissue of rats. *European journal of pharmacology*, 532 (3), 290-293.
- Rampino, N., Yamamoto, H., Ionov, Y., Li, Y., Sawai, H., Reed, J. C. and Perucho, M. 1997. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science*, 275 (5302), 967-969.
- Refat, M. S., El-Deen, I. M., Anwer, Z. M. and El-Ghol, S. 2009. Bivalent transition metal complexes of coumarin-3-yl thiosemicarbazone derivatives: Spectroscopic, antibacterial activity and thermogravimetric studies. *Journal of Molecular Structure*, 920 (1), 149-162.
- Reiter, R. J. 1998. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Progress in neurobiology*, 56 (3), 359-384.
- Roberts, A. B. and Sporn, M. B. 1993. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor- β (TGF- β). *Growth factors*, 8 (1), 1-9.
- Roberts, R. A., Laskin, D. L., Smith, C. V., Robertson, F. M., Allen, E. M., Doorn, J. A. and Slikker, W. 2009. Nitrate and oxidative stress in toxicology and disease. *Toxicological sciences*, 112 (1), 4-16.
- Sabuncuoğlu, S. and Özgüneş, H. 2011. Sisplatin Toksisitesi: Oksidatif Stresin Önemi Ve Antioksidanların Etkisi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 74, 1.

- Salahudeen, A., Badr, K., Morrow, J. and Roberts, J. 1995. Hydrogen peroxide induces 21-aminosteroid-inhibitable F2-isoprostane production and cytolysis in renal tubular epithelial cells. *Journal of the American Society of Nephrology*, 6 (4), 1300-1303.
- Sancar, A., L. A. Lindsey-Boltz, K. Ünsal-Kaçmaz and S. Linn (2004). "Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints." *Annual review of biochemistry* 73(1): 39-85.
- Sasada, T., Iwata, S., Sato, N., Kitaoka, Y., Hirota, K., Nakamura, K., Nishiyama, A., Taniguchi, Y., Takabayashi, A. and Yodoi, J. 1996. Redox control of resistance to cis-diamminedichloroplatinum (II)(CDDP): protective effect of human thioredoxin against CDDP-induced cytotoxicity. *Journal of Clinical Investigation*, 97 (10), 2268.
- Scandalios, J. G. 2002. The rise of ROS. *Trends in biochemical sciences*, 27 (9), 483-486.
- Schempp, H., Weiser, D. and Elstner, E. F. 2000. Biochemical model reactions indicative of inflammatory processes. *Arzneimittelforschung*, 50, 362-372.
- Sedlak, J. and Lindsay, R. H. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25 (1), 192-205.
- Seki, T., Joh, K. and Oh-Ishi, T. 1993. Augmented production of interleukin-8 in cerebrospinal fluid in bacterial meningitis. *Immunology*, 80 (2), 333.
- Serafini, M. and Del Rio, D. 2004. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox report*, 9 (3), 145-152.
- Seven, A. ve Candan, G. 1996. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 27, 41-50.
- Sinclair, A., Barnett, A. and Lunec, J. 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *British journal of hospital medicine*, 43 (5), 334-344.
- Southorn, P. A. and Powis, G. 1988. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clinic Proceedings*, 61, 381-389.

- Sprenger, H., Rösler, A., Tonn, P., Braune, H., Huffmann, G. and Gemsa, D. 1996. Chemokines in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Clinical immunology and immunopathology*, 80 (2), 155-161.
- Springer, J. E., Azbill, R. D., Nottingham, S. A. and Kennedy, S. E. 2000. Calcineurin-mediated BAD dephosphorylation activates the caspase-3 apoptotic cascade in traumatic spinal cord injury. *Journal of Neuroscience*, 20 (19), 7246-7251.
- Stewart, D. J., Mikhael, N., Nanji, A., Nair, R., Kacew, S., Howard, K., Hirte, W. and Maroun, J. 1985. Renal and hepatic concentrations of platinum: relationship to cisplatin time, dose, and nephrotoxicity." *Journal of Clinical Oncology*, 3 (9), 1251-1256.
- Strasser, A., O'Connor, L. and Dixit, V. M. 2000. Apoptosis signaling. *Annual Review of Biochemistry*, 69, 217-245.
- Strijdom, H., Chamane, N. and Lochner, A. 2009. Nitric oxide in the cardiovascular system: a simple molecule with complex actions. *Cardiovascular journal of Africa*, 20 (5), 303-310.
- Sueishi, K., Mishima, K., Makino, K., Itoh, Y., Tsuruya, K., Hirakata, H. and Oishi, R. 2002. Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *European journal of pharmacology*, 451 (2), 203-208.
- Sugiyama, S., Hayakawa, M., Kato, T., Hanaki, Y., Shimizu, K. and Ozawa, T. 1989. Adverse effects of anti-tumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: disturbances in glutathione peroxidase activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 159 (3), 1121-1127.
- Sun, Y., Oberley, L. W. and Li, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34 (3), 497-500.
- Şimşek, G., Tokgoz, S. A., Vuralkan, E., Caliskan, M., Besalti, O. and Akin, I. 2013. Protective effects of resveratrol on cisplatin-dependent inner-ear damage in rats. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 270 (6), 1789-1793.
- Taguchi, T., Nazneen, A., Abid, M. R. and Razzaque, M. S. 2005. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Cellular Stress Responses in Renal Diseases*, Karger Publishers,. 148, 107-121.

