

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı
Karvakrol'ün Koruyucu Etkisi

Songül ÇETİK

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Mart 2014

Protective Effect of Carvakrol Against Oxidative Stres and Heart Injury in
Cyclophosphamide–Induced Cardiotoxicity in Rat

Songül ÇETİK

DOCTORAL DISSERTATION

Department of Biology

March 2014

Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksistide Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı
Karvakrolün Koruyucu Etkisi

Songül ÇETİK

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Bilim Dalında

DOKTORA TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. Adnan Ayhancı

Bu tez B.30.2.OGÜ.0.05.05.00/543 sayılı ve 201019007 nolu projesi olarak Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Projeler Komisyonunca desteklenmiştir.

Mart 2014

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Songül Çetik' in DOKTORA tezi olarak hazırladığı “ *Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Karvakrol' ün Koruyucu Etkisi* ” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Danışman : *Doç.Dr. Adnan AYHANCI*

İkinci Danışman : -

Doktora Tez Savunma Jürisi:

Üye : *Doç.Dr. Adnan AYHANCI*

Üye : *Prof.Dr. Mehtap KUTLU*

Üye : *Prof.Dr. Varol ŞAHİNTÜRK*

Üye : *Doç.Dr. Ahmet MENTEŞE*

Üye : *Yard.Doç.Dr. Figen ÇALIŞKAN*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nimetullah BURNAK

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışma kekik yağının başlıca bileşeni olan karvakrol (Car)' ün Siklofosfamid (CP) nedenli kardiyotoksisiteye karşı muhtemel koruyucu etkisini araştırmak için planlandı. CP birçok neoplastik tümörlerin tedavisinde kullanılan değerli bir kemoterapötik ajandır. Kardiyotoksisite yoğun CP tedavisinde önemli bir doz sınırlayıcı faktördür. Deneysel çalışmamızda Sprague-Dawley cinsi sağlıklı, erkek sıçanlar her grupta 7 sıçan olacak şekilde 13 gruba bölündü (kontrol, zeytinyağı, 50-100-150 mg/kg CP grupları, 5 ve 10 mg/kg Car grupları, CP+5 Car ve CP+10 mg/kg Car grupları). Tüm enjeksiyonlar intraperitoneal (i.p.) olarak yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara 0.5 mL serum fizyolojik verildi. 5 ve 10 mg/kg Car verilen gruplarla 0.5 mL zeytinyağı verilen gruplara bu dozlar deney sonuna kadar verildi. CP ile birlikte Car verilen gruplarda Car uygulamasına CP uygulamasından 3 gün önce başlandı ve deney sonuna kadar devam edildi (6 gün). 4. gün hayvanlar tekrar tartıldı, CP dozları hesaplandı ve CP+Car birlikte verildi. Sadece CP verilen gruplarda CP uygulamasından üç gün sonra anestezi yapıldı. Böylece 4. ve 7. günlerde hayvanlardan anestezi altında intrakardiyak kan alımı yapıldıktan sonra kalpleri alındı. Kardiyotoksisiteyi belirlemek için serum kreatin kinaz-MB (CK-MB), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), total oksidan seviyesi (TOS), total antioksidan seviyeleri (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) düzeyleri ölçüldü. Rutin histolojik doku takibinden sonra alınan kalp dokusu kesitleri hemotoksilen - eozin boyasıyla boyanarak kalp dokusu histopatolojisi değerlendirildi. Sadece CP verilen gruplarda serum ALT, AST, LDH, MDA, CK-MB ve TOS düzeylerinin doz artışına paralel olarak yüksek bulunması CP nedenli kardiyotoksisitenin doza bağımlı olduğunu göstermektedir. Kalp dokusunda görülen kanama, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kas liflerinde ayrılmalar biyokimyasal bulgularımızı desteklemektedir. 5 ve 10 mg/kg Car' ün bu dozlardaki CP toksisitesini önemli oranda azaltması CP nedenli kardiyotoksisitenin oksidatif ve nitrozatif strese bağlı olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak Car varlığında kalp dokusundaki inflamasyonun ve lipid peroksidasyonunun azalması, GSH ve TAS düzeyinin artması bunu doğrulamaktadır. Çalışmamız CP nedenli kardiyotoksisitenin azaltılmasında veya önlenmesinde Car' ün iyi bir aday olduğunu göstermektedir ancak bu konuda daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar sözcükler: Siklofosfamid, oksidatif stres, kardiyotoksisite, karvakrol, antioksidan, sıçan.

