

**SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE OLUŞTURULMUŞ
OKSİDATİF STRESE KARŞI SİLİMARİNİN OLASI
KORUYUCU ETKİLERİ**

Gökhan BAYRAMOĞLU

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ Anabilim Dalı

TEMMUZ 2007

**THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF SILYMARIN AGAINST
OXIDATIVE STRESS INDUCED BY CYCLOPHOSPHAMIDE IN RATS**

Gökhan BAYRAMOĞLU

Ph.D. THESIS

Department of BIOLOGY

JULY 2007

**SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE OLUŞTURULMUŞ
OKSİDATİF STRESE KARŞI SİLİMARİNİN OLASI
KORUYUCU ETKİLERİ**

Gökhan BAYRAMOĞLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Zoloji Bilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

DANIŞMAN: Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN

Temmuz 2007

Gökhan BAYRAMOĞLU' nun **DOKTORA** tezi olarak hazırladığı “**Siçanlarda Siklofosfamid ile Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Silimarinin Olası Koruyucu Etkileri**” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye : Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN

Üye : Prof. Dr. Ahmet ÖZATA

Üye : Prof. Dr. Mehtap KUTLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Adnan AYHANCI

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.2007 tarih ve 2007-14/72 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Abdurrahman KARAMANCIOĞLU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Siklofosfamid kanser tedavisinde kullanılan bir ilaçtır ve normal hücrelerde metabolitleri sebebiyle toksisiteye neden olur. Alkilleyici bir ajan olan siklofosfamidin yüksek dozlarda kullanılması gereklidir. Ancak bu yaklaşım hematoksisite, ürotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkilerden dolayı kullanımı sınırlıdır. Bu yan etkilerden korunmak için kanser tedavisi esnasında bazı antioksidan maddeler toksisiteyi engelleyebilir. Silimarin gibi antioksidan maddeler hücre koruyucu özelliğe sahiptirler. Bu çalışmada; deney hayvanlarında siklofosfamid (50, 100 ve 150 mg/kg dozlarda) ile oluşturulmuş toksisitenin silimarin (100 ve 200 mg/kg dozlarda) ile olası koruyucu rolü araştırıldı.

Mevcut bu çalışmada;

- Lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinde,
- Serum Alanin amino transferaz (ALT), Aspartat amino transferaz (AST) ve Laktat dehidrogenaz (LDH) enzimlerinde,
- Karaciğer Malondialdehid (MDA) seviyesinde,
- Karaciğer katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerindeki önemli değişiklikler araştırıldı.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar silimarinin siklofosfamid kaynaklı toksisiteyi azaltabileceği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Siklofosfamid, Oksitadif stres, Sıçan, Silimarin

SUMMARY

Cyclophosphamide is a widely used antineoplastic drug, which could cause toxicity of the normal cells due to its toxic metabolites. As a alkylating agent, cyclophosphamide has been proposed for high-dose therapy, however hematoxicity, hepatotoxicity and urotoxicity are dose-limited side effects. To avoid these toxic side effects, some antioxidant agents should detoxify during the cyclophosphamide chemotherapy for neoplastic disorders. Antioxidant agents like silymarin has a cytoprotective action. In this study, the possible protective role of silymarin (100 and 200 mg/kg body weight) towards the tissue defence system in the toxicity induced by Cyclophosphamide (50, 100 and 150 mg/kg body weight) was studied in the experimental rats.

The present this study, The significant ($P < 0, 05$) alterations;

- in the numbers of leukocyte, thrombocyte, bone marrow nucleated cells,
- in the levels of enzymic [Alanine amino transferase (ALT), Aspartate amino transferase (AST) and Lactate dehydrogenase (LDH)] of the serum
- in the level of malondialdehyde (MDA) of the liver tissue,
- in the levels of enzymic [catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx)] of the liver tissue were investigated in the cyclophosphamide toxicity. Also morphological analysis urinary bladder was performed by observing the hemorrhagic cystitis.

Results indicated that administration of silymarin can significantly reduce the toxic side of cyclophosphamide.

Keywords: Cyclophosphamide, Oxidative stress, Rat, Silymarin

TEŞEKKÜR

Doktora tezimin yönlendirmesini ve sonuçlanmasını sağlayıp emeğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN' e en içten saygılarımla teşekkür ederim. Benzer şekilde çalışmamın şekillenmesinde, doğru biçimde denetlenmesinde ve fikir geliştirmemde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet ÖZATA, Prof.Dr. Mehtap KUTLU, Yrd. Doç. Dr. Mediha CANBEK ve Yrd. Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya teşekkür etmeyi kendime görev bilirim.

Araştırma tezimin gerçekleştirilmesinde, çalışma ortamı ve laboratuvarların uygun olarak düzenlenerek gerekli tüm teknik ve kimyasal maddeyi temin için maddi proje desteği veren Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Rektörlüğü ile ilgili bölümlerine teşekkür ederim.

Doktora tezimin deneysel uygulamalarında bana zaman ve emek konusunda desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşım Arş. Grv. Hakan ŞENTÜRK, Arş. Gör. Dr. Mustafa UYANOĞLU, Öğr. Gör. Dr. Onur KOYUNCU ayrıca öğrencim Ali KUTLU ve Gökçe BİLGİ'ye minnet duygularımı arz ederim.

Çalışmalarım sırasında uzun süre ihmal ettiğim, buna rağmen büyük manevi destek ve mütavazi bir yaklaşım sergileyen çok başta annem Nurten BAYRAMOĞLU olmak üzere değerli aileme ve yakınlarıma sevgi dolusu teşekkürlerimi iletirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Siklofosfamid (Cyclophosphamide = CY).....	3
2.2. Silimarinin Genel Özellikleri	6
2.2.1. Kemoprotektif ve antikanser ajan olarak silimarin	9
2.2.2. Kanser tedavisinde silimarin.....	10
3. MATERYAL VE METOD.....	11
3.1. Deney Hayvanları	11
3.2. Deney Grupları	11
3.3. Siklofosfamid ve Silimarin Uygulaması	13
3.4. Deney Hayvanlarından Çalışılacak Örneklerin Alınması	14
3.5. Kan ve Kemik İliği	14
3.6. Total Protein Ölçümü.....	15
3.7. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü.....	16
3.8. Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü	18
3.9. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Ölçümü	21
3.10. Mesane Preparatlarının Hazırlanması	23
3.11. İstatistiksel Değerlendirmeler.....	26

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4. SONUÇLAR.....	27
4.1. Kan Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	27
4.1.1. Lökosit (WBC) sayımına ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler	27
4.1.2. Trombosit (PLT) Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	31
4.2. Kemik İliği Çekirdekli Hücre Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	35
4.3. Serum Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	39
4.3.1. Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) enzim aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirme.....	39
4.3.2. Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) enzim aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirme.....	43
4.3.3. Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme	47
4.4. Karaciğere Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	51
4.4.1. Karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler.....	51
4.4.2. Karaciğer homojenatında Katalaz (CAT) aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler	55
4.4.3. Karaciğer Homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler	59
4.5. Mesane Örneklerine Ait Histolojik Sonuçlar	63

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5. TARTIŞMA	69
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	73
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2-oksit.....	3
2.2 Siklofosfamidin metabolizması.....	5
2.3 Silimarin, kimyasal formül.	7
3.1 MDA standart eğrisi.	18
4.1 Kontrol ve deney gruplarının Lökosit (WBC) düzeyleri.....	30
4.2 Kontrol ve deney gruplarının Trombosit (PLT) düzeyleri.	34
4.3 Kontrol ve deney gruplarının kemik iliği çekirdekli hücre (BONE) düzeyleri.	38
4.4 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri.	42
4.5 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri.	46
4.6 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) düzeyleri.	50
4.7 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri.....	54
4.8 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Katalaz (CAT) düzeyleri.	58
4.9 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri.	62
4.10 Kontrol grubu: Mesanede tunika mukoza ve tunika muskularis'in genel görünümü.....	63
4.11 Kontrol grubu: Mesanede lamina epitelialis (çok katlı değişici epitel), lamina propria ve tunika muskularisin genel görünümü.	63

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.12 50 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin genel görünümü. Mesanede lamina epitelialis'de hafif ülserasyon ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler.....	64
4.13 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin genel görünümü. 50 mg/kg siklofosfamid verilen gruba göre mesanede lamina epitelialis'de ülserasyon şiddetinde azalma, lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücrelere daha az oranda rastlanıyor.	64
4.14 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin genel görünümü. 50 mg/kg siklofosfamid verilen gruba nazaran mesanede değişici epitelde ülserasyon, lamina propria tabakasında az oranda hemoraji ve infiltratif hücreler	65
4.15 100 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin genel görünümü. Mesanede lamina epitelialis'de ilerlemiş ülserasyon, epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlar ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler yoğun halde gözlenmektedir.	65
4.16 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede lamina epitelialis'de ülserasyonda azalma ve epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlara neredeyse hiç rastlanmamaktadır.	66
4.17 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişici epitelde ilerlemiş ülserasyonda azalma ve epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlara neredeyse hiç rastlanmamaktadır.	66
4.18 150 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişici epitelde ileri derecede ülserasyon ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler yoğun halde gözlenmektedir.	67
4.19 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişici epitelde ülserasyon hafif olarak izlenmekte ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücrelere az sayıda rastlanmaktadır.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.20	150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişici epitelde ülserasyon hafif olarak izlenmekte, epitelde vakuolizasyona rastlanmakta ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücrelere az sayıda rastlanmaktadır.68

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Uygulanan siklofosamid ve silimarinin gruplara göre dağılımı.....	13
4.1 Kontrol ve deney gruplarına ait lökosit (WBC) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	29
4.2 Kontrol ve deney gruplarına ait trombosit (PLT) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	33
4.3 Kontrol ve deney gruplarına ait kemik iliği çekirdekli hücre sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	37
4.4 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	41
4.5 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	45
4.6 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	49
4.7 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	53
4.8 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Katalaz (CAT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	57
4.9 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Glutatyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
mL	mililiter (mililitre)
mg	miligram
kg	1 / kilogram
n	denek sayısı
rpm	revolution per minute (devir/dakika)
L	Liter (litre)
U	Unit
K/ μ L	$10^3/\mu\text{L} = 10^9/\text{L} = \text{litredeki } 10^9 \text{ adet hücre}$
M/ μ L	$10^6/\mu\text{L} = 10^{12}/\text{L} = \text{litredeki } 10^{12} \text{ adet hücre}$
dL	deciliter (desilitre) = 10^{-1} litre
μ	micrometer (mikrometre=mikron) = 10^{-6} metre

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
CY	Cyclophosphamide (Siklofosfamid)
S	Silymarin (Silimarin)
H&E	Hematoksilin ve Eosin
Bkz.	Bakınız
ALT	Alanine amino transferase (Alanin amino transferaz)
AST	Aspartate amino transferase (Aspartat amino transferaz)
LDH	Lactate dehydrogenase (Laktat dehidrogenaz)
MDA	Malondialdehyde (Malondialdehit)
CAT	Catalase (Katalaz)
GPx	Glutathione peroxidase (Glutasyon peroksidaz)

1. GİRİŞ

Bazı hastalıkların etiyolojisi, serbest radikallerin başlattığı ve aracılık ettiği olaylardaki gibi bazı durumlarda belirginleşir. Bir serbest radikal bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom ya da moleküldür. Bu tip ürünlerin ya da onlardan türeyen metabolitlerin oluşumu bir seri koruyucu mekanizmalar ile memeli hücrelerinde kontrol edilir. Aksi takdirde bu serbest radikaller ya da bunlardan türeyen metabolitler hücre zarı, protein ve nükleik asit üzerinde patolojik etkilerin ortaya çıkmasına neden olur (Senthilkumar, et al., 2006).

Serbest radikaller paylaşılmamış elektron içeren reaktif ve kısa ömürlü moleküllerdir. Bu moleküller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de ilaçların ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı, bunları etkisiz hale getiren savunma sistemlerinin hızı ile dengede olduğu sürece, organizma etkilenmez. Ancak bu denge bozulursa, serbest radikaller zararlı olmaya başlar ve oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (Kurt, et al.,2005).

Antineoplastik kemoterapik bir ajan olan siklofosfamid alkilleyici bir kimyasal ajandır ve en çok kullanılan antikanser ve immunosuppresant (bağışıklık sistemi baskılayıcısı) bir ilaçtır. Siklofosfamid; akut ve kronik lösemi, meme kanseri, multityp myeloma, lenfoma, romatid artit tedavisinde ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılır. (Kumar, et al.,2004; Senthilkumar, et al., 2006). Antineoplastik kemoterapik ajanlar genelde bir ya da daha fazla hedef dokuda sitotoksik etki oluştururlar (Senthilkumar, et al., 2006). Siklofosfamid yan etkileri ise başlıca; hematopietik depresyon, hemorajik sistit, renal toksisitedir (Kumar, et al., 2004).

Siklofosfamidin iki aktif metaboliti fosforamid ve akroleindir. Siklofosfamidin toksik etkisi aktif metaboliti olan akrolein ile ilgilidir. Akrolein doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest radikal oluşumuna yol açar. Akrolein kaynaklı oluşan serbest radikaller; enzim, reseptör, iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek onların fonksiyonlarını bozarlar (Senthilkumar, et al., 2006).

Son zamanlarda antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini en az düzeye indirecek bitkisel kökenli ilaçlarla ilgili ilginç çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu konuda klasik yöntem bitki kökenli ilaçların immun sistemi koruma veya düzenlenmesine dayalıdır. Bu bitkisel kökenli ilaçların kullanılmasında antineoplastik ajanların toksik etkilerinin azaltılması veya ortadan kaldırılması önemli yer teşkil eder (Kumar, et al., 2004).

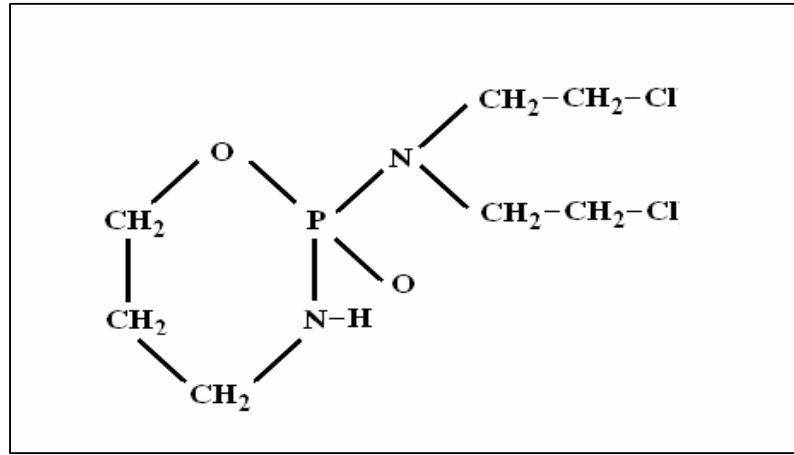
Kemoprotektif ve kanser koruyucu olarak silimarin kullanımı ilk olarak silimarinin antiradikal (antioksidan) potansiyelinin ve hücre koruma özelliğinin olmasından kaynaklanır. Silimarinin kemoprotektif etkileri sayesinde birçok kimyasal maddenin karsinojenik aktivitesini inhibe eder. Ayrıca silimarin oldukça güvenilir bir maddedir ve şu ana kadar neredeyse hiçbir yan etkisi olmadığı bilinmektedir (Kren, et al., 2005).

Biz de bu çalışmada deneysel olarak siklofosfamidle oluşturulan oksidatif strese karşı, antioksidan özellikleri bilinen silimarinin ne derece koruyucu etkisi olduğunu araştırmayı planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Siklofosfamid (Cyclophosphamide = CY)

Kanser tedavisinde en fazla kullanılan ilaçlardan birisi olan siklofosfamid bir oksazofosforindir. Bağışıklık baskılayıcı ve bir antitümör ajan olan siklofosfamidin onkosidal etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive edilmesi gerekir. Hem humoral hem de hücrel bağışıklığın siklofosfamid ile baskılandığı bildirilmektedir. Siklofosfamidin kanserostatik aktivitesi fosforamid mustard (FAM) oluşumunu veren 'hepatik mikrozomal karma fonksiyon oksidaz' sistemi ile metabolizmasına bağlıdır. Kimyasal yapısı Şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3-oksazofosforin 2-oksit.