- Tarladaçalışır, Y. T., Uygun, M., Akpolat, M. and Uz, Y. H. 2005. E ve C Vitaminlerinin Cisplatin Hepatotoksisitesini Önlemedeki Etkilerinin Histolojik Olarak İncelenmesi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22 (3), 124-131.
- Taskın, E., Turgut, M., Kılıc, M., Akbulut, H. and Aygun, A. D. 2004. Serum procalcitonin and cerebrospinal fluid cytokines level in children with meningitis. *Mediators of inflammation*, 13 (4) 269-273.
- Thornberry, N. A. and Lazebnik, Y. 1998. Caspases: enemies within. *Science*, 281 (5381), 1312-1316.
- Toshiyuki, M. and Reed, J. C. 1995. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene. *Cell*, 80 (2), 293-299.
- Tsujimoto, Y., Yunis, J., Onorato-Showe, L., Erikson, J., Nowell, P. C. and Croce, C. M. 1984. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t (11; 14) chromosome translocation. *Science*, 224, 1403-1407.
- Tukozkan, N., Erdamar, H. and Seven, I. 2006. Measurement of total malondialdehyde in plasma and tissues by high-performance liquid chromatography and thiobarbituric acid assay. *Firat Tıp Dergisi*, 11 (2), 88-92.
- Tyler, V. E., Brady, L. R. and Robbers, J. E. 1981. *Pharmacognosy*. Lea & Febiger, Philadelphia: 520.
- Uehara, T., Yamate, J., Torii, M. and Maruyama, T. 2011. Comparative nephrotoxicity of cisplatin and nedaplatin: mechanisms and histopathological characteristics. *Journal of toxicologic pathology*, 24 (2), 87-94.
- Uozumi, J., Ueda, T., Yasumasu, T., Koikawa, Y., Naito, S., Kumazawa, J. and Sueishi, K. 1993. Platinum accumulation in the kidney and liver following chemotherapy with cisplatin in humans. *International urology and nephrology*, 25 (3), 215-220.
- Urano, S. and Matsuo, M. 1989. Membrane-Stabilizing Effect of Vitamin E. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 570 (1),: 524-526.
- Urso, M. L. and Clarkson, P. M. 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189 (1), 41-54.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39 (1), 44-84.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." *Chemico-biological interactions*, 160 (1), 1-40.
- Van Furth, A., Roord, J. J. and Van Furth, R. 1996. Roles of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in pathophysiology of bacterial meningitis and effect of adjunctive therapy. *Infection and immunity*, 64 (12), 4883.
- Van Montfoort, J. E., Hagenbuch, B., Groothuis, G. M., Koepsell, H., Meier, P. J. and Meijer, D. 2003. Drug uptake systems in liver and kidney. *Current drug metabolism*, 4 (3), 185-211.
- Vardar, B. 2012. Bazı Kumarinlerin Sentezi Ve Antioksidan Aktivitelerinin Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Vaux, D. L. and Strasser, A. 1996. The molecular biology of apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (6), 2239-2244.
- Vázquez, J. A., del Carmen Adducci, M., Coll, C., Monzón, D. G. and Iserson, K. V. 2012. Acute meningitis prognosis using cerebrospinal fluid interleukin-6 levels. *The Journal of emergency medicine*, 43 (2), 322-327.
- Wang, D. and Lippard, S. J. 2005. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4 (4), 307-320.
- Weiss, M. J. 2003. New insights into erythropoietin and epoetin alfa: mechanisms of action, target tissues, and clinical applications. *The Oncologist*, 8, 18-29.
- Whang, W. K., Park, H. S., Ham, I., Oh, M., Namkoong, H., Kim, H. K., Hwang, D. W., Hur, S. Y., Kim, T. E. and Park, Y. G. 2005. Natural compounds, fraxin and chemicals structurally related to fraxin protect cells from oxidative stress. *Experimental & molecular medicine*, 37 (5), 436-446.
- Wickens, A. P. 2001. Ageing and the free radical theory. *Respiration physiology*, 128 (3), 379-391.