SUMMARY

This study examined the possible protective effects of carvacrole (car) against cyclophosphamide (CP)-induced cardiotoxicity. CP which is used as a chemotherapeutic agent, is used to treat neoplastic tumors. In CP treatment, cardiotoxicity is a vital dose limiting factor. In this study, healthy, male Spraque-Dawley rats were separated in 13 groups having 7 groups in each (control, 50-100-150 mg/kg CP groups, 0.5 mL olive oil, 5-10 mg/kg Car groups and CP+5 and CP+10 mg/kg Car groups). All injections were intraperitoneal (i.p.). 0.5 ml volume of serum physiologic (SF) was given to rats in the control group. 5 and 10 mg/kg car, and 0.5 mL olive oil were given to the groups until the end of the experiment. In the groups treated with CP+Car, before CP administration Car was given 3 days before and continued until the end of the experiment (6 day). 4. day the rats were weighed again, the doses of CP were calculated and CP+Car were injected. In alone CP-related groups, after 3 days of CP administration the animals were sacrificed. Therefore at 4. and 7. day of the experiment, intracardiac blood samples and hearts from all animals were taken under anesthesia. To determine the cardiotoxicity serum creatine kinase (CK-MB), alanine transaminase (ALT), aspartat transaminase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total oxidant state (TOS), total antioxidant capacity (TAC) ve oxidative stress index (OSI) levels were measured. After following the routine histological tissue, the section heart tissues were stained with hemotoxilen-eosine for evaluating the tissues histopatologically. Only in the CP groups the serum ALT, AST, LDH, MDA, CK-MB and TOS levels were high and parallel to the increase of the dose dependent in CP-induced cardiotoxicity. The hemorrhage, inflammatory cell infiltration and, the separation of the muscle fibers in heart tissue supported our biochemical data. Car of 5 and 10 mg/kg leading a vital decrease in CP toxicity and showed that it is related to oxidative and nitrosative stress in CP induced cardiotoxicity. As a matter of fact, car decreased the inflammation and lipid peroxidation in heart tissue and the increase of serum GSH and TAC levels confirms our data. Our study suggests car is a strong candidate in decreasing or preventing CP induced cardiotoxicity but there should be done further comprehensive studies.

Keywords: Cyclophosphamide, oxidative stress, cardiotoxicity, carvacrole, antioxidant, rat

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesinde, tüm çalışmalarım ve tüm okul yaşantımda bana danışmanlık ederek, beni yönlendiren, her türlü olanağı, desteği sağlayan danışmanım Sayın Doç. Dr. Adnan AYHANCI' ya en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca desteklerini gördüğüm, bilgilerinden yararlandığım değerli hocalarım Varol ŞAHİNTÜRK, Sema USLU, Ahmet MENTEŞE' ye sonsuz teşekkür ederim. Tez çalışmam sürecinde desteklerini esirgemeyen Sibel GÜNEŞ, Mürvet DEMİRKAYA, Yasemin TEKİN' e sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her anında karşılıksız sevgileri ve maddi, manevi destekleriyle yanımda olan, varlıklarıyla bana gurur ve onur veren, her sınavımda benim kadar heyecan, stres yapıp dualarını esirgemeyen başta sevgili babam Şemsettin Çetik ve annem Hanife ÇETİK olmak üzere, abim M. Hadi ÇETİK, ablalarım Vesile ve Kezban ÇETİK, kardeşlerim Saim ve Gülşah ÇETİK' e teşekkür ederim.

Ve bu doktora tezimi doktora eğitim sürecimde (23 Ekim 2011 Van Erciş depreminde) yitirdiğim, acısı hiç dinmeyen, aklımdan, ruhumdan, gözlerimin önünden hiç gitmeyen canım, kardeşim, dostum Hacer ÖZGÜR' ün ruhuna hediye ediyorum. Allaha rahmet diliyorum...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY.....	vi
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLO DİZİNİ	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1.Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	5
Serbest Radikal Oluşturan Başlıca Mekanizmalar	9
2.1.1. Otooksidasyon	9
2.1.2. Geçiş metal iyonlarının etkisi	11
2.1.3. Fotooksidasyon	13
2.1.4. Enzimatik oksidasyonlar	14
2.1.5. Halojenlenmiş hidrokarbonlar	15
2.2.Kanser ve Serbest Oksijen Radikallerin İlişkisi	16
2.2.1. Oksidatif stresin tümör başlamasındaki rolü	20
2.2.2. Oksidatif stresin tümör gelişmesindeki rolü	21
2.2.3. Oksidatif stresin tümör ilerlemesindeki rolü	22
2.3.Lipid Peroksidasyonu	22
2.4.Myelosüpresyon	25