Siklofosfamid tarafından oluşturulan bağışıklık baskılayıcılık ana ilaçtan ziyade onun metabolitlerinden kaynaklanmaktadır. P-450 monooksijenaz sisteminin etkisi altında siklofosfamid, 4-hidroksi siklofosfamide metabolize olur. Bu metabolit enzimatik olmayan bir yolla aldofosfamide yeniden düzenlenir. Bu da FAM ve

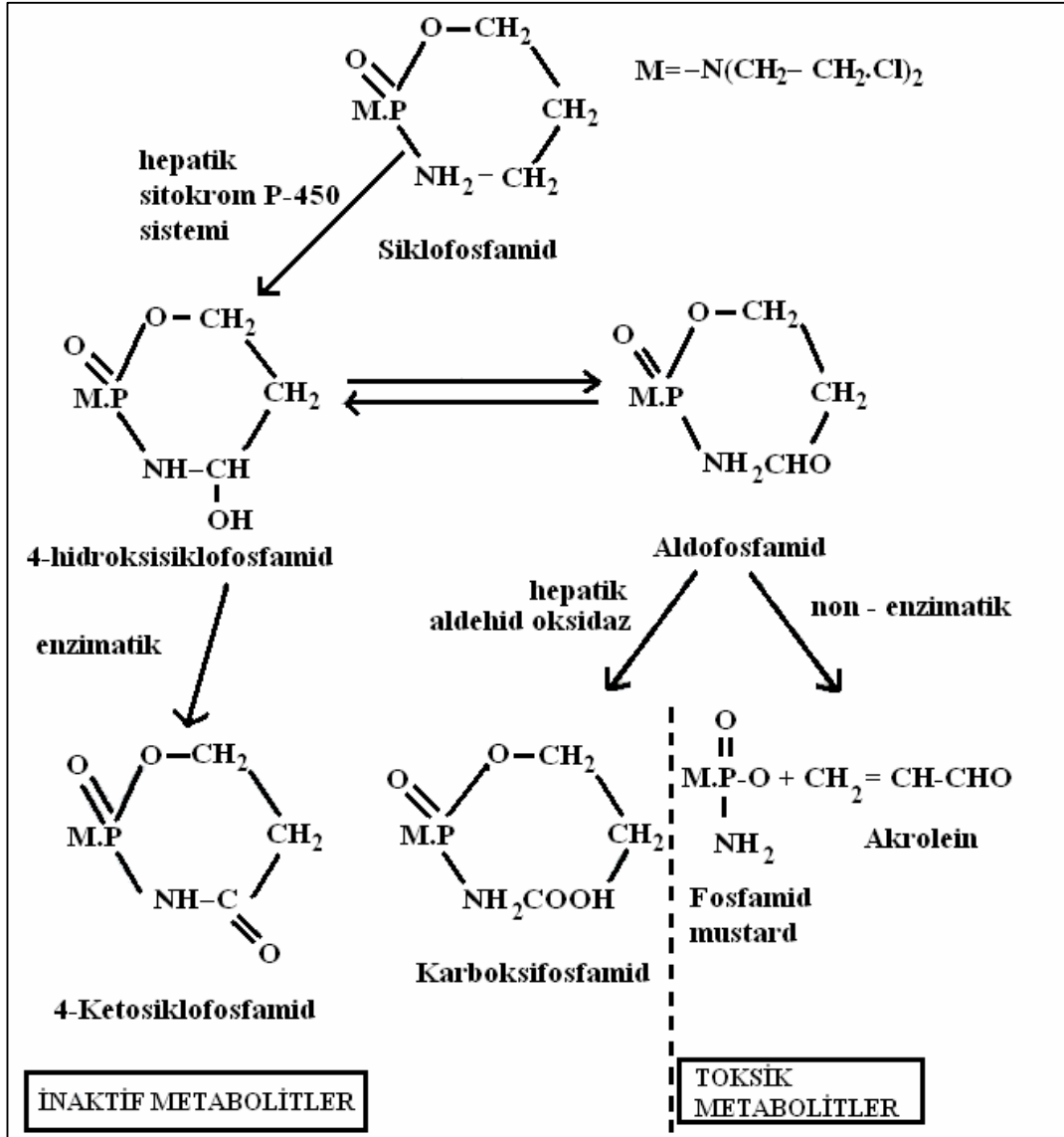
akroleine ayrılır. FAM' ın DNA' ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, siklofosfamidin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Öte yandan akrolein' in önemli makromoleküllerinin sulfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği böylece bağışıklığın baskılanmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşan ara ürünler veya son metabolitlerin; kanser seçiciliği, sistemik toksisite, mutajenite, teratojenite, genotoksisite ve kanserojenite gibi farklı etkileri olabileceği ileri sürülmektedir. Siklofosfamidin metabolizması Şekil 2.2' de gösterilmiştir (Ayhancı, 1997).

Hem oral hem de parenteral olarak kullanılan siklofosfamid, hem hematolojik hem de solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunmuştur. Siklofosfamidin plazmada yarılanma ömrü 6,5 saattir. Parenteral verilişte aktif metabolitlerin plazma konsantrasyon pikine ulaşması 2–3 saat sürer. Siklofosfamidin kullanım alanları şunlardır;

- Hodgkin dışı lenfomalar
- Çocukların akut lenfositik lösemisi
- Küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri
- Hodgkin hücreleri
- Pediatrik solid tümörler

Ayrıca güçlü bağışıklık baskılayıcı etki göstermesi nedeni ile Romatoid artrit, çocukların Nefrotik sendromu, Behçet hastalığı ve diğer bazı otoimmün hastalıklarda' da kullanılmaktadır.

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda siklofosfamidin gonadal yetmezlik, renal yetmezlik ve özellikle hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir. Siklofosfamid terapisi gören meme kanserli hastalarda çoğu zaman amenore oluşmaktadır. Erkeklerde sık sık azospermi gelişmektedir. Siklofosfamid, ovaryum foliküllerinde epitel doku için toksiktir. Zira dişi sıçanlara 40 mg/100 gr siklofosfamid verildiğinde ovaryum foliküllerinin normal gelişiminin inhibe olduğu gözlenmiştir. Siklofosfamid spermatojenik epitelyumda da toksisite oluşturmaktadır. Bir siklofosfamid metaboliti olan akrolein de 3 – 10 mg/L arasındaki konsantrasyonlarının 12 günlük fare embriyosunda anormal gelişmelere neden olduğu gözlenmiştir (Ayhancı, 1997).



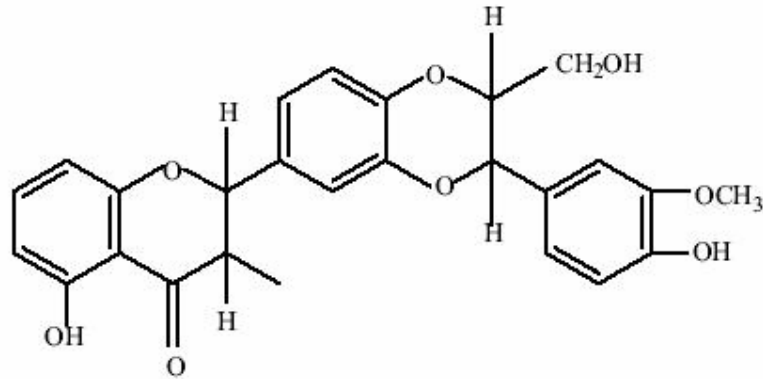
Şekil 2.2 Siklofosfamidin metabolizması.

Siklofosfamid, emziren kadınlarda süte geçerek bebekte immunosupresyon, gelişme geriliği ve karsinogenezis gibi toksik etkiler yapmaktadır. Ayrıca fizyolojik olarak uygun olmayan antidiüretik hormon salgısını arttırarak hipernatremiye yol açar.

Bu durum ise hemorajik olarak sistit riskini artırır. Siklofosfamid metabolitleri, özellikle akrolein, mesane mukozası için toksiktir. Erkek Swiss farelerde yapılan deneysel çalışmalarda 200 mg/kg siklofosfamidin hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir. Siklofosfamidin insanlarda ve deney hayvanlarında mesane kanseri yaptığı yönünde raporlarda bulunmaktadır. Siklofosfamidin kemik iliği mutajenitesi konusunda yapılan çalışmalar, bu maddenin insanlarda ve sıçanlarda hematopoietik sistemde kanserojen olduğunu göstermiştir. Farelerde yapılan bir deneysel çalışmada 100 mg/kg intraperitoneal siklofosfamid uygulamasının hematopoietik sistemde tümör gelişimini uyardığı gözlenmiştir. Sıçanlarda yapılan diğer bir deneysel çalışmada 20 ve 40 mg/kg intraperitoneal siklofosamid uygulamasının dalakta ve kemik iliğinde mutajen olduğu gösterilmiştir. Hodgkin lenfomalı hastalara siklofosfamid verildiğinde, hastalarda üreterik tümörlerin geliştiği rapor edilmiştir (Ayhancı, 1997).

2.2. Silimarinin Genel Özellikleri

Silybum marianum L. Gaertn (devedikeni), *Asteraceae* familyasına ait bir bitkidir. *Silybum marianum* L. tohumları, karaciğer ve safra kesesi hastalıkları ile toksin zehirlenmelerine karşı karaciğeri korumada; aynı zamanda mantar zehirlenmeleri, yılan sokması, böcek ısırıkları gibi durumların tedavisinde de 2000 yıldan beri kullanılmaktadır. *S. marianum* L. tohumlarından elde edilen ekstraktları bol miktarda silimarin içermektedir. Kimyasal olarak silimarin (Şekil 2.) silibin (silibinin), izosilibin, silikristin, silidianin ve dehidrosilibinin adı verilen izomer flavanolignanlardan oluşmaktadır (Ding et al., 2001). Silimarinin biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu düşünülen temel bileşeni silibindir ancak yapısında bulunan diğer flavano-lignanların da bu biyolojik aktivitede rolü olabileceği düşünülmektedir (Nencini et al., aricle in press). Bu bitkinin aktif kısmı silimarindir (Morazzoni, et al., 1995). Saflaştırılmış ekstraktı, silimarin flavanolignanların yaklaşık %70–80' ini içeren *S. marianum* tohumlarından elde edilmiştir ve yaklaşık %20–30 oranında kimyasal olarak belirlenmemiş, çoğunlukla polimerik ve okside olmuş polifenolik bileşiklerden oluşmaktadır. Silimarin kompleksinin asıl elemanı silibindir.



Şekil 2.3 Silimarín, kimyasal formül.

Yaklaşık 1:1 oranında A ve B iki diastomer karışımı olan silibinin yanı sıra, diğer flavonolignanların büyük miktarları silimarín kompleksinde bulunmaktadır. Bunlar; isosilybin, dehisrosilybin, silychristin, silydianin ve taksifolin gibi birkaç flavonoidlerdir (Simanek, et al., 2000). İlave olarak, *S. marianum*' un beyaz çiçekli varyeteleri, 3-deoksiflavonogilikanları, silandrin, silimonin, silihermin ve neosilihermin A ve B içerir. Deve dikenî sütünün çok eski zamanlardan beri tanımlanan ve kullanılan tipik uygulamaları, çoğunlukla gastrointestinal sistem (GIT) problemlerinde ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Flora, et al., 1998, de Groot, et al., 1998). Son zamanlarda, silimarín/silibin ve onların preparasyonları alkol tüketimi ile ilişkili karaciğer hastalıkları, kronik hepatit ve siroz tedavisi ile çevresel toksin etkilerinin tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır (Blumenthal, et al., 1998, Fraschini, et al., 2002, Simanek, et al., 2001).

Tıbbi, farmakolojik ve bitki kimyası ile ilgili literatürlerde silimarín/silibin'in etkileri üzerine birçok tartışmadan söz edilmiştir. İnsan karaciğer hastalıklarında deve dikenî sütünün etkinliği başlangıçta belirlenemedi. Bu durum yayınlanan raporların ve çalışılan metotların bilimsel kalitesinden dolayı olabilir. Sıklıkla silimarínin muhtemel faydaları karaciğer fonksiyon testlerinde (başlıca serum aminoalanintransferaz) gösterilmiştir. Hayati ve diğer kimyasal ölçümlerde, pozitif ve negatif sonuçlar bildirilmiştir. Etki mekanizmaları, deve dikenî sütünün optimal formülasyonları ve terapinin süresi belirlenememiştir. Tartışmanın ana sebebi ve silimarínin etkilerinin

kesin olmaması, çalışmaların birçoğunda farklı silimarin preprasyonlarının kullanılmasıdır. *S. marianum* tohumlarının kaynağına bağlı olarak çeşitli silimarinlerin bileşenlerinin oranı belgelenmiştir (Kren, et al., 2005). Silimarin in oldukça güvenli olduğu düşünülür ve zıt etkileri üzerine sadece birkaç çalışma vardır. Jacobs ve arkadaşları yaptıkları meta analiz çalışmasında yalnızca 3 ciddi zıt etkiyi göstermişlerdir. Bunlardan biri, deve dikenii sütü içeren bitkisel formülün bir kombinasyonun, bir hastada gastroenterititis belirtilerine neden olmasıdır. Diğer ikisi ise, *S. marianum* çayının sindirimden sonra anafilaktik reaksiyonun tanımlanmış olmasıdır (Jacobs, et al., 2002). Genel olarak Silibinin (ca 0.5 gr/1 H₂O) düşük çözünürlüğünden dolayı iv vivo şartlarda onun toksik konsantrasyonlarına ulaşmak hemen hemen imkansızdır. Silibin ve ilişkili flavanolignanların fizyolojik olarak aşırı konsantrasyonlarda in vitro olarak sitokrom P450 (CYP) izoenzimlerinin katalitik aktivitelerini inhibe ettiği belirlenmiştir. Ayrıca silibinin CYP1A2 ve CYP3A₄ 'ün ekspresyonunu engellemediği de gösterilmiştir (Kosina, et al., 2005). Bu sonuçlar, ilaç-ilaç etkileşimlerinde silimarin kötü (zıt) etkilerinin olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, silimarinin etki mekanizmalarının ve zıt etkilerinin detaylı olarak açıklanması için iyi planlanmış klinik denemelere gereksinim vardır (Kren, et al., 2005).

Son yıllarda, silimarin başka yaralı etkilerinden dolayı dikkat çekmiştir. Bu etkileri, karaciğeri koruma ve antioksidan etkileri ile doğrudan ilişkili değildir. Bunlar, çoğunlukla düşük kolesterol, kardiyoprotektivite, nöroaktif ve nöroprotektive aktiviteler kadar kimyasallara karşı koruma ve antikanser etkileri de içine almaktadır. Ayrıca silibin uygulama alanları karaciğer ve GIS in yanı sıra diğer organ sistemlerini de kapsamaktadır. Silibin, adenokarsinomayı içeren çeşitli prostat hastalıklarının tedavisinde, böbrek hastalıklarında, akciğer hastalıklarının tedavisinde, gliseminin dengelenmesinde ve pankreas hastalıklarının tedavisinde de umut verici olarak görülmektedir. Bu, silibinin pek çok yeni etkisinin keşfedilmesi ile bağlantılıdır. Estrojenik aktivite, ilaç taşıyıcılarının (P-glikoprotein) modülasyonunu ve örneğin nükleer faktör NF- κ B 'nın baskılanması yolu ile DNA ekspresyonunun spesifik etkisi gibi hücresel ve moleküler düzeyde tanımlanmıştır (Kren, et al., 2005).

2.2.1. Kemoprotektif ve antikanser ajan olarak silimarin

Kemoprotektif ve kanser koruyucu ajan olarak silimarin uygulamasında en önemli neden silibin ve silimarinin antioksidan özellikte olmasıdır. Bu yüzden hücre koruyucu etkisi vardır (Kren, et al., 2005).

Silibin/silimarin, koruyucu etkisi sayesinde birçok kimyasalın karsinojenik etkisini inhibe eder (Dorai, et al., 2004). Silibin, belirgin bir şekilde N-butyl-N-(4-hidroksibutil) nitrozaminin yol açtığı mesane hasarlarını önemli ölçüde azaltmıştır (Vinh, et al., 2002) . Ayrıca; silibin, ratlarda azoksimetan ile oluşturulan kolon karsinogenezini önemli ölçüde azaltmıştır (Kohno, et al., 2002). Silimarin bezoil peroksit veya 12-O-tetradekanoilformol-13-asetat ile oluşturulmuş deri kanserini de inhibe etmiştir (Lahiri-Chatterjee, et al., 1999, Zhao, et al., 2000). Yine, silibinin karsinogenez ya da kanser hücrelerinin çoğalma aşamasında görev alan reseptörler üzerinde etkisi vardır. Silibinin, hücre uyarı ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynadığı gözlemlenmiştir (Dorai, et al., 2004, Ahmad, et al., 1998, Singh et al., 2002). İnsan prostat karsinomasında, silimarin mitojenik sinyal yollarını inhibe eder ve hücre döngüsü düzenleyicilerinin etki yollarını değiştirerek (Zi, et al., 1999) androjenden bağımsız prostat karsinoma hücrelerinin büyümesini inhibe ederek onların ölümüne yol açar (Bhatia, et al., 2001).

Silibinin bir diğer tümör inhibisyonunun mekanizması ise; insülin-benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein- 3'ün oluşmasında belirlenmiştir. Hem silimarin hem de silibin prostat kanseri LNCaP hücre dizisinde anti-androjenik aktiviteye neden olmuştur (Zhu, et al., 2001, Thelen, et al., 2004). Silibin/silimarin'in anti-androjenik aktivitesi, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde tanımlanmış olup, vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) azalması silimarin/ silibin dozuna bağlıdır. Bu sonuçlar daha sonra insan ovaryum kanserinde de doğrulanmıştır (Kren, et al., 2005).

2.2.2. Kanser tedavisinde silimarin

Silibinin ve türevlerinin bilinen en önemli özelliklerinden biri, antikanser aktivitesidir. Burada; silibin, kemoterapötikler tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı dokuları korumada bir antioksidan olarak etki etmesinin yanı sıra karaciğeri de korur (Ladas, et al., 2003).

Laboratuar çalışmalarında silibin ve silimarinin kimyasal tedavi sırasında yan etkilerinin olmadığı gözlemlenmiştir. İvernizzi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Polimiyelotik lösemili 34 yaşındaki bir kadında silimarin kullanılmıştır. 18 ay boyunca Metateraksat ve 6-merkaptopürin ile yapılan kemoterapik tedavi sırasında karaciğerde doza bağlı olarak hasarlar oluşmuştur. Daha sonra hastaya 4 ay süresince bu ilaçlara ek olarak 800 mg silimarin uygulandığında hastanın karaciğerinde aminotransferaz seviyeleri normale dönmüştür (Kren, et al., 2005).

Cisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksisiteye karşı silibinin koruyucu olduğu ratlarda gösterilmiştir. Cisplatinden önce silibin infizyonu, böbrek tübüler toksisitesinde ve glomerularda belirgin bir azalma ortaya çıkartmıştır. Silibin ile ortak verilen 4-Hidroperoksifosfomid ve cisplatinin anti tümör aktivitesinin inhibisyonu, üç insan testis kanser hücre dizisi ile in vitro şartlarda gösterilmiştir (Bokemeyer, et al., 1996).

Böbrek tübüler epitel hücre (LLC-PK1) kültüründeki cisplatin toksitesi kuersetin ile yapılan ön tedavi ile kısmen azaltılmıştır. Fakat test edilen diğer flavonoidler (kateşin, silibin, rutin) ile etkili olmamıştır (Kuhlmann, et al., 1998). Silibinin, hem östrojen bağımlı hem de bağımsız insan göğüs kanser hücrelerinde (MCF-7 ve MDA-MB468) doksorubisin, cisplatin ve karboplatinin terapötik potansiyelini arttırdığı belirlenmiştir. Bu dört ajanın her biri tek başına test edildiğinde, doza ve zamana bağlı olarak her iki hücre dizisinde de büyümenin inhibe edildiği görülmüştür. Bu dört ajanın, büyümeyi inhibe edici etkilerine bağlı olarak, silibin (25–100 μ M) ile doksorubisinin (10–75 nM), cisplatin (0,2–2 μ g/ml) veya karboplatinin (2–20 μ g/ml) birçok kombinasyonu ile hücre büyümesinin inhibisyonu ve apoptik ölümdaki sinerjistik etkileri değerlendirilmiştir. Hücre büyümesinin inhibisyonunda en güçlü sinerjistik etkiler, her iki hücre dizisinde de 100 μ M silibin ve 25nM doksorubisin dozunda olmuştur (Tyagi, et al., 2003).

3. MATERYAL VE METOD

Deneyisel çalışmamızın tamamı; Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

Deneyisel çalışmamızda 180–220 gram ağırlıkta sağlıklı, 3–4 aylık, *Sprague Dawley* cinsi, albino, dişi sıçanlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Deney Hayvanları üretim laboratuvarından temin edildi. Deney hayvanları deney süresince 12:12 aydınlık/ karanlık ışıklandırması olan, ısı (22 °C) ve nemi (%45–50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Deney sürecinde tüm sıçanlar polikarbonat şeffaf kafeslerde standart sıçan yemi ile beslendi ve çeşme suyu verildi.

3.2. Deney Grupları

Deney hayvanları arasından rasgele seçimle her birinde n=8' er sıçan olmak üzere toplam 10 grup oluşturuldu (Çizelge 3.1). Bunlar;

Grup 1 (Kontrol): Bu grup deney hayvanları deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Bu grup deney hayvanlarına oral ya da intraperitoneal olarak hiçbir uygulama yapılmadı.

Grup 2 (50 mg/kg CY): Bu grup hayvanlara deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Diseksiyondan 3 gün önce 50 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı ve 3. günün sonunda diseksiyon gerçekleştirildi.

Grup 3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 100 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 50 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 200 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 50 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı

Grup 5 (100 mg/kg CY): Bu grup hayvanları deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Diseksiyondan 3 gün önce 100 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı ve 3. günün sonunda diseksiyon gerçekleştirildi.

Grup 6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 100 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 100 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 200 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 100 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 8 (150 mg/kg CY): Bu grup hayvanlara deney süresince sadece sıçan yemi ile beslendi. Diseksiyondan 3 gün önce 150 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı ve 3. günün sonunda diseksiyon gerçekleştirildi

Grup 9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 100 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 150 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S): Bu grup deney hayvanlarına 7 gün süre ile her hayvana günlük 200 mg/kg silimarin oral yolla verildi ve diseksiyondan 3 gün önce 150 mg/kg siklofosfamid tek doz intraperitoneal olarak uygulandı.

Çizelge 3.1 Uygulanan siklofosfamid ve silimarinin gruplara göre dağılımı.

Gruplar	50 mg/kg CY	100 mg/kg CY	150 mg/kg CY	100 mg/kg S	200 mg/kg S
1 (Kontrol)					
2 (50 mg/kg CY)	+				
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	+			+	
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	+				+
5 (100 mg/kg CY)		+			
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)		+		+	
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)		+			+
8 (150 mg/kg CY)			+		
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)			+	+	
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)			+		+

3.3. Siklofosfamid ve Silimarin Uygulaması

Deneyde 2, 3, 4., 5., 6., 7., 8., 9. ve 10. gruplara tek doz intraperitoneal olarak uygulanan siklofosfamid Sigma'dan temin edildi (CYCLOPHOSPHAMIDE Monohydrate **Katalog no:** C-7397). Deneylerimizde siklofosfamidin (CY) üç farklı dozu (50, 100, 150 mg/kg) uygulandı.

Deneyde 2., 3., 5., 6., 8., 9., 11. ve 12. guplara oral olarak uygulanan silimarin ise ticari olarak Sigma'dan temin edildi (**Katalog no:** S0292). Deneylerimizde Silimarinin (S) iki farklı dozu (100 ve 200 mg/kg) uygulandı.

3.4. DeneY Hayvanlarından çalışılacak örneklerin Alınması

DeneY bitiminde, tüm sıçanların etik kurallara uygun olarak eter anestezisi altında toraksı açılıp ventriküle enjektörle girilerek kalp kanı, yapılacak işleme göre, normal ve EDTA'lı tüplere alındı.

Bunlara ilave olarak histolojik değerlendirme için tüm sıçanlardan alınan mesaneler %10 tamponlanmış nötral formaline konuldu. Bu örneklerden rutin histolojik preparat hazırlama yöntemi ile mesane doku preparatları hazırlandı, ışık mikroskobunda değerlendirilip fotoğraflandı. Ayrıca bir kısım karaciğer rneği, Malondialdehid düzeyi, katalaz ve Glutasyon peroksidaz aktivitesi ölümünde gerekli olan homojenat örneklerinin hazırlanması için -80 C'de saklandı. Daha sonra hazırlanan homojenat örneklerinden yukarıda belirtilen ölümler spektrofotometrik olarak yapıldı.

3.5. Kan ve Kemik İliği

Kan rnekleri EDTA'lı tüplere koyularak, Hemavet 850 marka ve model kan sayım cihazının sıçan kalibrasyonunda sayımı yapıldı. Kalan kısmından ise Eppendorf Centrifuge 5804 R marka ve model cihaz ile 10 dakika 3000 rpm devirde santriflenerek serumlar elde edildi (Sanz, et al., 1998; Aktay, et al., 2000; Theocharis, et al., 2001). Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80 C derin dondurucuda korundu (Furuta, et al., 2000).

Karaciğer hücrelerinin olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde aspartat aminotranferaz (AST) ve alanin aminotranferaz (ALT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzimlerinin seviyeleri belirlendi (Aoki, et al., 2001; Kaya, et al., 2002). ALT, AST ve LDH lmleri HITACHI-917 oto analizörü ile Human (Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden Germany) marka ticari kitler kullanılarak yapıldı.

Deney hayvanına ait femural kemik iliği 5 mL serum fizyolojik ile çıkarılarak pipetaj yoluyla dağılması sağlandı. Tüpler içindeki örnekler 5 dakika 3000 rpm devirde santrifüjlenerek süpernatantının 3 mL' si alınarak atılıp, kalan kısmı ise çalkalanıp kan sayım cihazıyla kemik iliği hücrelerinin sayımı yapıldı (Ayhancı, 1997).

3.6. Total Protein Ölçümü

Dokuların total protein miktarı Biüret yöntemine göre hazırlanmış total protein kiti (Bio-Clinica) ile ölçüldü. Peptid, polipeptid ve proteinler için Biüret reaksiyonu spesifiktir. İki değerlikli bakır iyonu, alkali ortamda peptid bağları ile mor renkli bir kompleks oluşturur. Örnekler spektrofotometrede reaktif körüne karşı okundu. Ölçüm için;

- 1) Bir kör tüpü, bir standart tüpü ve örnek sayısı kadar da test tüpü hazırlandı ve numaralandırıldı.
- 2) Kör tüpüne; 1000 µl reaktif. Standart tüpüne; 20 µl standart ve 1000 µl reaktif. Test tüpüne; 20 µl örnek ve 1000 µl reaktif ilave edildi.
- 3) Tüpler karıştırıldı ve 20–25 °C'de 5 dakika beklendi.
- 4) 546 nm'de absorbans değerleri ölçüldü.
- 5) Örneklerin total protein konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.
- 6)

$$C \text{ örnek} = \frac{A \text{ örnek}}{A \text{ standart}} \times C \text{ standart (g/dl)}$$

C= Konsantrasyon

Bu ölçüm değerleri homojenatta, katalaz aktivitesi ile MDA düzeyi hesaplanmasında kullanıldı.

3.7. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü

Yöntemin amacı; lipit peroksidasyonu son ürünlerinden bir tanesi olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği renk reaksiyonuna dayanmaktadır (Uchima ve Mihara, 1978).

Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Yaklaşık 0,4 g ağırlığında karaciğer doku örnekleri alındı.
- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.
- 4) Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
- 5) Tüp içindeki örnekler daha sonra %1 KCl çözeltisi kullanılarak homojenize edildi.
- 6) Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuru da homojenize edildi.
- 7) Daha sonra soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 8) Üstte toplanan süpernatant kısmı ayrı bir vial e alınarak ölçümde kullanıldı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa +4 °C'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa – 70 °C derin dondurucuda saklandı.

Çözeltiler:

% 1 Fosforik asit çözeltisi: 1 ml fosforik asit, distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 0.6 TBA (Tiyobarbitürik asit) çözeltisi: 6 g TBA 1000 ml suda çözündürüldü.

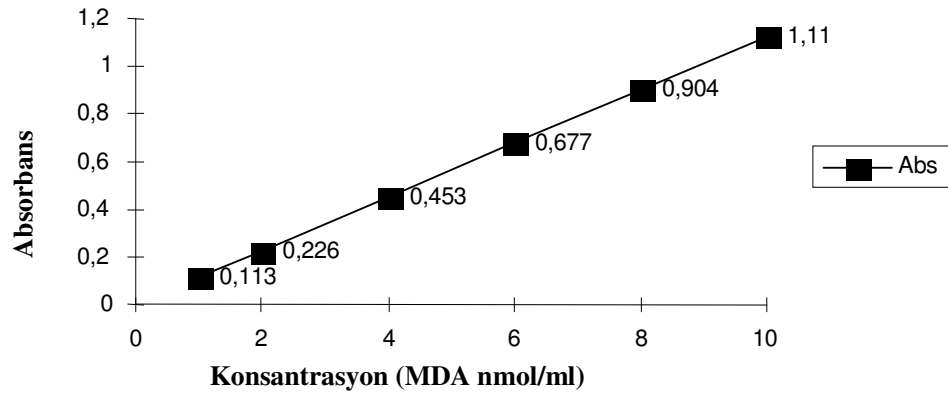
Spektrofotometrede Ölçüm:

- 1) Her ölçümde bir blank ve örnek tüpleri hazırlandı.
- 2) Blank tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi, örnek tüpüne; 0.5 ml hemolizat, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi.
- 3) Blank ve örnek tüpleri bir beherde su içinde 45 dk. kaynatıldı.
- 4) Tüpler soğuduktan sonra içlerine 4 ml butanol ilave edildi.
- 5) 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi.
- 6) Ölçüm için süpernatant alındı.
- 7) Spektrofotometre 532 nm'ye getirildikten sonra, distile su ile sıfırlanarak, blank ve örnek tüplerinin absorbansları okundu.

Sonucun Hesaplanması:

- 1) Konsantrasyonların belirlenebilmesi için; lipit peroksit standard (1.1.3.3. tetraetoksipropan) 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml de hazırlandı (Şekil 3.1.).
- 2-) Standart eğrisinin hazırlanması:
 - Blank tüpüne; 0.5 ml distile su, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi konuldu.
 - Standart tüplerine; 0.5 ml farklı konsantrasyonlarda standart, 3 ml fosforik asit çözeltisi, 1 ml TBA çözeltisi ilave edildi ve 532 nm'de absorbanslar okundu. Okunan absorbanslarla, konsantrasyon değerleri milimetrik kağıt üzerinde yerleştirilerek standart eğrisi çizildi. Standart eğrisinde, spektrofotometreden okunan absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon değerleri okundu (Şekil 3.1.).

Birimi nmol/ml olan MDA konsantrasyonu, homojenatta nmol/g yaş doku olarak verildi.



Şekil 3.1 MDA standart eğrisi.

3.8. Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü

Katalaz aktivitesi, amonyum molibdatla stabil bir kompleks oluşturan hidrojen peroksitin spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi temeline dayanan ölçümler sonucu belirlendi (Goth, 1991).

Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alınarak numaralandı.
- 2) Yaklaşık 0,4 g ağırlığında karaciğer doku örnekleri alındı.
- 3) Alınan örnekler SF ile yıkandı.

- 4) Buz dolu bir kap içinde tüpe geçirildi.
- 5) Daha sonra tüp içindeki örnekler, sodyum-potasyum-fosfat tamponu ile homojenize edildi.

Sodyum-Potasyum-Fosfat Tamponu:

1. KH_2PO_4 'den 9,08 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (A).
2. Na_2HPO_4 'den 11.88 g alındı ve 1 litre distile su içinde çözüldü (B).
3. Daha sonra 3.3 ml A çözeltilisinden alınarak B çözeltilisi ile 100 ml'ye tamamlandı ve $\text{pH} = 8$ olacak şekilde pH metrede ayarlandı.
- 6) Buz dolu bir kap içindeki tüpte bulunan örnek, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuruşta homojenize edildi.
- 7) Daha sonra soğutmalı santrifüjde $+4^\circ\text{C}$ 'de 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.
- 8) Üstte toplanan süpernatant ayrı bir vialle alınarak ölçümde kullanıldı. Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa $+4^\circ\text{C}$ 'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -80°C derin dondurucuda saklandı.

Çözeltiler:

- 1) Substrat çözeltilisi: %30 H_2O_2 den 8.11 ml alınıp, fosfat tamponu ile 1000 ml ye tamamlanıp pH : 7,4 ayarlandı.
- 2) 32,4 mmol/l amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) çözeltilisi: Bunun için, 8 g amonyum molibdat 200 ml distile suda çözülerek hazırlandı. Her zaman taze olarak kullanıldı ve kısa süreli beklemelemlerde çökelti oluşmuşsa ölçüm yapılmadan önce çözelti vortekslendi.
- 3) Tampon çözeltilisi:

A) 4,08 g KH_2PO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

B) 8,04 g Na_2HPO_4 alınarak 500 ml distile suda çözüldü.

Daha sonra (A) çözeltilisinden 3,3 ml alınarak (B) çözeltisi ile 100 ml ye tamamlandı ve $\text{pH}=7,4$ 'e ayarlandı.

Spektrofotometrede Ölçüm:

- 1) Her bir örnek tüpü için bir blank tüpü (blank 1, B1) hazırlandı ve tüpler numaralandı.
- 2) Blank (B1) tüplerine; 37 °C de su banyosu içinde 1 ml substrat ve 0,2 ml hemolizat ilave edilerek başlatılan reaksiyon, anında 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle reaksiyon durduruldu.
- 3) Örnek tüplerine ise; 1 ml substrat ve 0,2 ml hemolizat konarak, 37 °C de 60 saniyelik inkübasyon süresince devam eden reaksiyon yine 1 ml amonyum molibdat çözeltisi ilavesiyle durduruldu.
- 4) Örnek tüplerinin inkübasyonu için 60 saniyelik bekleme süresi içinde blank 2 (B2) ve blank 3 (B3) tüpleri hazırlandı.
- 5) Blank 2 tüpüne; 1 ml substrat, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon ilave edildi.
- 6) Blank 3 tüpüne; 1 ml tampon, 1 ml molibdat ve 0,2 ml tampon, ilave edildi.
- 7) Spektrofotometre 405 nm de distile suyla sıfırlandıktan sonra B2 ve B3 tüplerindeki çözeltilerin absorbans değerleri okundu, sonra blank (B1) tüpleri ve arkasından örnek tüplerinin absorbansları okundu.

Sonucun Hesaplanması:

Spektrofotometrede okunan değerler, aşağıdaki formüle uygulandı ve sonuçlar; homojenatta KU/g protein olarak bulundu.

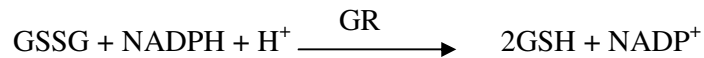
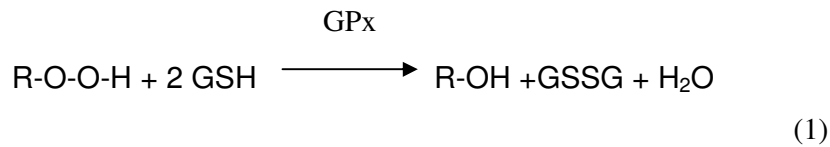
$$\text{Katalaz aktivitesi} = \frac{\text{Örnek - Blank}(B_1)}{\text{Blank 2}(B_2) - \text{Blank 3}(B_3)} \times 271$$

3.9. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Ölçümü

Hücrel glutasyon peroksidaz aktivite ölçümü için (CALBİOCHEM®) (Katalog No: 354104) kiti kullanıldı.