- Wilkinson, J. A. and Brown, A. M. 1999. Horse Chestnut-Aesculus Hippocastanum: Potential Applications in Cosmetic Skin-care Products. *International Journal of Cosmetic Science*, 21 (6), 437-447.
- Williams, G. M. and Jeffrey, A. M. 2000. Oxidative DNA damage: endogenous and chemically induced. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32 (3), 283-292.
- Woolf, C., Allchorne, A., Safieh-Garabedian, B. and Poole, S. 1997. Cytokines, nerve growth factor and inflammatory hyperalgesia: the contribution of tumour necrosis factor α . *British journal of pharmacology*, 121 (3), 417-424.
- Wu, D. and Cederbaum, A. I. 2003. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research and Health*, 27, 277-284.
- Yakovlev, A. G., Knoblach, S. M., Fan, L., Fox, G. B., Goodnight, R. and Faden, A. I. 1997. Activation of CPP32-like caspases contributes to neuronal apoptosis and neurological dysfunction after traumatic brain injury. *Journal of Neuroscience*, 17 (19), 7415-7424.
- Yao, X., Panichpisal, K., Kurtzman, N. and Nugent, K. (2007). Cisplatin nephrotoxicity: a review. *The American journal of the medical sciences*, 334 (2), 115-124.
- Yenerman, M. 1994. Genel Patoloji. Cilt 2, Bölüm IV: Morfoloji, Nekroz, Apoptoz ve Somatik Ölüm. 3.Baskı. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Vakfı/ Nobel Tıp Kitapevi.
- Yıldırım Sözmen, E. 2002. Yaşlanma biyokimyası. İnsan biyokimyası. E. K. Onat T, Yıldırım Sözmen E. Ankara: Palme Yayıncılık: 665-674.
- Yilmaz, H. R., Sogut, S., Ozyurt, B., Ozugurlu, F., Sahin, S., Isik, B., Uz, E. and Ozyurt, H. 2005. The activities of liver adenosine deaminase, xanthine oxidase, catalase, superoxide dismutase enzymes and the levels of malondialdehyde and nitric oxide after cisplatin toxicity in rats: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Toxicology and industrial health*, 21(1-2), 67-73.
- Yılmaz, H. R., Söğüt, S., Özyurt, H., Iraz, M., Yıldırım, Z. and Akyol, Ö. 2004. Sıçanlarda Sispilatinle Oluşturulan Nefrotoksisitede Metabolik Enzim Aktivitelerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisi. *Van Tıp Dergisi*, 11 (1), 1-6.

- Yilmaz, S., Issi, M., Kandemir, M. and Gul, Y. 2014. Malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25, 41-45.
- Yilmaz, S. and Yilmaz, E. 2006. Effects of melatonin and vitamin E on oxidative–antioxidative status in rats exposed to irradiation. *Toxicology*, 222 (1), 1-7.
- Yılmaz, S. ve Ozan, T. S. 2003. Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28 (4), 252–256.
- Young, I. and Woodside, J. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54 (3), 176-186.
- Yu, B. P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74 (1), 139-163.
- Zhang, J. M. and An, J. 2007. Cytokines, inflammation and pain. *International anesthesiology clinics*, 45 (2), 27.
- Zicca, A., Cafaggi, S., Mariggiò, M. A., Vannozzi, M. O., Ottone, M., Bocchini, V., Caviglioli, G. and Viale. M. 2002. Reduction of cisplatin hepatotoxicity by procainamide hydrochloride in rats. *European journal of pharmacology*, 442 (3), 265-272.

EKLER

EK 1: Etik Kurul Kararı



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1700305172
Konu : HADYEK Kararı.

01.11.2017

HUKUK MÜŞAVİRLİĞİNE

İlgi : 12.10.2017 tarihli ve 77040475-000-E.1700283394 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 26.10.2017 tarih ve 11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 149 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 26.10.2017

Toplantı Sayısı : 11

KARAR NO 149: Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu Müdürlüğü, Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr.Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR'in yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **"Sıçanlarda Cisplatin İle İndüklenmiş Karaciğer ve Böbrek Hasarında Fraxin'in Etkisinin Araştırılması"** başlıklı araştırma çalışması ile ilgili 12.10.2017 tarih ve 77040475-000-E.1700283394 sayılı Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Hukuk Müşavirliği yazısı ekindeki Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Rektörlüğünün 12.10.2017 tarih ve 55449411-604.01.01-E.23084 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr



Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=DA4416F>

EK 2. İntihal Raporları Formu

13/04/2018

Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR danışmanlığında yürütülen yüksek lisans öğrencisi Çiğdem BİNGÖL' e ait “**Sıçanlarda Sisplatin ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Fraksin’ in Etkisinin Araştırılması**” başlıklı tez için Turnitin programında yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdadır.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Öğrenci

Çiğdem BİNGÖL

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Fazile Nur EKİNCİ AKDEMİR

BENZERLİK ORANLARI:

ÖZET	: % 4
ABSTRACT	: % 0
GİRİŞ BÖLÜMÜ	: % 0
KAYNAK ÖZETLERİ BÖLÜMÜ	: % 15
MATERYAL VE YÖNTEM BÖLÜMÜ	: % 11
ARAŞTIRMA BULGULARI BÖLÜMÜ	: % 9
TARTIŞMA	: % 21
SONUÇ ve ÖNERİLER BÖLÜMÜ	: % 0

Eki : iThenticate programı benzerlik raporları (8 adet)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Çiğdem BİNGÖL
Doğum tarihi	: 05.03.1988
Doğum yeri	: İstanbul
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
E-mail	: Ciqdembingol@outlook.com
EĞİTİM	
Lise	:Erenköy Kız Lisesi (2002-2005)
Lisans	:Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu-Hemşirelik Bölümü (2006-2010)
Yüksek Lisans	:Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı (2015-2018)