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

2.5. Mitokondriyal Disfonksiyon	27
2.6. Kemoterapi ve Prensipleri	28
2.7. Kemoterapötik Ajanlar	34
Alkilleyiciler	34
2.7.1. Nitrojen mustard analogları	36
2.7.2. Etileniminler	37
2.7.3. Alkilsülfonatlar	37
2.7.4. Nitrosüreler	38
2.7.5. Diğer Alkilleyici Ajanlar	38
2.8. Siklofosfamid	39
2.9. Kemoterapik Ajanlar ve Kardiyotoksik Yan Etkileri	42
2.10. Antioksidanlar	45
2.11. Karvakrol (Car)	57
2.11.1. Karvakrol' ün kimyasal özellikleri	60
2.11.2. Karvakrol' ün antioksidan etkileri.....	61
2.12. Karaciğer Enzimleri	61
Aminotransferazlar	61
2.12.1 Aspartat Transaminaz (AST)	63
2.12.2. Alanin Transaminaz (ALT)	63
2.12.3. Laktat dehidrogenaz (LDH)	64
2.13. Malondialdehit (MDA)	65
2.14. Kreatin kinaz(CK) ve Kreatin kinaz-MB (CK-MB)	67

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

3. GEREÇ ve YÖNTEM	69
3.1. Kullanılan Gereçler	69
3.2. Yöntemlerin Uygulanması	69
3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması	69
3.2.2. Siklofosfamid ve Karvakrol uygulaması	70
3.3. Kalpten Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması	72
3.4. Serum Kreatinkinaz-MB(CK-MB) Düzeyinin Belirlenmesi	73
3.5. Plazma Malondialdehid (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi	73
3.6. Serum Glutasyon (GSH) Düzeyinin Ölçülmesi	74
3.7. Total Oksidan Seviyenin (TOS) Ölçümü	75
3.8. Total Antioksidan Kapasitenin (TAS) Ölçümü	75
3.9. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Ölçümü	75
3.10. Histolojik İncelemeler	76
3.11. İstatistiksel Değerlendirmeler	76
4. BULGULAR	77
4.1. Biyokimyasal Bulgular	77
4.2. Histolojik Bulgular	113
5. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER	117
KAYNAKLAR DİZİNİ	123

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

ml	Mililitre
mg	Miligram (miligram)
kg	Kilogram
nm	Nanometre
μ	Mikron
IU/L	International unit/litre
μmol	Mikromol

Kısaltmalar

Kısaltmalar

Açıklamalar

CP	Siklofosfamid
Car	Karvakrol
AO	Antioksidan
SR	Serbest Radikaller
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
ROT/ ROB	Reaktif Oksijen Türleri/Bileşikleri
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
GSH	Glutasyon
GPx	Glutasyon peroksidaz
CK	Kreatin kinaz
CK-MB	Kreatin kinaz MB
MDA	Malondialdehit
AST	Aspartat transaminaz (SGOT)
ALT	Alanin transaminaz (SGPT)
PUFA	Çoklu doymamış (poliansatüre) yağ asidi
LDH	Laktat dehidrogenaz

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
TAS	Total antioksidan seviye
TOS	Total oksidan seviye
OSİ	Oksidatif stres indeksi
OH [·]	Hidroksil radikali
ROOH	Hidroperoksit
NO [·]	Nitrik oksit
NO ₂ [·]	Nitrojen dioksit
LOO [·]	Lipit peroksit radikali
RNS	Reaktif nitrojen türleri
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit
¹ O ₂	Singlet oksijen
O ₂ ^{-·}	Süperoksit
NOS	Nitrik Oksit Sentetaz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentetaz
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentetaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.8. Siklofosfamid (CP) metabolizması	40
2.10. GSH' ın antioksidan işlevi	57
2.11. Karvakrol'ün açık kimyasal formülü.....	59
4.1. 50-100-150 mg/kg CP verilen deney grupları, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car verilen gruplar ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının CK-MB seviyeleri	96
4.2. 50-100-150 mg/kg CP verilen deney grupları, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car verilen gruplar ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının MDA seviyeleri	98
4.3. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının GSH seviyeleri	100
4.4. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının ALT seviyeleri	102
4.5. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının AST seviyeleri	104
4.6. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının LDH seviyeleri	106