Ölçüm Prensipleri:

Kit indirek olarak GPx aktivitesini ölçer. GPx ortamdaki organik peroksit varlığında redükte glutasyon GSH'ı okside glutatyona (GSSG) dönüştürür. Daha sonra dışarıdan ortama eklenen NADPH ve GR ile okside glutasyon tekrar redükte glutatyona dönüşmekte, böylece GSH derişimi sabit tutulmaktadır⁽¹⁾. Oluşan kimyasal tepkimede NADPH'ın NADP'ye dönüşmesi esnasında spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda absorbanstaki azalma izlenerek okside glutasyon oluşum hızı ölçülmüş ve GPx enzim aktivitesi hesaplanmıştır.



Homojenat Hazırlanması:

- 1) Örnek sayısı kadar tüp alındı ve numaralandı.
- 2) Her hayvandan ortalama 1 g kadar karaciğer dokusu alındı.
- 3) Alınan doku parçası 0.16 mg/ml heparin içeren %0,9 NaCl solüsyonunda yıkanarak kırmızı kan hücreleri ve pıhtıdan uzaklaştırıldı.
- 4) 4-8 ml'lik soğuk buffer ilave edilen tüp içindeki doku buz dolu bir kap içinde, homojenizatör cihazında 8000 devirde 10 vuruşta homojenize edildi.
- 5) Homojenizasyon sonrası 3000xg'de 10 dakika santrifüj edildi.
- 6) +4 °C'de 10000xg'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 7) Toplanan süpernatant kısmı ölçümde kullanıldı.
- 8) Aynı gün içinde ölçüm yapılacaksa +4 °C'de, daha sonra ölçüm yapılacaksa -80 °C derin dondurucuda saklandı.

Ölçüm Yöntemi:

- 1) Günlük kullanılacak buffer miktarı belirlendi.
- 2) Her biri 20 testlik NADPH reagent şişesi 7,5 ml buffer ile sulandırıldı.
- 3) Tert-butil hidroperoksit substratı deiyonize su ile dilue edildi (% 0.007).
Bu üç solüsyon 23-25°C arasındaki sıcaklığa getirildi. Artan solüsyon kesinlikle tekrar kullanılmadı.
- 4) Spektrofotometre 340 nm'ye ayarlanıp distile su ile sıfırlandı.
- 5) Örnekler ölçümden hemen önce buffer ile 1-10 şeklinde sulandırıldı.
- 6) Bir blank tüpü ve herbir örnek için ayrı test tüpleri hazırlanarak numaralandı.
- 7) Blank tüpüne konan 350 µl buffer üzerine 70 µl distile su ve 350 µl NADPH reagent ilave edildi.
- 8) Herbir örnek tüpüne tek tek ölçülecek şekilde 350 µl buffer, 350 µl NADPH reagent ve 70 µl dilue edilmiş örnek ilave edildi.
- 9) Ölçüm küvetine alınan örnek spektrofotometreye yerleştirildi.
- 10) 350 µl dilue edilmiş tert-butil hidroperoksit substratı otomatik pipetle çekilip bırakılarak eklendi. Hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edildi.

11) 340 nm'de her 30 sn'de bir absorbans ölçümü otomatik olarak spektrofotometrenin kayıt sistemi kullanılarak 3 dakikanın üzerinde kaydedildi.

A340 nm'de t=0 zamanda absorbans < 0,8 olup olmadığına bakıldı. Böyle bir durum görüldüğünde NADPH reagent vialinin yeniden hazırlanmasına dikkat edildi.

Sonucun Hesaplanması:

Her 30 saniyede bir A340 da örnek ve blankın azalan oranı hesaplandı. A340'da eğim hesaplanıp örnek oranından blank oranının farkı alınıp net oran (A340/dk) hesaplandı.

$$1\text{mU/ml} = 1\text{nmol NADPH/dk/ml} = (\text{A340/dk}) / 0,00622$$

$$= \text{Bulunan değer} \times 16$$

$$= \text{mU/ml}$$

Homojenat için bu değer mU/ml olarak verildi.

3.10. Mesane Preparatlarının Hazırlanması

Hayvanlardan alınan doku örneklerinden her biri tespit için % 10 tamponlanmış nötral formalin solüsyonunda 24-48 saat tespit edildi. Aşağıdaki gibi doku takibi yapılarak mikroskopta incelenmek üzere preparatlar hazırlandı.

- 1) Yıkama: Dokular 1 saat akan çeşme suyunda yıkanarak formalin kalıntılarından arındırıldı.

2) Dehidratasyon (dokuların suyunun alınması): Dokular yıkama işleminden sonra artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirilerek sertleşmeleri sağlandı.

70 ° alkol – 60 dk.

80 ° alkol – 60 dk.

90 ° alkol (I) – 60 dk.

90 ° alkol (II) – 60 dk.

96 ° alkol (I) – 60 dk.

96 ° alkol (II) – 75 dk.

Absolü alkol (I) – 60 dk.

Absolü alkol (II) – 75 dk.

3) Seffaflaştırma:

Ksilol (I) – 30 dk.

Ksilol (II) – 30 dk.

Ksilol (III) – 30 dk.

4) Parafin infiltrasyonu:

Parafin (I) – 30 dk.

Parafin (II) – 60 dk.

Parafin (III) – 75 dk. bekletildi.

5) Gömme: Dokular parafin içine gömülerek, blok haline getirildi.

c. Kesitlerin Alınması

1) Mikrotom yardımı ile bloklanmış dokulardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı.

2) Kesitler sıcak su banyosuna alınarak (37 °C) açılmaları sağlandı .

- 3) Daha sonra kesitler poly-L-lysinli lamlara alındı.
- 4) Kesitler lam taşıma sepetleri içinde 60°C'lik etüvde 2 saat bekletilerek parafinin erimesi sağlandı.
- 5) Daha sonra kesitler ksilol serilerinden geçirilerek deparafinize edildi.
Ksilol (I) - 30 dk.
Ksilol (II) - 30 dk.
Ksilol (III) - 30 dk.

Deparafinize işlemi tamamlanmış kesitlere, genel histolojik yapının gözlenebilmesi için hematoksilin ve eozin boyama yöntemi uygulandı.

Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi:

1) Kesitler azalan dereceli alkol serisinden geçirilerek hidrasyon işlemi yapıldı.

Absolü alkol -1 dk.

Absolü alkol -1 dk.

96° alkol (I) -1 dk.

96° alkol (II) -1 dk.

90° alkol -1 dk.

80° alkol -1 dk.

70° alkol -1 dk.

2) Kesitler akan çeşme suyunda 2 dk yıkandı.

3) Kesitler hematoksilin solüsyonunda 3 dk. boyandı.

4) Kesitler akan çeşme suyunda 2 dk yıkandı.

- 5) Kesitler Eozin solüsyonunda 2 dk. boyandı.
- 6) Kesitler artan dereceli alkol serisinden geçirildi (dehidratasyon işlemi)
- 60 ° alkol – 1 dk.
 - 80 ° alkol – 1 dk.
 - 90 ° alkol – 1 dk.
 - 96 ° alkol (I) – 1 dk.
 - 96 ° alkol (II) – 1 dk.
 - Absolü alkol (I) – 1 dk.
 - Absolü alkol (II) – 1 dk.
- 7) Şeffaflaştırma işlemi: Kesitler ksilolde şeffaflaştırıldı
- Ksilol (I) – 1 dk.
 - Ksilol (II) – 1 dk.
 - Ksilol (III) – 1 dk.
- 8) Kesitler entellan ile kapatıldı. Böylece hazırlanan preparatlarda, dokunun lam ve lamel arasında hava almadan uzun bir süre saklanabilmesi sağlandı (Kurt, 2003).

3.11. İstatistiksel Değerlendirmeler

Çalışmalarımız sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde “SPSS 12.0 for Windows- Paired-Samples T test” versiyonu bilgisayar paket programı kullanıldı. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (P) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar; $P>0.05$ fark yok, $P<0.05$ fark var; $P<0.01$ önemli fark var ve $P<0.001$ ileri derecede önemli fark var olarak kabul edildi.

4. SONUÇLAR

Yapılan bu çalışma sonunda elde edilen bulgularlar birkaç bölümde sunulacaktır.

4.1. Kan Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Bu çalışmada öncelikle lökosit, eritrosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin, deneyde kullanılan ilaçlarla etkileşimi tartışılmıştır.

4.1.1. Lökosit (WBC) sayımına ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait lökosit (WBC) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 'de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında lökosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında lökosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında lökosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).

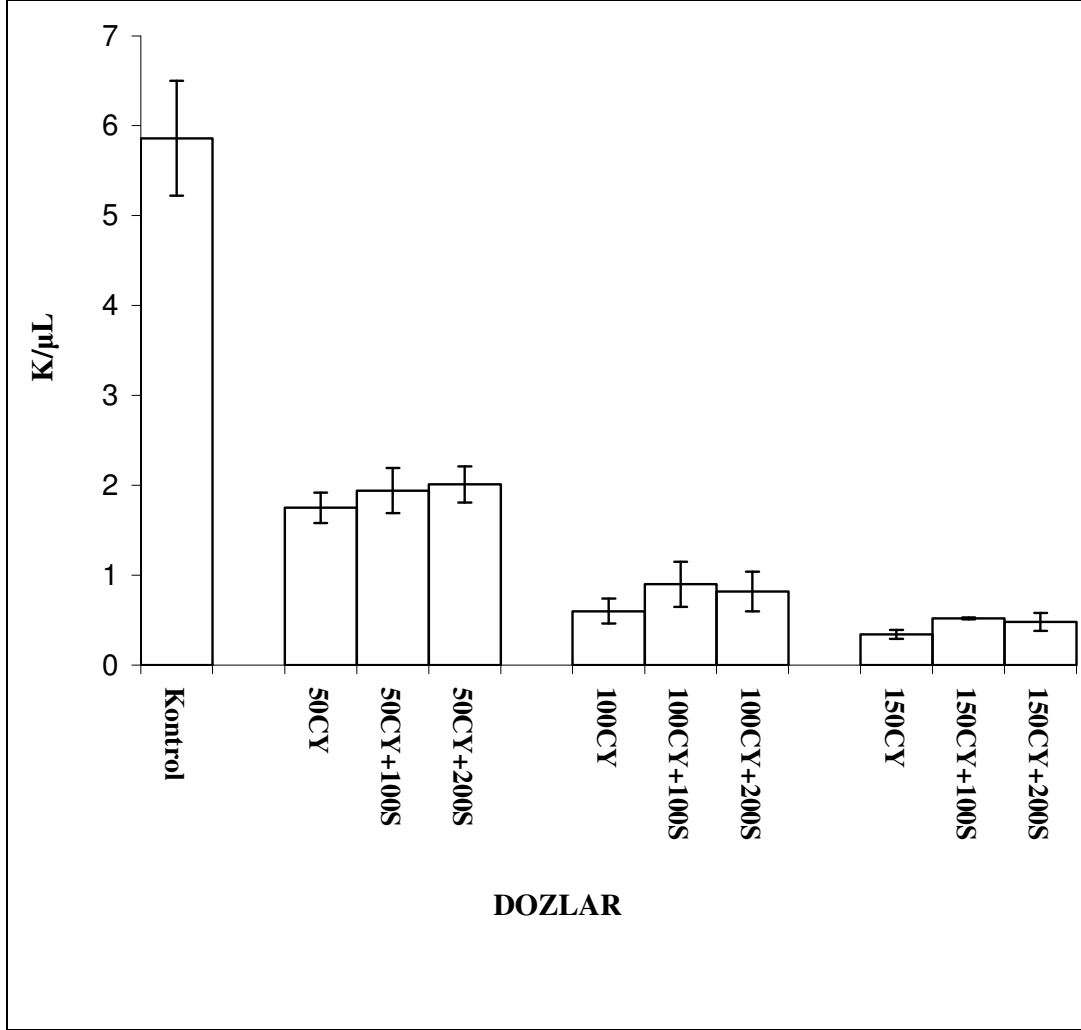
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında lökosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında lökosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,01$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında lökosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında lökosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1 Kontrol ve deney gruplarına ait lökosit (WBC) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Lökosit (WBC) K/ μ L (Ort \pm St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	5,86 \pm 0,64	Grup2 /0,000 *** Grup5 /0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	1,75 \pm 0,17	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	1,94 \pm 0,25	Grup2 / 0,019 *
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	2,02 \pm 0,20	Grup2 /0,032 * Grup3 /0,394 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	0,60 \pm 0,14	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	0,91 \pm 0,26	Grup5 /0,012 *
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	0,82 \pm 0,22	Grup5 /0,031* Grup6 /0,277 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	0,34 \pm 0,05	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	0,52 \pm 0,01	Grup8 /0,003 **
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	0,48 \pm 0,09	Grup8 /0,01 * Grup9 /0,581 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.1 Kontrol ve deney gruplarının Lökosit (WBC) düzeyleri.

4.1.2. Trombosit (PLT) Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait trombosit (PLT) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2' de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında trombosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında trombosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında trombosit sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında trombosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$)

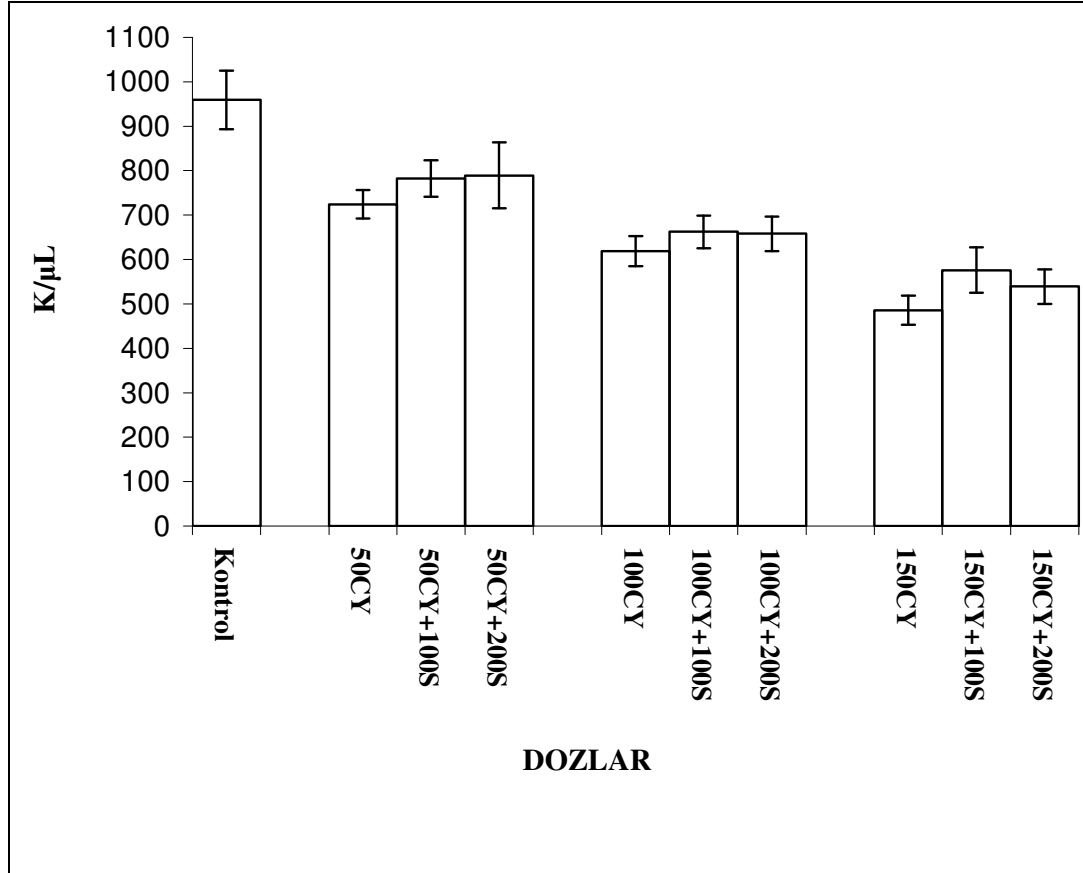
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında trombosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında trombosit sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında trombosit sayımı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.2 Kontrol ve deney gruplarına ait trombosit (PLT) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Trombosit (PLT) K/ μ L (Ort \pm St. Hata)	<i>Paired-Samples T test</i>
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	959,87 \pm 66,03	Grup2 / 0,000 *** Grup5 / 0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	724,37 \pm 32,82	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	782,75 \pm 41,71	Grup2 / 0,039 *
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	789,00 \pm 74,27	Grup2 / 0,037 * Grup3 / 0,870 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	619,87 \pm 34,41	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	662,50 \pm 37,38	Grup5 / 0,048 *
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	658,12 \pm 39,52	Grup5 / 0,064 ^{ns} Grup6 / 0,824 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	486,25 \pm 33,13	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	576,25 \pm 51,78	Grup8 / 0,013 *
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	539,37 \pm 39,57	Grup8 / 0,033 * Grup9 / 0,166 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.2 Kontrol ve deney gruplarının Trombosit (PLT) düzeyleri.

4.2. Kemik İliği Çekirdekli Hücre Sayımına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait kemik iliği çekirdekli hücre (BONE) sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.3. ve Şekil 4.3.' te özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi

arasında karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

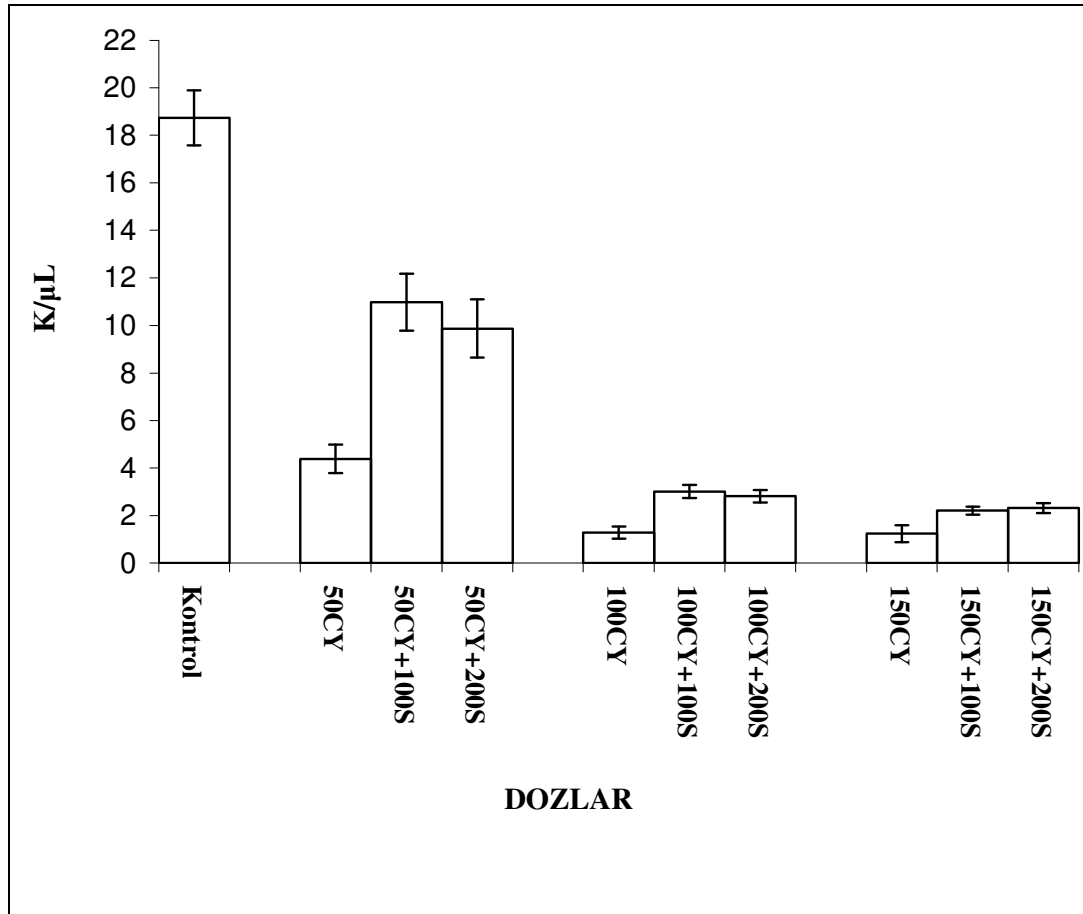
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısında bir artış gözlenmiştir. Bu artış ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Çizelge 4.3 Kontrol ve deney gruplarına ait kemik iliği çekirdekli hücre sayım sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Kemik iliği (BONE) K/ μ L (Ort \pm St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	18,73 \pm 1,16	Grup2 / 0,000 *** Grup5 / 0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	4,38 \pm 0,60	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	10,98 \pm 1,20	Grup2 / 0,000 ***
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	9,87 \pm 1,22	Grup2 / 0,000 *** Grup3 / 0,129 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	1,28 \pm 0,26	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	3,01 \pm 0,28	Grup5 / 0,000 ***
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	2,82 \pm 0,26	Grup5 / 0,000 *** Grup6 / 0,063 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	1,24 \pm 0,35	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	2,21 \pm 0,17	Grup8 / 0,000 ***
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	2,31 \pm 0,21	Grup8 / 0,000 *** Grup9 / 0,431 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.3 Kontrol ve deney gruplarının kemik iliği çekirdekli hücre (BONE) düzeyleri.

4.3. Serum Biyokimyasal Analizlere Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.3.1. Serum Alanin Amino Transferaz (ALT) enzim aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirme

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.4. ve Şekil 4.4' te özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,01$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

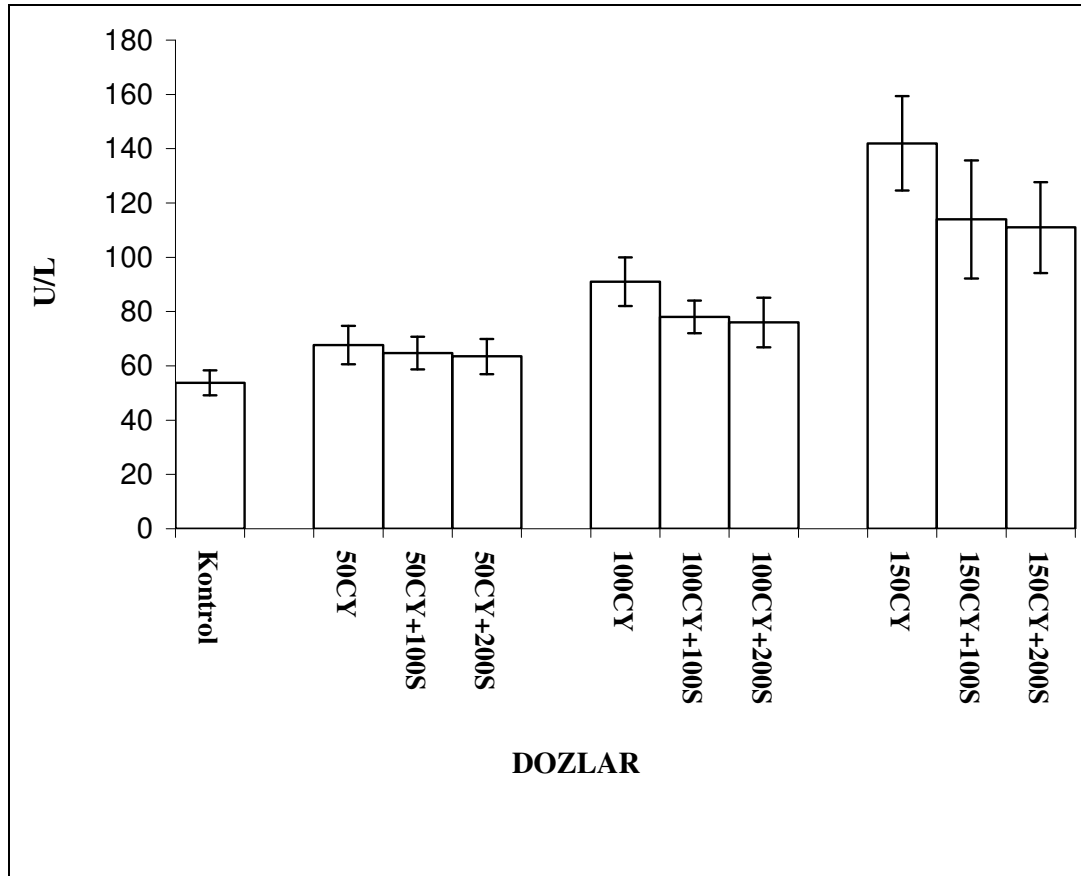
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Alanin amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Çizelge 4.4 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Alanin amino transferaz (ALT) U/L (Ort ± St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	53,75±4,62	Grup2 / 0,004 ** Grup5 / 0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	67,62±7,06	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	64,75±6,04	Grup2 / 0,468 ^{ns}
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	63,50±6,50	Grup2 / 0,226 ^{ns} Grup3 / 0,629 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	91,00±8,94	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	78,01±5,97	Grup5 / 0,014 *
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	76,00±9,14	Grup5 / 0,023 * Grup6 / 0,457 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	142,62±17,36	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	114,87±21,77	Grup8 / 0,026 *
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	111,06±16,74	Grup8 / 0,017 * Grup9 / 0,708 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.4 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Alanin amino transferaz (ALT) düzeyleri.

4.3.2. Serum Aspartat Amino Transferaz (AST) enzim aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirme

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak izelge 4.5 ve Şekil 4.5' te zet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Aspartat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi

arasında karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

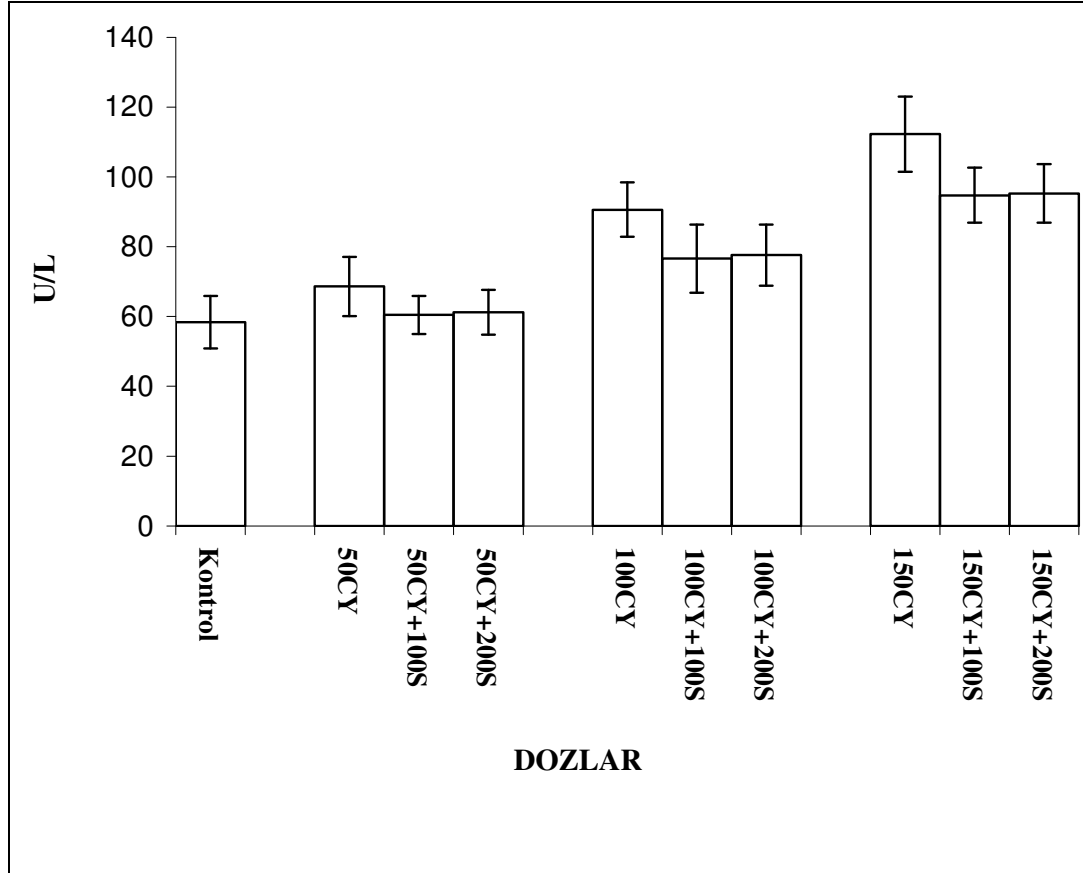
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,01$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Asparatat amino transferaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Çizelge 4.5 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Aspartat amino transferaz (AST) U/L (Ort ± St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	58,37±7,48	Grup2 / 0,064 ^{ns} Grup5 / 0,000 ^{***} Grup8 / 0,000 ^{***}
2 (50 mg/kg CY)	8	68,62±8,46	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	60,50±5,45	Grup2 / 0,013 [*]
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	61,25±6,40	Grup2 / 0,015 [*] Grup3 / 0,725 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	90,62±7,81	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	76,62±9,78	Grup5 / 0,012 [*]
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	77,62±8,70	Grup5 / 0,028 [*] Grup6 / 0,843 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	112,25±10,76	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	94,75±7,85	Grup8 / 0,003 ^{**}
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	95,25±8,41	Grup8 / 0,011 [*] Grup9 / 0,863 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.5 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Aspartat amino transferaz (AST) düzeyleri.

4.3.3. Serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirme

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.6. ve Şekil 4.6' da özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi

arasında karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

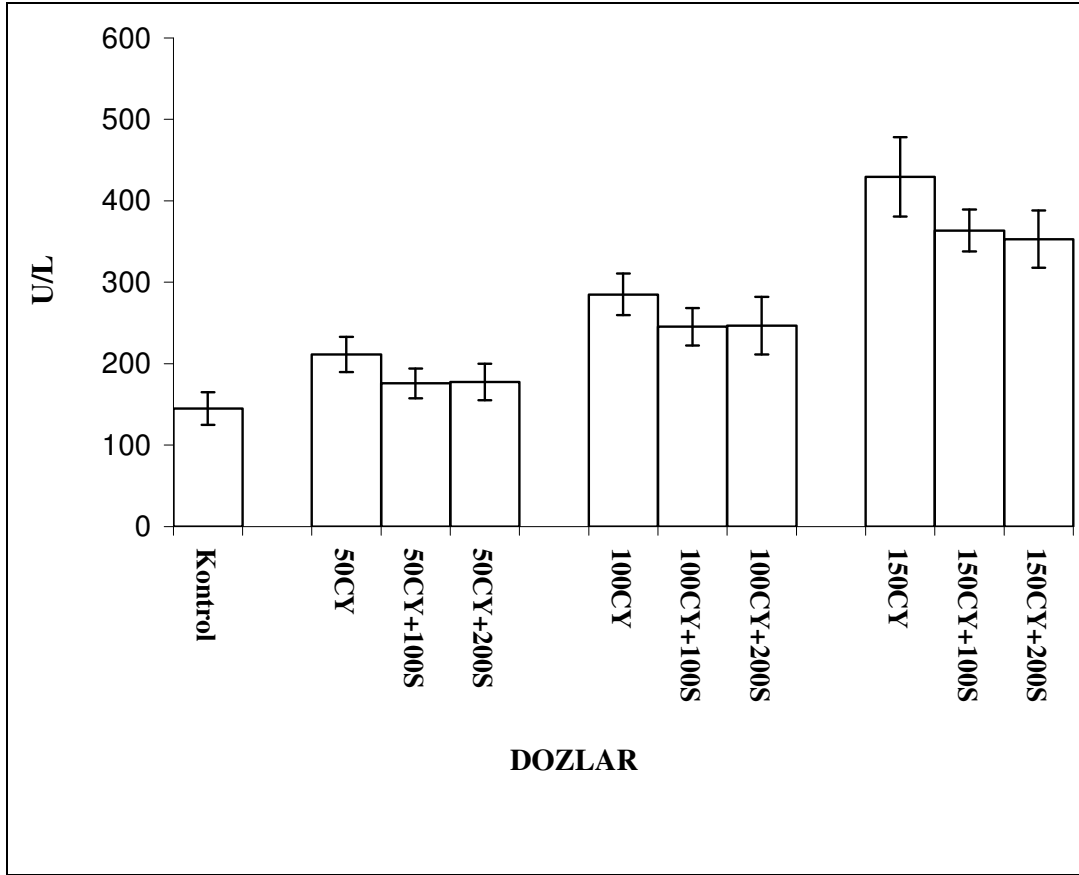
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında serum Laktat Dehidrojenaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Çizelge 4.6 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Laktat Dehidrojenaz (LDH) U/L (Ort ± St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	144,87±20,13	Grup2 /0,001 *** Grup5 /0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	211,25±21,43	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	176,00±18,27	Grup2 / 0,013 *
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	177,50±22,64	Grup2 /0,039 * Grup3 /0,852 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	285,00±25,76	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	245,25±23,10	Grup5 /0,021 *
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	246,50±35,57	Grup5 /0,040 * Grup6 /0,948 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	429,25±48,73	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	363,37±25,85	Grup8 /0,022 *
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	352,87±35,20	Grup8 /0,035 * Grup9 /0,441 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05 ^{ns}; P<0.05 *; P<0.01 **; P<0.001 ***

(^{ns}: fark yok), (*: fark var), (**: önemli fark var), (***: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.6 Kontrol ve deney gruplarına ait serum Laktat Dehidrojenaz (LDH) düzeyleri.

4.4. Karaciğere Homojenatına Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

4.4.1. Karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait karaciğer homojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7' de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).