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

- 4.7. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının TOS seviyeleri 108
- 4.8. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının TAS seviyeleri 110
- 4.9. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verine deney gruplarının OSI seviyeleri 112
- 4.2.1 Her dört gruba ait kalp dokularının normal histolojik görünümde olduğu izlenmektedir. Hematoksilen eozin boyama, barlar 50 µm' dir 113
- 4.2.2 50 CP grubuna ait kalp kesitinde iltihabi hücre odağı, asidofilik boyanmış kas hücreleri ve heterokromatik hücre çekirdekleri; 100 CP grubuna ait kesitte kas lifleri arasında kanamaya işaret eden eritrositler ve 150 CP grubunda kas liflerinin 114
- 4.2.3 50, 100 ve 150 CP ile birlikte 5mg/kg dozunda Car verilen gruplara ait kesitlerde kas hücrelerinin aralarında ayrılmalar olduğu, hücrelerin normal boyanma özelliklerini yitirdikleri, hücrelerin içerisinde vakuollerin 115
- 4.2.4 50, 100 ve 150 CP ile birlikte 10mg/kg dozunda Car verilen gruplara ait kesitlerde kas hücrelerinin normal boyanma özelliklerine ve yapıya sahip oldukları ve yüksek dozdaki Car ile düzelme sağlandığı görülmektedir 116

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1.	Uygulanan Siklofosfamid ve Karvakrol'ün gruplara göre dağılımı 71
3.2.	Siklofosfamid ve Karvakrol' ün gruplara uygulanma şekli 72
4.1.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının CK-MB değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 78
4.2.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının MDA değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 80
4.3.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının GSH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 82
4.4.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının ALT değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 84
4.5.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının AST değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 86
4.6.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının LDH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 88
4.7.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TOS değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 90
4.8.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TAS değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması 92
4.9.	50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının OSİ değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması94

1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ve halen gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan ölümcül bir hastalıktır (Türker ve Kayaalp, 2002; Gate and Tew, 2001). Günümüzde kanser tedavisinde, kanser tanısı konan hastaların bireysel özellik ve hastalık durumuna göre kemoterapi, radyoterapi, cerrahi ve immünoterapi yöntemlerinden bir veya birkaçı kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemleri ile hastaların yaşam süresinin uzaması ve daha nitelikli yaşaması amaçlanmaktadır. Ancak kullanılan yöntemle ilgili olarak tedavi ile ilgili zorluklar ve toksik etkiler de söz konusudur. Özellikle radyoterapi ve kemoterapi normal hücrelere de zarar vermektedir (Kızılcı, 1999).

Kanser hastalarında antineoplastik kemoterapinin gelişmesi ve destek tedavisi ile mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalmış olmasının yanında yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (Meister and Meadows, 1993).

Kanser kemoterapisinin esası; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse onları yok etmektir. Ancak antineoplastik ilaçların kanser hücrelerine karşı olan selektiflikleri, antibiyotiklerin bakteri hücrelerine karşı olan selektifliklerinden daha azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur; mevcut fark daha çok kantitatif yöndedir. Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Bu nedenle çoğu kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerine de yan etkileri vardır (Kintzel, 2001).

Antikanser ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onların ölümüne yol açarlar. Radikal bir tedavi vücutta tek bir malign hücre kalmaksızın tüm hücrelerin yok edilmesi ile mümkündür. Ancak böyle bir durum az sayıdaki istisnalar dışında halen varolan ilaçlarla sağlanamamaktadır. Antineoplastik ilacın terapötik etkinliğini kısıtlayan önemli bir faktör, tümör hücrelerinin ilaca azalmış hassasiyeti, bir başka deyişle ilaca karşı direnç gelişimidir. Bu durum bazı kanser türlerinde kendiliğinden olabildiği gibi (doğal veya primer rezistans), kemoterapiden sonra da (kazanılmış veya sekonder rezistans) gelişebilmektedir (Gate and Tew, 2001).

İnsan tümörlerinin antikanser ilaçlara gösterdikleri direncin üstesinden gelebilmek için tümörlü hastalara yoğun bir kemoterapi uygulanmaktadır. Bunun için özellikle Siklofosfamid (CP) gibi yüksek doz alkilleyici ajanların kullanılması gerekmektedir (Cavalletti et al., 1986). Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının sağ kalım sürelerinin uzaması ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (Kumar and Kuttan, 2004). 1958'den bu yana kanser ve malign olmayan hastalıkların tedavisinde etkinliği kanıtlanmış, pek çok neoplastik hastalıkta tek başına veya diğer kemoterapötiklerle birlikte geniş bir kullanım alanına sahip olan CP' nin de yan etkileri mevcuttur (Abraham and Isaac, 2011).

Bir oksazafosforin alkilleyici ajan olan CP, iltihabı azaltan ve bağışıklık sistemini baskılayan immünoşüpresif bir ilaçtır. DNA sentezini değiştirerek hücrelerin çoğalmasını engelleme yoluyla etki eder. CP klinikte çok geniş kullanımı olan bir ilaçtır (Dollery, 1999). Ancak CP' nin optimal klinik yararlanımı, çoklu organ toksisitesi nedeniyle sınırlandırılır (Brock et al., 1982; Ludeman, 1999). Shanholtz (2001) yaptığı çalışmada ölümcül kardiyotoksisiteyi, yüksek doz CP tedavisi ile ilişkilendirmiştir. Yine yapılan bir çalışmada CP' nin kardiyotoksik etkilerinin, doza bağlı kardiyak hasar, morfolojik olarak belirlenen nekroz, kanama ve akabinde gelişen fibrozis olduğu belirtilmiştir (Ludeman, 1999; Mills and Roberts, 1979).

CP' nin toksik etkilerini önleyerek daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayacak, tümör koruyucu ve tümör büyümesini uyarıcı özellikler olmaksızın normal dokuları kemoterapi nedenli toksisitelerden koruyabilecek yeni ajanlara ihtiyaç vardır (Pool et al., 1988, Ayhanci et al., 2010).

Antioksidanların, kemoterapi ile ilgili bazı toksik etkileri azaltabileceği ileri sürülmüştür. Birçok çalışmada antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisite şiddetini ve sıklığını azalttığı bildirilmektedir. Antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisiteyi azaltarak, daha yüksek ve etkin dozların kullanılmasının sağlanabileceği ileri sürülmüştür (Block et al., 2007; Ladas et al., 2004; Simone et al., 2007; Christen et al., 2000; Blumenthal et al., 2000; Borek, 2004).

Antineoplastik ilaçların doz- kısıtlayıcı toksik etkilerini önleyerek, onların daha etkin dozda (yüksek doz kemoterapisi) vermeye olanak sağlayan çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Yüksek doz kemoterapisine olanak veren çeşitli yöntemlerden en önemlisi ilaçla birlikte, onun antineoplastik etkinliğini azaltmadan toksisitesini düşüren antidotunun verilmesidir. Son zamanlarda bazı doğal fenolik bileşiklerin bedende oynadıkları rolün önemi açısından yapılan birçok deneysel ve klinik çalışmalarda Karvakrol (Car) gibi bazı fenolik bileşiklerin AO ve sitoprotektif etkilerinin olduğu ortaya çıkarılmıştır. Biz de çalışmamızda buna dayanarak takviye AO olarak kekik bitkisi yağından elde edilen karvakrol (Car) maddesini kullandık.

Car' ün lipozom fosfolipitlerinin peroksidasyonunu baskıladığı ve çeşitli sentetik AO' lardan çok daha yüksek bir AO aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Uçucu bir monoterpen olan bu bileşik; antimikrobiyal, antifungal, doğal gıda koruyucu ve memelilerde yaşlanmayı geciktirici özelliklere sahiptir (Baser, 2008; Tran-Thi et al., 2006). Ayrıca Car' ün güçlü bir antitümör ve antitümör etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Ipek et al., 2005). Ayrıca yapılan deneysel çalışmalar kekik suyunun uzun süreli alınması

durumunda bile, herhangi bir toksik etkisinin olmadığını ve güvenle kullanılabileceğini göstermiştir.

Tüm bu bilgiler bize Car' ün CP' nin doz kısıtlayıcı toksik etkilerini önleyebileceğini ve CP' nin etkili olabilmesi için gereken yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayarak daha güçlü bir terapötik etki gösterebileceğini düşündürmüştür. Bu bilgiler ışığında yaptığımız deneysel çalışmada CP nedenli kalp dokusu hasarının önlenmesinde Car'ün muhtemel koruyucu etkisi serum kreatin kinaz-MB (**CK-MB**), Glutasyon (**GSH**), malondialdehit (**MDA**), alanin transaminaz (**ALT**), aspartat transaminaz (**AST**), laktat dehidrogenaz (**LDH**), total oksidan seviyesi (**TOS**), total antioksidan seviyeleri (**TAS**) ve oksidatif stres indeksi (**OSİ**) bakımından biyokimyasal olarak gereç ve yöntemlerde anlatıldığı gibi ölçülmüş ve Biyokimyasal Bulgular (Bölüm 4.1.) kısmında değerlendirilmiştir. Histolojik olarak Gereç ve Yöntem kısmında anlatıldığı gibi ölçülmüş ve Histolojik Bulgular (Bölüm 4.2.) kısmında incelenen veriler değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Oksijen, yaşam için vazgeçilmez olmasına karşın, normal metabolizma sırasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (Diplock, 1998). Çoğunu serbest radikaller (SR)' in oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle karşılaştırıldığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (Nawar, 1996).