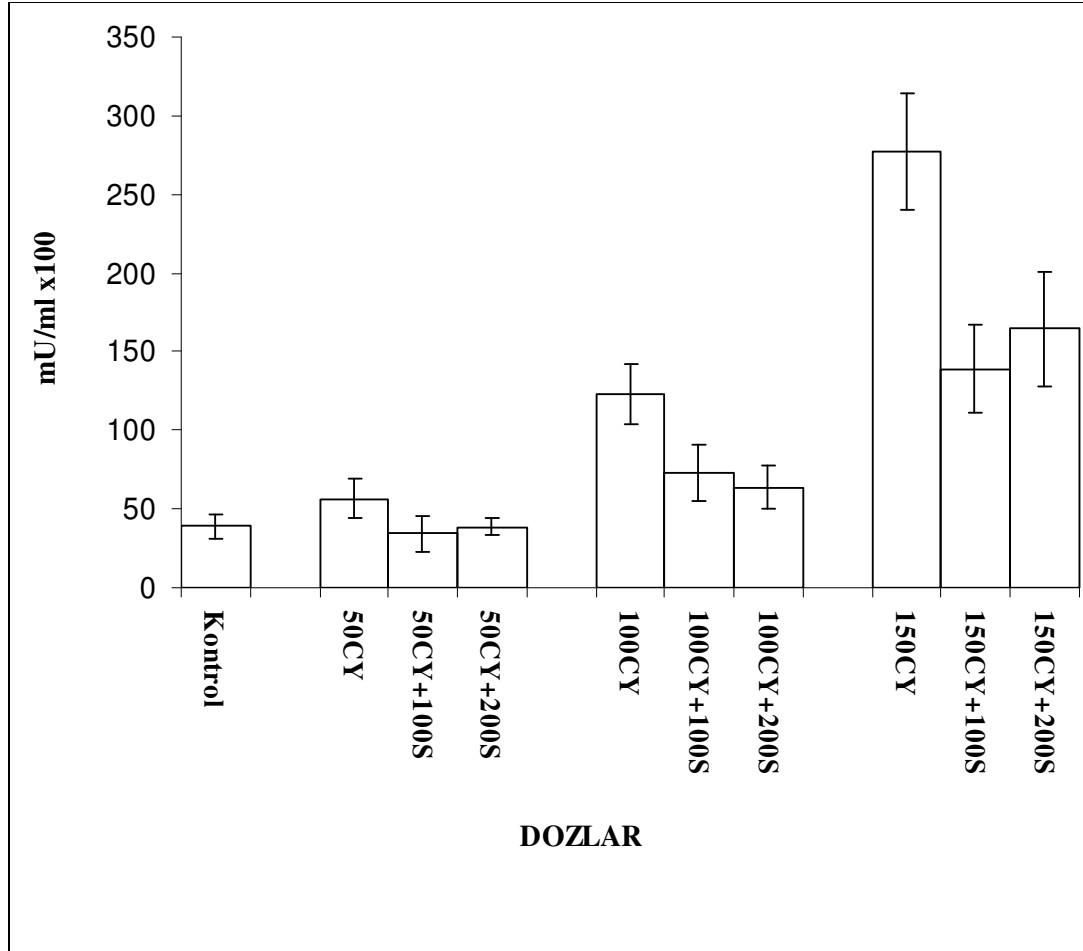
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyinde bir düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında Malondialdehit düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Çizelge 4.7 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Malondialdehit (MDA) mU/ml x100 (Ort ± St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	38,85±7,40	Grup2 / 0,04 * Grup5 / 0,000 *** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	56,57±12,36	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	32,71±6,99	Grup2 / 0,013 *
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	38,71±5,64	Grup2 / 0,025 * Grup3 / 0,404 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	123,28±19,24	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	73,00±17,48	Grup5 / 0,001 ***
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	63,85±13,83	Grup5 / 0,01 *** Grup6 / 0,371 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	277,14±37,44	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	139,00±28,01	Grup8 / 0,001 ***
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	164,28±36,72	Grup8 / 0,001 *** Grup9 / 0,101 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05 ^{ns}; P<0.05 *; P<0.01 **; P<0.001 ***

(^{ns}: fark yok), (* : fark var), (** : önemli fark var), (***) : ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.7 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Malondialdehit (MDA) düzeyleri.

4.4.2. Karaciğer homojenatında Katalaz (CAT) aktivitesine ait bulgular ve istatistiksel değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait karaciğer homojenatında Katalaz (CAT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8' de özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,01$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,01$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında Katalaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

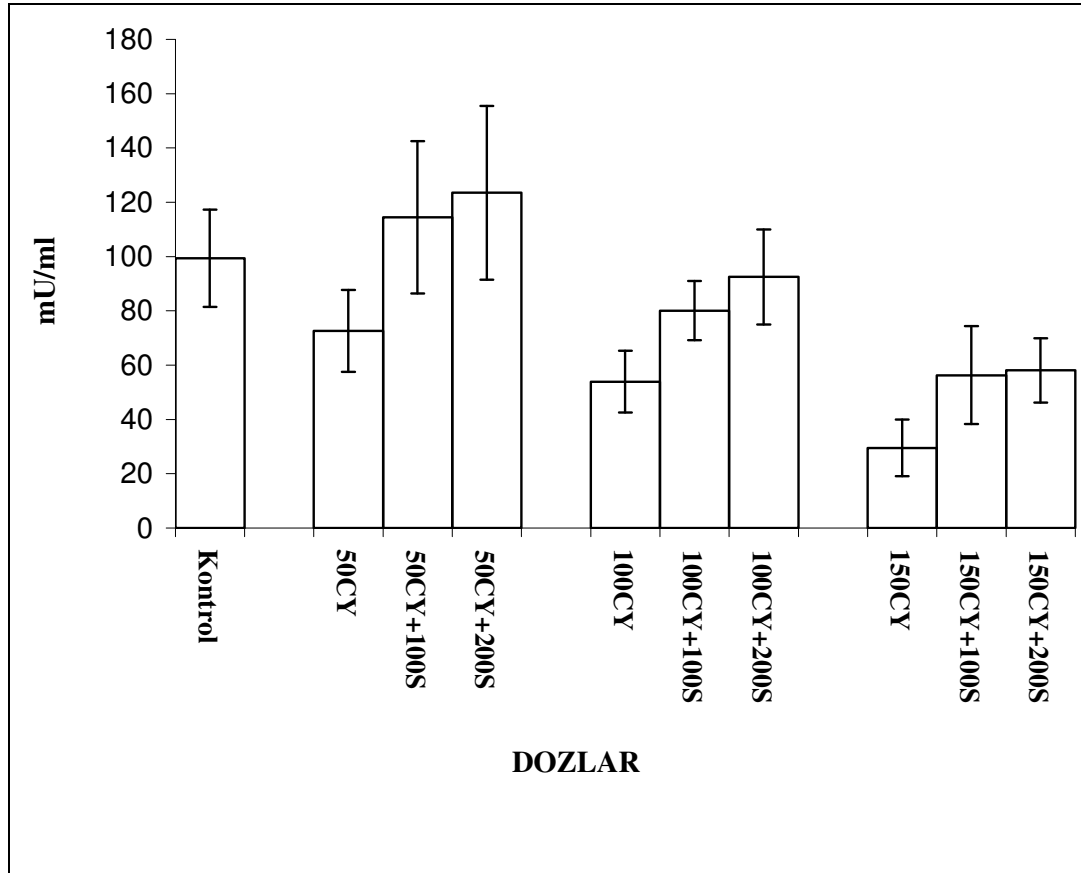
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,01$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,01$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında Katalaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,01$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Katalaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,01$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında Katalaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.8 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Katalaz (CAT) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Katalaz (CAT) mU/ml (Ort ± St. Hata)	Paired-Samples T test
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	99,32±17,92	Grup2 / 0,019 * Grup5 / 0,003 ** Grup8 / 0,000 ***
2 (50 mg/kg CY)	8	72,55±15,15	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	114,41±28,03	Grup2 / 0,002 **
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	123,42±31,97	Grup2 / 0,011 * Grup3 / 0,632 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	53,85±11,30	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	80,09±10,87	Grup5 / 0,004 **
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	92,44±17,52	Grup5 / 0,008 ** Grup6 / 0,260 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	29,48±19,47	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	56,29±18,00	Grup8 / 0,007 **
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	58,02±11,84	Grup8 / 0,009 ** Grup9 / 0,851 ^{ns}

Paired-Samples T testi; P>0.05 ^{ns}; P<0.05 *; P<0.01 **; P<0.001 ***

(^{ns}: fark yok), (*: fark var), (**: önemli fark var), (***: ileri derecede önemli fark var)



Şekil 4.8 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Katalaz (CAT) düzeyleri.

4.4.3. Karaciğer Homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesine Ait Bulgular ve İstatistiksel Değerlendirmeler

Kontrol (Grup 1), hasta grupları (Grup 2, 5 ve 8) ve deney gruplarına (Grup 3, 4, 6, 7, 9 ve 10) ait karaciğer homojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9' da özet olarak verilmiştir. Buna göre;

- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- **Grup 1** (kontrol) ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde düşüş gözlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p<0,001$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** ile sadece 50 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 2** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).
- 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 3** ile 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 4** kendi arasında karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

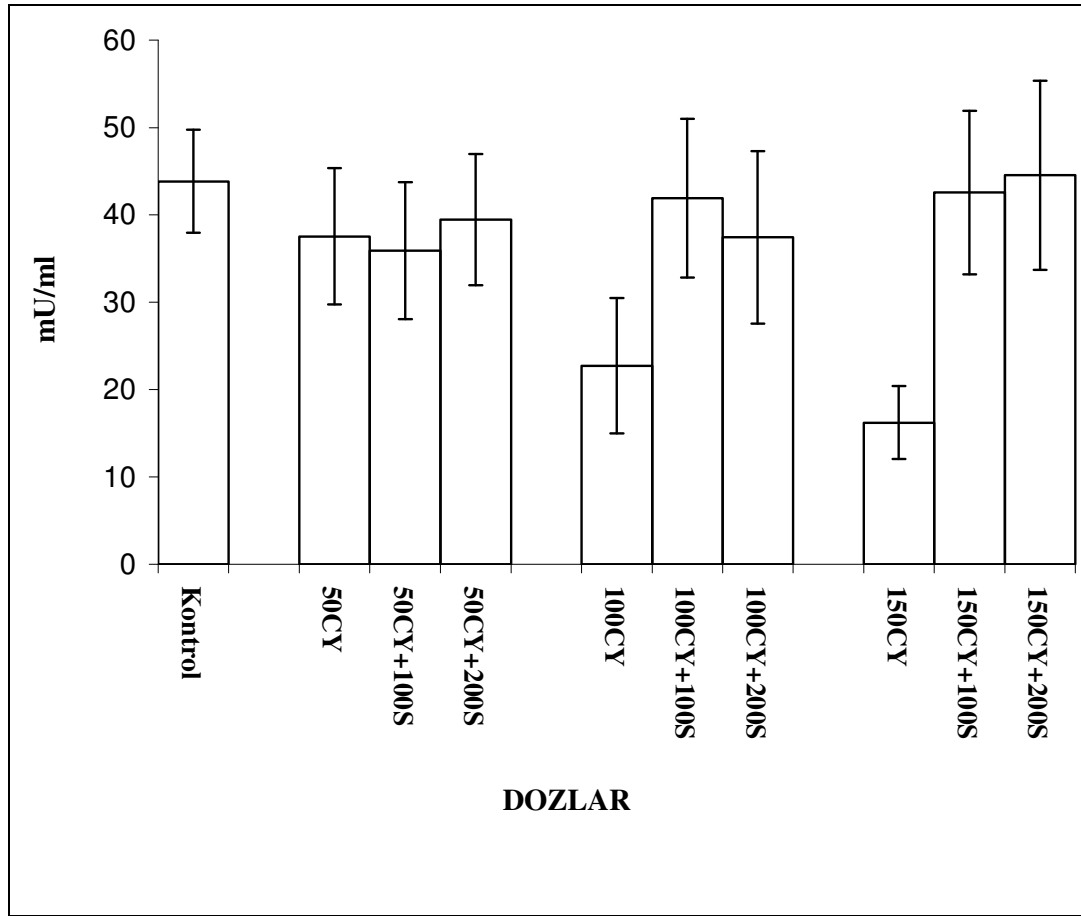
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p < 0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** ile sadece 100 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 5** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ($p < 0,05$).
- 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 6** ile 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 7** kendi arasında karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** ile sadece 150 mg/kg siklofosfamid verilmiş **Grup 8** ile karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. Bu artış istatistiksel olarak ileri derecede önemli bir fark olarak kabul edilmiştir ($p < 0,001$).
- 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 9** ile 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilmiş **Grup 10** kendi arasında karşılaştırıldığında Glutasyon Peroksidaz düzeyi bakımından istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.9 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri ve istatistiksel değerlendirmeleri.

Gruplar	n	Glutasyon Peroksidaz (GPx) mU/ml (Ort ± St. Hata)	<i>Paired-Samples T test</i>
			Karşılaştırma yapılan grup / p değeri
1 (Kontrol)	8	43,84±5,90	Grup2 / 0,78 ^{ns} Grup5 / 0,001 ^{***} Grup8 / 0,000 ^{***}
2 (50 mg/kg CY)	8	37,54±7,79	
3 (50 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	35,92±7,84	Grup2 / 0,773 ^{ns}
4 (50 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	39,47±7,50	Grup2 / 0,679 ^{ns} Grup3 / 0,440 ^{ns}
5 (100 mg/kg CY)	8	22,72±7,76	
6 (100 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	41,91±9,10	Grup5 / 0,016 [*]
7 (100 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	37,43±9,86	Grup5 / 0,038 [*] Grup6 / 0,470 ^{ns}
8 (150 mg/kg CY)	8	16,22±4,17	
9 (150 mg/kg CY + 100 mg/kg S)	8	42,56±9,35	Grup8 / 0,001 ^{***}
10 (150 mg/kg CY + 200 mg/kg S)	8	44,55±10,83	Grup8 / 0,001 ^{***} Grup9 / 0,690 ^{ns}

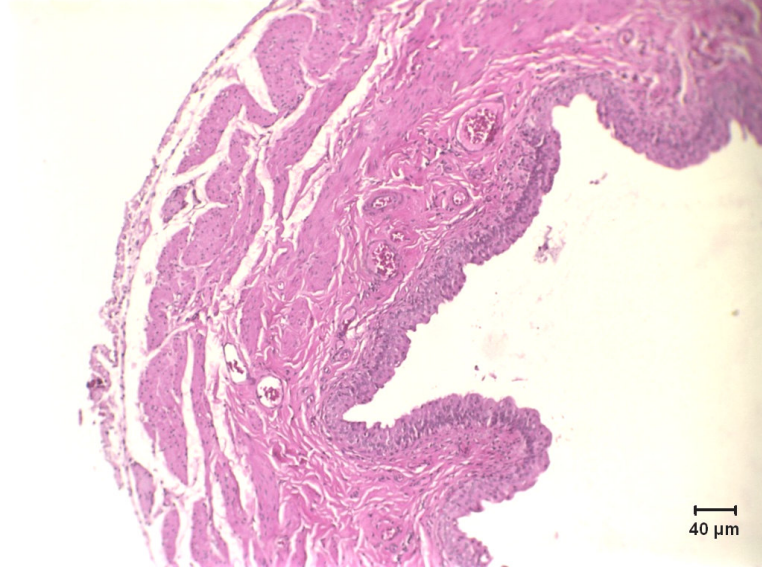
Paired-Samples T testi; P>0.05^{ns}; P<0.05^{*}; P<0.01^{**}; P<0.001^{***}

(^{ns}: fark yok), (^{*}: fark var), (^{**}: önemli fark var), (^{***}: ileri derecede önemli fark var)

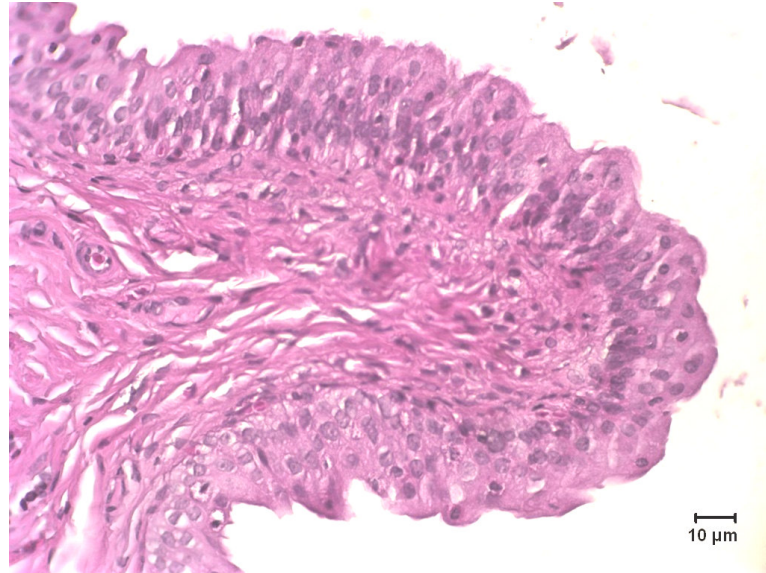


Şekil 4.9 Kontrol ve deney gruplarına ait karaciğer hemojenatında Glutasyon Peroksidaz (GPx) düzeyleri.

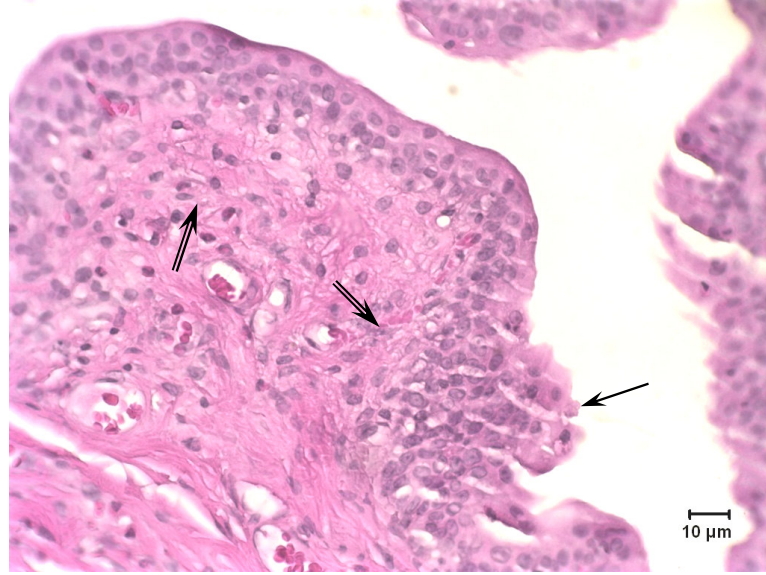
4.5. Mesane Örneklerine Ait Histolojik Sonuçlar



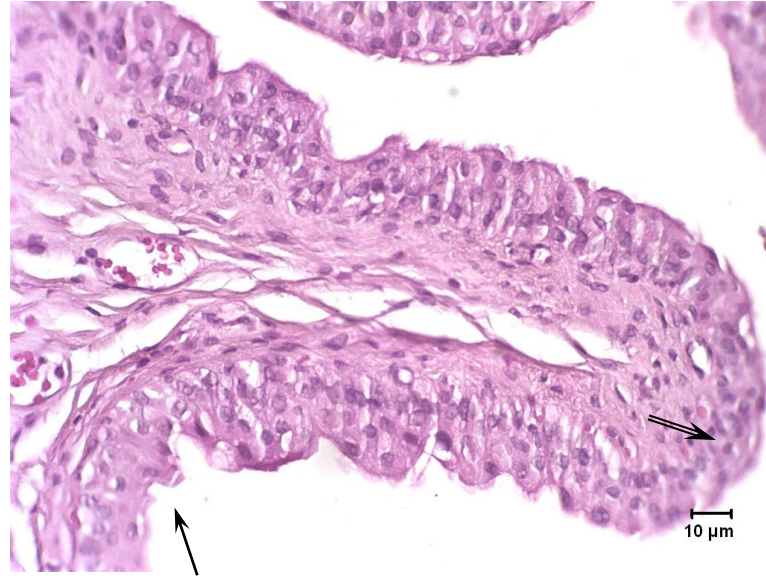
Şekil 4.10 Kontrol grubu: Mesanede tunika mukoza ve tunika muskularis'in genel görünümü.



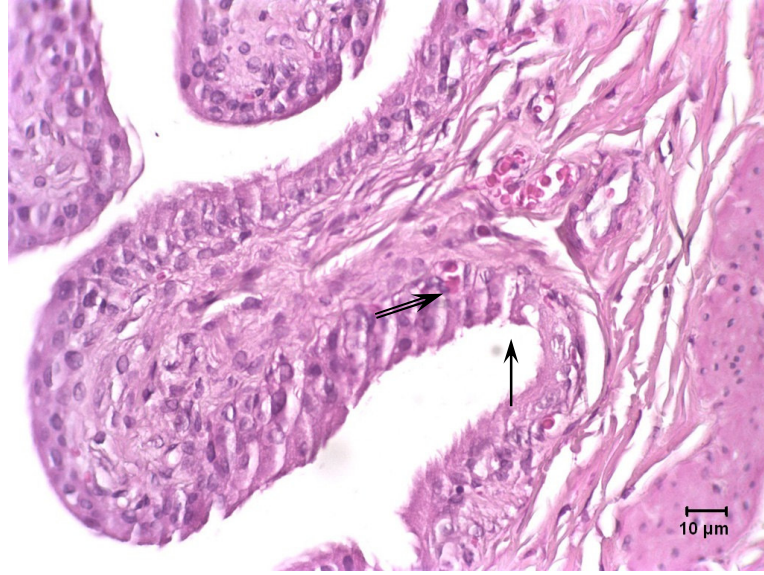
Şekil 4.11 Kontrol grubu: Mesanede lamina epithelialis (çok katlı değişici epitel), lamina propria ve tunika muskularisin genel görünümü.



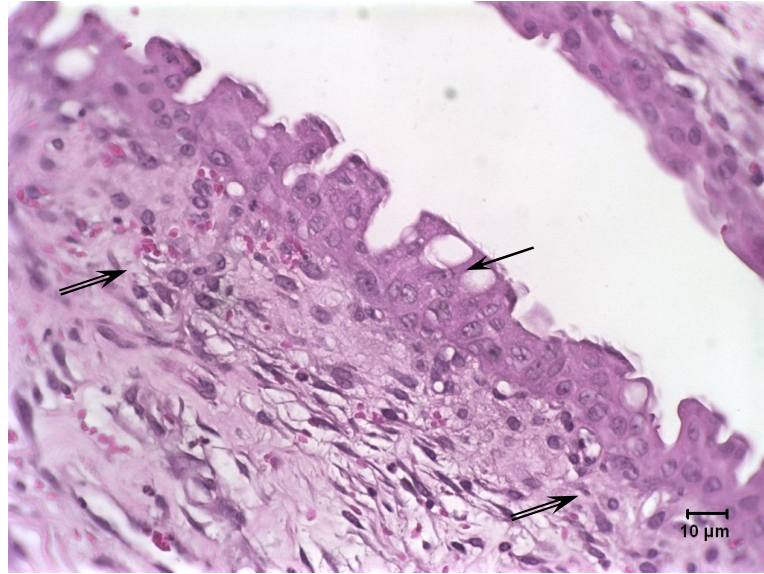
Şekil 4.12 50 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin genel görünümü. Mesanede lamina epithelialis’de hafif ülserasyon (↔) ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler (↗).



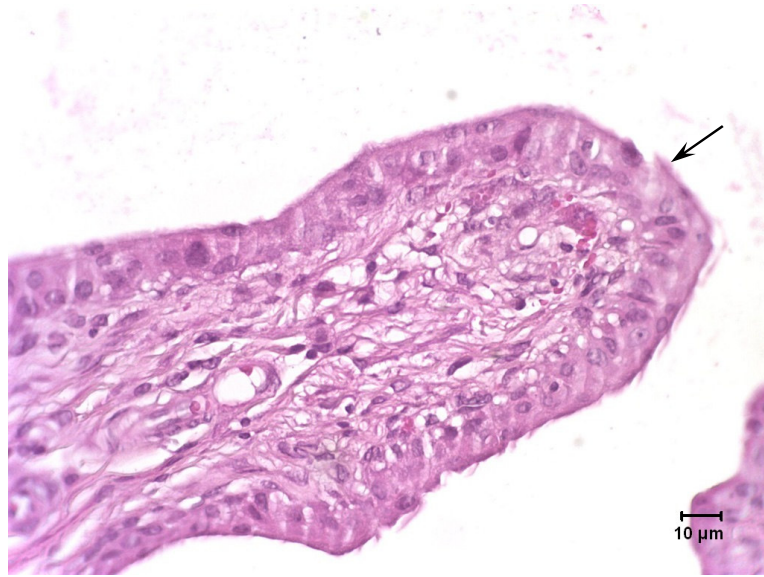
Şekil 4.13 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin genel görünümü. 50 mg/kg siklofosfamid verilen gruba göre mesanede lamina epithelialis’de ülserasyon şiddetinde azalma (↔), lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücelere (↗) daha az oranda rastlanılıyor.



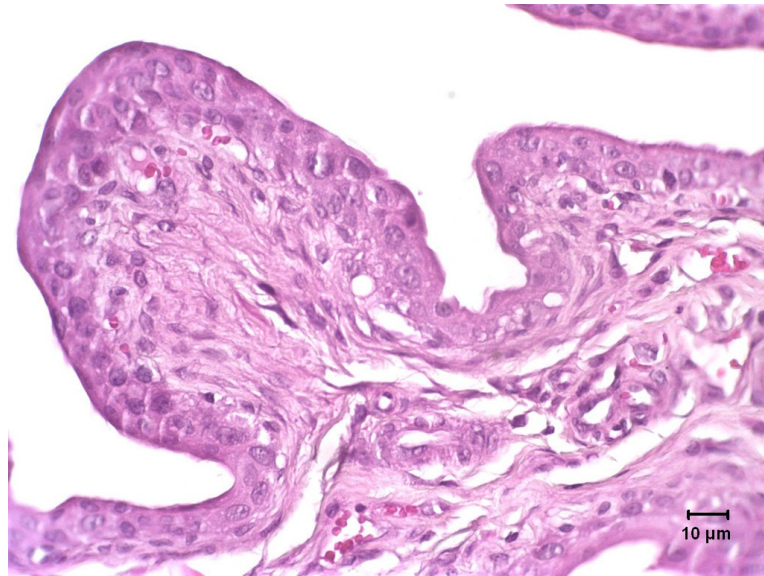
Şekil 4.14 50 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin genel görünümü. 50 mg/kg siklofosfamid verilen gruba nazaran mesanede değişik epitelde ülserasyon (↗), lamina propria tabakasında az oranda hemoraji ve infiltratif hücreler (↗).



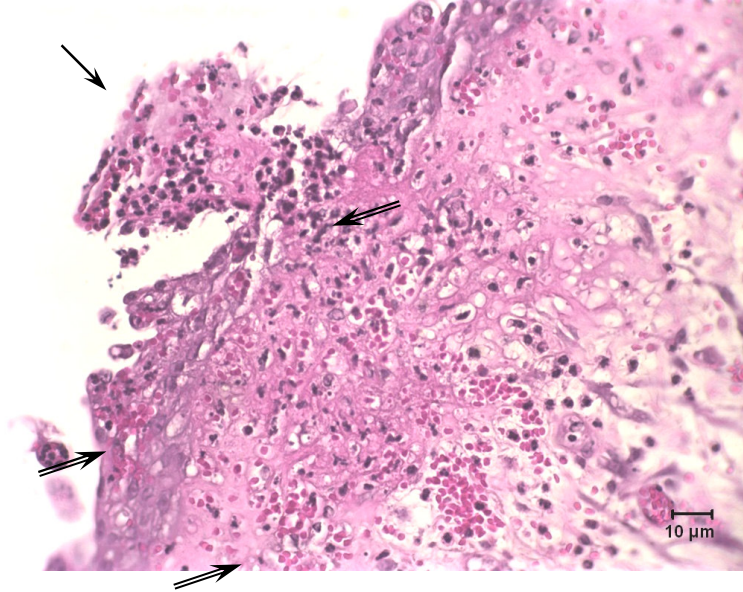
Şekil 4.15 100 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin genel görünümü. Mesanede lamina epitelialis'de ilerlemiş ülserasyon, epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlar (↗) ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler (↗) yoğun halde gözlenmektedir.



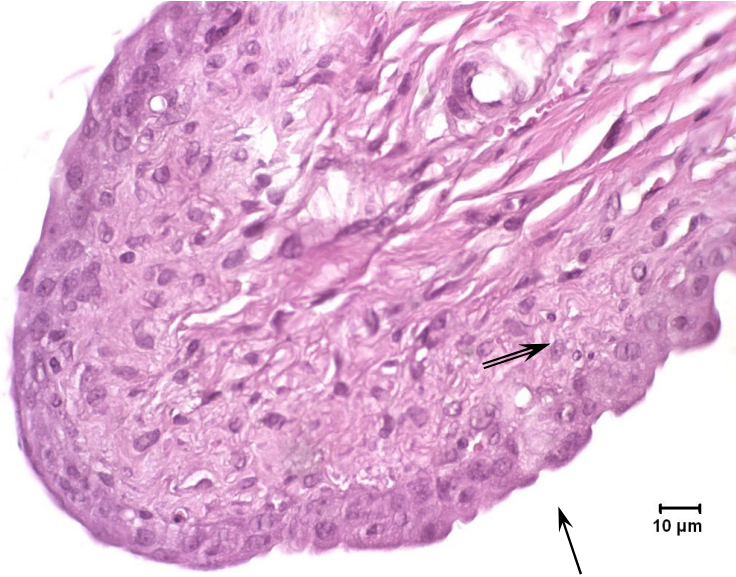
Şekil 4.16 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede lamina epithelialis’de ülserasyonda azalma (↗) ve epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlara neredeyse hiç rastlanmamaktadır.



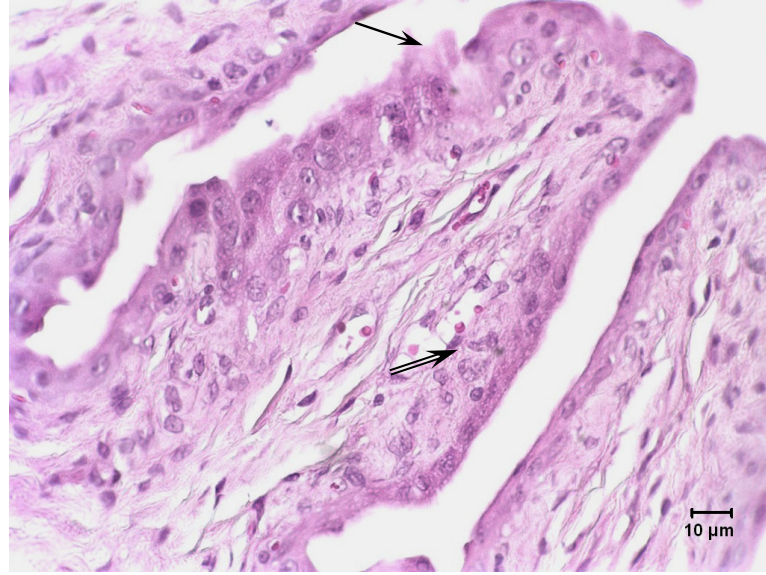
Şekil 4.17 100 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişici epitelde ilerlemiş ülserasyonda azalma ve epitelyum hücrelerinde hidrofobik dejenerasyonlara neredeyse hiç rastlanmamaktadır.



Şekil 4.18 150 mg/kg siklofosfamid verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişik epitelde ileri derecede ülserasyon (↗) ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücreler (↗) yoğun halde gözlenmektedir.



Şekil 4.19 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 100 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişik epitelde ülserasyon (↗) hafif olarak izlenmekte ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücrelere (↗) az sayıda rastlanmaktadır.



Şekil 4.20 150 mg/kg siklofosfamide ek olarak 200 mg/kg silimarin verilen grupta mesanenin görünümü. Mesanede değişik epitelde ülserasyon (↗) hafif olarak izlenmekte, epitelde vakuolizasyona rastlanmakta ve lamina propria tabakasında hemoraji ve infiltratif hücelere (↗) az sayıda rastlanmaktadır.

5. TARTIŞMA

Bu bölümde siklofosfamidin neden olduğu oksidatif strese karşı eksojen antioksidan etkileri olduğu düşünölen silimarinin ve siklofosfamid ile birlikte uygulanmasının, kan sayımına (lökosit, eritrosit ve trombosit) ait sonuçları, kemik iliği çekirdekli hücre sayımına ait sonuçları, serum biyokimyasal analizlere (ALT, AST ve LDH) ait sonuçları ve karaciğer homojenat örneklerinde lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyine etkileri ile endojen antioksidan enzimler olarak bilinen katalaz ve GPx aktivitelerine, ayrıca histolojik olarak mesaneye etkileri sırası ile karşılaştırılıp tartışıldı.

Siklofosfamid, insan ve veteriner hekimliğinde neoplastik ve otoimmün hastalıkların tedavisinde, yine veteriner hekimlikte kimyasal kırkım için kullanılan ve karaciğer sitokrom P-450 sistemi etkisiyle sitotoksik metabolitlere dönüşen, azotlu hardallar grubundan alkilleyici bir ajandır. Hematopoitik sistemin siklofosfamit gibi alkilleyici ajanların etkilerine karşı oldukça hassas olduğu bildirilmektedir. Deneysel olarak hayvanlara azotlu hardalların subletal dozlarının uygulanmasından 6-8 saat sonra kemik iliğinde ve lenfoid dokularda mitozun durduğu ve hücre organellerinin parçalandığı ortaya konmuştur. Genel olarak azotlu hardalların yıkıcı etkisine karşı lenfositlerin diğer kan hücrelerine göre daha hassas olduğu bildirilmektedir. Siklofosfamit ise klinikte kullanıldığında en önemli yan etkileri kemik iliği baskılanması ve lökopeni ile daha seyrek olarak da trombositopenidir. Jalil ve Pandey, siklofosfamit uyguladıkları köpeklerde lökosit sayısını azaldığını bildirmişler ve azalmanın nedenini kemik iliğinde hücre yapımının baskılanması ile açıklamışlardır. Moldovanu ve ark. ise siklofosfamit verdikleri köpeklerde özellikle lökopeni oluştuğunu bildirmişlerdir (Etlik et. al., 1999).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada yalnızca siklofosfamid verilen gruplarda siklofosfamidin dozuna bağlı olarak lökopeni, trombositopeni ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısında mevcut literatürlere uygun bir azalma gözlenmiştir. Siklofosfamide ek olarak silimarin verilen gruplarda lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısındaki artış silimarinin lökosit, trombosit ve kemik iliği üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Siklofosfamidin silimarin ile birlikte verildiği gruplarda lökosit,

trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısına ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlayamadık

Silimarin ve türevlerinin bilinen en önemli özelliklerinden biri, antikanser aktivitesidir. Burada; silimarin, kemoterapötikler tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı dokuları korumada bir antioksidan olarak etki etmesinin yanı sıra karaciğeri de korur.

Laboratuvar çalışmalarında silibin ve silimarinin kimyasal tedavi sırasında yan etkilerinin olmadığı gözlemlenmiştir. İvernizzi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; Polimiyelotik lösemili 34 yaşındaki bir kadında silimarin kullanılmıştır. 18 ay boyunca Metateraksat ve 6-merkaptopürin ile yapılan kemoterapik tedavi sırasında karaciğerde doza bağlı olarak hasarlar oluşmuştur. Daha sonra hastaya 4 ay süresince bu ilaçlara ek olarak 800 mg silimarin uygulandığında hastanın karaciğerinde aminotransferaz seviyeleri normale dönmüştür (Kren, et al., 2005).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada yalnızca siklofosfamid verilen gruplarda siklofosfamidin dozuna bağlı olarak özellikle 100 ve 150 mg/kg siklofosfamid verilen hasta gruplarında ALT, AST ve LDH düzeyinde artış gözlenmiştir. Siklofosfamide ek olarak silimarin verilen gruplarda ALT, AST ve LDH düzeyinde azalış gözlenmiştir. Bu sonuç silimarinin karaciğer üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir. Siklofosfamidin silimarin ile birlikte verildiği gruplarda ALT, AST ve LDH' ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlayamadık.

Homojenatta MDA düzeyi siklofosfamid verilen gruplarda siklofosfamidin dozuna bağlı olarak kontrole göre oldukça yüksek bulundu. Buna karşın siklofosfamid ile silimarinin birlikte verildiği birbirine ve kontrole yakın olarak bulunan değerler silimarinin, siklofosfamidin bozucu etkisini aynı oranda düzelttiğini gösterdi. Siklofosfamidin silimarin ile birlikte verildiği gruplarda homojenat MDA düzeyine ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlayamadık.

Katalaz ve GPx'de hemojenatta siklofosfamid verilen gruplarda siklofosfamid dozuna bağlı olarak kontrole göre önemli düzeyde düşük olması daha öncede bildirildiği gibi, siklofosfamidin antioksidan kapasiteyi azaltarak oksidatif stresi artırdığını göstermektedir. Siklofosfamid ile birlikte silimarin verilen gruplarda katalaz ve GPx aktivitesinin artması siklofosfamid kaynaklı oksidatif stresi azalttığını göstermektedir.

Silimarin; oksidatif hasarla korelasyon gösterdiği, yağ asidi oksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyini düşürdüğü, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen antioksidan enzim aktivitelerini ise artırdığı gözlenmiştir.

Süperoksit radikallerinin yol açtığı oksidatif hasara karşı antioksidan savunmada ilk enzim süperoksit dismutaz (SOD) dur. Süperoksit dismutaz enzimi, süper oksit radikalini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Katalaz ya da glutatyon peroksidaz hidrojen peroksidi zararsız yan ürünlere dönüştürür. Bu yüzden hücresel hasarın şiddetinde önemli rol oynar. Hidrojen peroksidin zararsız hale getirilmesinde glutatyon, glutatyon peroksidaz (GPx) okside glutatyon (GSSG) dönüşür. Glutatyon, okside glutatyon katalizlenirken Glutatyon redüktaz (GR) kullanılarak NADPH üretilir. Katalaz bir hemoproteindir ve aktif formda olabilmesi için NADPH üretimine ihtiyaç vardır. Bu yüzden NADPH bu enzimlerin iş görebilmesinde önemli role sahiptir. NADPH seviyesi glukoz-6- fosfat dehidrogenaz (GP6D) aktivitesine bağlıdır. GR/GPx hücre sitoplazmasında aktif iken, katalaz başlıca peroksidomlarda aktiftir. GSH ve katalazın üretimi için gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolunda üretilir. Silimarin, hücrenin glukoz alımını artırma özelliğine sahiptir. Sonuçta pentoz fosfat yolu ve oksidatif fosforilasyon için enerji kaynağı olarak iş görebilir. Bu sebeple NADPH/NADPH⁺ ın hücredeki seviyesini ve katalaz seviyesini artırır. NADPH seviyesinin dolayısıyla glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin artması ile glutatyon peroksidaz (GPx) için substrat olan Glutatyon (GSH) seviyesi artar. Kısacası, silimarin katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin miktarının artmasına yol açar (Ramakrishnan, et al., 2006). Bu sonuç bulgularımızla uyumlu bulundu.

Silimarin yerine squalin kullanılan ve sıçanlarda siklofosamid kullanılarak yine oksidatif stres oluşturulan bir çalışmada, sadece siklofosamid gruplarında homojenat katalaz ve Glutatyon peroksidaz aktiviteleri kontrol değere göre düşük bulunması (Sentilkumar, 2006) bulgularımızla uyumlu bulundu.

Siklofosamidin antitümoral etkinliğinin artırılabilmesi, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlıdır. Ancak kemik iliği baskılaması ve ve hemorajik sistit oluşturması yüksek dozlarda kullanılmasını önlemektedir. Hemorajik sistit, siklofosamidin kendine özgü bir yan etkisidir. Siklofosamid metabolitleri, özellikle akrolein, mesane mukozası için toksiktir (Ayhancı, 1997).

Bizim çalışmamızda da siklofosfamidin doz artışına paralel olarak 50, 100 ve 150 mg/kg siklofosfamid verilen hayvanlarda gittikçe artan oranlarda hemorajik sistit gözlenmesi bu bilgilerle uyumlu bulundu. Siklofosfamid ile silimarin verilen gruplarda hemojik sistit siddetinde azalma gözlenmesi (özellikle hemorajik sistit ve ülserasyon bakımından) silimarinin mesane mukozası üzerinde antioksidan özelliği sayesinde koruyucu bir etkisin olduğunu göstermiştir. Siklofosfamidin silimarin ile birlikte verildiği gruplarda hemorajik sistit'e ait bulgularımızı karşılaştırabilecek bir literatüre rastlayamadık.

Yapılan bu çalışma sonucunda; siklofosfamidin bilinen bozucu etkisi lökosit, trombosit, kemik iliği çekirdekli hücre sayısında, serumda ölçülen ALT, AST, LDH, karaciğer homojenatında ölçülen MDA düzeyi, katalaz, Glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri ve histolojik bulgularımız ile tekrar doğrulandı.

Lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısında siklofosfamid kaynaklı azalma antioksidan özelliği iyi bilinen silimarinle birlikte nispeten engellenmiştir. Yine aynı şekilde karaciğer üzerine olumlu etkisi iyi bilinen silimarinin serum Alanin aminotransferaz, Aspartat aminotransferaz ve Laktat dehidrogenazDH ölçümleriyle tekrar doğrulanmıştır. Homojenatta, yükselen Malondialdehit düzeyi, antioksidan etkisini bildiğimiz silimarin tarafından kontrol değerlere yaklaştırıldı. Homojenatta siklofosfamidin önemli derecede azalttığı katalaz ve Glutasyon peroksidaz aktivitesi silimarin tarafından artırıldığı bu çalışma da gözlemlendi. Sonuç olarak yapılan histolojik tetkikler kimyasal sonuçlarımızı destekler nitelikte olmakla birlikte, histolojik olarak minimal düzeyde bir hasar tamiri gözlemlendi.

Bu bulguların ışığında, başta kanser tedavisi olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılan siklofosfamidin yüksek dozlarda kullanılabilmesine olanak sağlamak ve siklofosfamidin yan etkilerinin azaltılması noktasında antioksidan özelliği bilinen silimarinin tedaviye destek olarak kullanılabileceği fikri bizde uyanmıştır. Sonuçlarımız literatür bildirimleriyle uygunluk göstermekle beraber bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerektiğine inanıyoruz.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahmad, N., Gali, H., Javed, S., Agarwal, R., 1998, Skin cancer chemoprotective effects of a flavonoid antioxidant silymarin are mediated *via* impairment of receptor tyrosine kinase signaling and perturbation in cell cycle progression, *Biochem Biophys Res Commun* 248, 294–301, p.
- Aktay, G., Deliorman, D., Ergun, E., Ergun, F., Yeşilada, E. and Çevik C., 2000, Hepatoprotective effects of Turkish folk remedies on experimental liver injury, *Journal of Ethnopharmacology* 73, 121-129, p.
- Aoki, T., Murakami, M., Niiya, T., Murai, N., Shimizu, Y., Kato, H. and Kusano, M., 2001, Capacity of hepatic regeneration following a second partial hepatectomy in rats, *Hepatology Research* 21, 228-241, p.
- Ayhancı, A., 1997, Siklofosamid sitotoksitesinin çinko ile etkileşimi, Doktora tezi Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bhatia, N., Agarwal, R., 2001, Detrimental effect of cancer preventive phytochemicals silymarin, genistenin and epigallocatechin 3- galate on epigenetic events in human prostate carcinoma DU145 cells, *The Prostate* 46, 98–107, p.
- Blumenthal, M., Busse, W., 1998, The complete german commission E monographs: Therapeutic guide to herbal medicines, American botanical council and integrative medicine communications, Austin, TX 1998, 685–698, p.
- Bokemeyer, C., Fels, L.M., Dunn, T., Voigt, W., Gaedeke, J., Schmoll, H.J., Stolte, H., Lentzen, H., 1996, Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity, *Br J Cancer* 74, 2036–2041, p.
- De Groot, H., Rauen, M., 1998, Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids, *Fundam Clin Pharmacol* 12, 249–255, p.
- Ding, T., Tian S., Zhang Z., Gu D., Chen Y., Shi Y., Sun Z., 2001, Determination of active component in silymarin by RP-LC and LC/MS. *J. Pharmacol. Biomed. Anal.* 26 (1), 155-161, p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Dorai, T., Aggarwal, B. B., 2004, Role of chemopreventive agents in cancer therapy, *Cancer Lett* 215, 129–140, p.

Etlik, Ö., Sağmanlıgil, V., Tomır, A., 1999, Kobaylarda siklofosfaminin yalnız ve mesna ile kullanılmasının bazı kan parametreleri üzerine etkisi, *Tr. J. Of Veterinary and Animals Sciences*, 23-4, 747-750, p.

Flora, K., Hahn, M., Rosen, H., Benner, K., 1998, Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease, *Am J Gastroenterol* 93, 139–143, p.

Fraschini, F., Dermartini, G., Esposti, D., 2002, Pharmacology of silymarin, *Clin Drug Invest* 22, 51–65, p.

Furuta, K., Kakita, A., Takahashi, T., Tomiya, T. and Fujiwara, K., 2000, Experimental study on liver regeneration after simaltenous partial hepatectomy and pancreatectomy, *Hepatology Research*, 17, 223-236, p.

Goth, L., 1991, A Simple Method for Determination of Serum Catalase Activity and Revision of Reference Range, *Clinica Chimica Acta* 196, 143-152, p.

Jacobs, B. P., Dennehy, C., Ramirez, G., Sapp, J., Lawrence, V.A., 2002, Milk thistle for the treatment of liver disease: A systematic review and meta-analysis, *Am J Med* 113, 506–515, p.

Kaya, Y., Aral, E., Coşkun, T., Erkasap, N., and Var, A., 2002, Increased intraabdominal pressure impairs liver regeneration after partial hepatectomy in rats, *Journal of Surgical Research*, 108, 250-257, p.

Kohno, H., Tanaka, T., Kawabata, K., Hirose, I., Sugie, S., Tsuda, H., Mori, H., 2002, Silymarin, a naturally occurring polyphenolic antioxidant flavonoid, inhibits azoxymethane-induced colon carcinogenesis in male F344 rats, *Int J Cancer* 101, 461–468, p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kosina, P., Maurel, P., Ulrichova, J., Dvorak, Z., 2005, Effect of silybin and its glycosides on the expression of cytochromes P450 1A2 and 3A4 in primary cultures of human hepatocytes, *J Biochem Mol Toxicol* 19, 149–153, p.
- Kren, V., Walterova D., 2005, Silybin and silymarin-new effects and new applications. *Biomed. Papers* 149 (1), 29-41, p.
- Kuhlmann, M.K., Horsch, E., Burkhardt, G., Wagner, M., Kohler, H., 1998, Reduction of cisplatin toxicity in cultured renal tubular cells by the bioflavonoid quercetin, *Arch Toxicol* 72, 536–540, p.
- Kumar, K.B.H., Kuttan, R., 2005, Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice, *Phytomedicine* 12, 494-500, p.
- Kurt, H., 2003, Sıçanlarda karbon Tetrakloritin oluşturduğu oksidatif stresin likopen ile önlenmesi, Doktora tezi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kurt, H., Başaran A., Aral E., 2005, Sıçanlarda karbon tetrakloritin (CCl₄) oluşturduğu oksidatif stresin kateşin ve likopen ile önlenmesi, Doktora tezi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Ladas, E.J., Kelly, KM., 2003, Milk thistle: Is there a role for its use as an adjunct therapy in patients with cancer?, *J. Alternative and Complementary Med.* 9, 411–416, p.
- Lahiri-Chatterjee, M., Katiyar, S.K., Mohan, R.R., Agarwal, R., 1999, A flavonoid antioxidant silymarin affords exceptionally high protection against tumor promotion in the SENCAR mouse skin tumorigenesis model, *Cancer Res* 59, 622–632, p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Morazzoni, P., Bombardelli, E., 1995, *Silybum marianum* (*Carduus marianus*), *Fitoterapia* 64, 3–42, p.
- Nencini, C., Giorgi, G., Micheli, L., 2007, Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. *Phytomedicine* 14, 129-135, p.
- Ramakrishnan, G., Raghavendran, H.R.B., Vinodhkumar, R., Devaki, T., 2006, Suppression of N-nitrodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats, *Chemico-Biological Interactions* 161, 104-114, p.
- Sanz, N., Fernandez, C.D., Simon, L.F., Alvarez, A. and Cascales, M., 1998, Necrogenic and regenerative responses of liver of newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1384, 66-78, p.
- Senthilkumar, S., Yogeeta, S.K., Subashini, R., Devaki, T., 2006, Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats, *Chemico-Biological Interactions* 160, 252-260, p.
- Simanek, V., Kren, V., Ulrichova, J., Vicar, J., Cvak, L., 2000, Silymarin: What is in the name?, *Hepatology* 32, 442–443, p.
- Simanek, V., Walterova, D., Vicar, J., Urbanikova, J., Kren, V., Modrianski, M., Skottova, N., Ulrichova, J., 2001, "Silymarin", extract from the milk thistle (*Silybum marianum*) – medicine or a nutraceuticals?, *Ceska a Slovenska Farmacie* 50, 66–69, p.
- Singh, R.P., Tyangi, A.K., Zhao, J., Agarwal, R., 2002, Silymarin inhibits growth and causes regression of established skin tumors in SENCAR mice *via* modulation of mitogen-activated protein kinases and induction of apoptosis, *Carcinogenesis* 23, 499–510, p.
- Thelen, P., Jarry, H., Ringert, R.H., Wuttke, W., 2004, Silibinin downregulates prostate epithelium-derived Ets transcription factor in LNCaP prostate cancer cells, *Planta Med* 70, 397–400, p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Theocharis, S.E., Margeli, A.P., Skaltsas, S.D., Spiliopoulou, C.A. and Koutselinis S., 2001, Induction of metallothionein in the liver of carbon tetrachloride intoxicated rats: an immunohistochemical study, *Toxicology* 161, 129-138, p.
- Tyagi, A.K., Agarwal, C., Chan, D.C.F., Agarwal, R., 2003, Synergistic anti-cancer effects of silibinin with conventional cytotoxic agents doxorubicin, cisplatin and carboplatin against human breast carcinoma MCF-7 and MDA-MB468 cells, *Oncol Rep* 11, 493–499, p.
- Uchiyama, M., Mihara, M., 1978, Determination Of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test, *Analytical Biochem* 86, 279-286, p.
- Vinh, .PQ., Sugie, S., Tanaka, T., Hara, A., Yamada, Y., Katayama, M., Deguchi, T., Mori, H., 2002, Chemopreventive effects of a flavonoid antioxidant silymarin on *N*-butyl-*N*-(4-hydroxybutyl)nitrosamineinduced urinary bladder carcinogenesis in male ICR mice, *Jpn J Cancer Res* 93, 42–49, p.
- Zhao J, Lahiri-Chatterjee M, Sharma Y, Agarwal R. (2000) Inhibitory effect of a flavonoid antioxidant silymarin on benzoyl peroxide- induced tumor promotion, oxidative stress and inflammatory responses in SENCAR mouse skin. *Carcinogenesis* 21, 811–816.
- Zhu, W., Zhang, J.S., Young, Y.F., 2001, Silymarin inhibits function of the androgen receptor by reducing nuclear localization of the receptor in the human prostate cancer cell line LNCaP, *Carcinogenesis* 22, 1399–1403, p.
- Zi, X., Agarwal, R., 1999, Silibinin decreases prostate-specific antigen with cell growth inhibition via G1 arrest, leading to differentiation of prostate carcinoma cells: implications for prostate cancer intervention. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 7490–7495, p.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gökhan BAYRAMOĞLU
Doğum Yeri-Tarihi : Eskişehir, 15.06.1973
Uyruğu : T.C
Görevi : Araştırma Görevlisi
Görev Yeri : Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
Meşelik 26480 Eskişehir
Yabancı Dil : İngilizce (intermediate) **Mail:**gokhanb@ogu.edu.tr

Eğitimi

1991–1995 :Osmangazi Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden mezun oldu.

1998 : Osmangazi Ünivesitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilimdalı Zooloji Bilim Dalından “Gümüş Nitratın Rat Derisi Üzerine Histopatolojik Etkisi” isimli yüksek lisans tezi ile mezun oldu. Osmangazi Üniversitesi, Fen–Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak göreve başladı.

1999 :Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Genel Biyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimine başladı.