Dış orbitallerinde çiftlenmemiş elektron içeren atom veya moleküllere radikal adı verilir ve “R” ile gösterilir. Atomun üzerindeki nokta paylaşılmamış elektronu göstermektedir. Kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler bir an önce kararlı hale ulaşmak isterler. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında veya çeşitli dış etkenlerin etkisiyle oluşabilir. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif yapıda olup tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedirler (Del Maestro, 1980; Kehre and Smith, 1994; Uysal, 1998).

Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktivite kazandırarak protein, lipid, DNA, nükleotid ve koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar verebilirler. Bu zararın yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock, 1998). Serbest radikaller, zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi (PUFA) zincirinin alfa metilen gruplarından bir hidrojen atomunu uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunu başlatmaktadırlar. Biyolojik sistemlerde bu serbest

radikalin superoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, lipid peroksidasyonunun uyarılmasında asıl etkili radikalin hidroksil radikali (OH[•]) olduğu benimsenmektedir. Bu radikal superoksit radikalinden veya H₂O₂' den demirin katalitik etkisi altında oluşmaktadır. Bu dönüşümler Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları olarak bilinmektedir (Kehre and Smith, 1994; Southorn, 1988).

Serbest radikal oluşumunun artması, oksidatif stresi tetiklemektedir. Temel olarak oksidatif stres, biyolojik sistemde prooksidanlarla antioksidanlar arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanır (Bhuvaramurthy et al., 1996; Berk ve ark., 2008). Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olamadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbohidratlar ve lipitler gibi hücre sel makromoleküller zarar görür (Gutteridge, 1994; Zadak et al., 2009; Wildburger, 2009; Berger, 2005; Halliwell and Gutteridge, 1989). Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu olabildiğinden oksidatif stres biyobelirteci olarak antioksidan tüketiminin araştırılması antioksidan miktarlarındaki azalış veya onların metabolitlerindeki artışın değerlendirilmesi ile mümkün olabilir (Blumberg, 2004).

Oksidanlar hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle, bu hedef molekülün yapısını ve fonksiyonlarını değiştirerek hücre zarını, DNA, RNA gibi genetik materyali ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarlarına yol açtığı bilinmektedir. Bu oksidanlar canlı organizmalarda sitoplazmik, mitokondriyal ve ekstrasellüler formları olan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim sistemleri ile seruloplazmin, transferrin, indirgenmiş glutatyon (GSH), askorbik asit (vitamin C) ve alfa-tokoferol (vit E) gibi antioksidanlar tarafından yıkılırlar (Valko et al., 2007).

Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diabetes mellitus, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Biyomembranlar ve hücre içi organeller membran fosfolipitlerindeki PUFA' ların olması nedeniyle oksidanların saldırılarına duyarlıdırlar. Lipid peroksidasyonun en önemli ürünlerinden olan malondialdehit (MDA), hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. Malondialdehid (MDA), DNA' nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik etkiye sahiptir (Mercan, 2004).

Serbest oksijen radikalleri (SOR); süperoksit (O_2^-), nitrik oksit (NO^*), hidroksil (OH^*) ve lipit peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli SOR' lar, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksidatif stres sonrası oluşan SOR' lar; DNA, lipit ve protein hasarına yol açar. SOR ile okside olan yağ asitleri lipit peroksi radikallerine ve lipit hidroperoksitlere dönüşürler. Lipit peroksi radikalleri ise MDA' e dönüşür. Lipit radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. SOR endojen veya ekzojen olarak oluşabilir. Endojen SOR normal hücre metabolizması ve oksidatif fosforilasyon sonrası oluşur. Hormonlar, bazı kimyasallar, ilaçlar eksojen SOR' u oluştururlar. Lipit radikalleri hücre zarını kolayca geçebilir ve hücredeki dengeyi alt üst eder (Knight, 1995).

Serbest radikaller hücre ve dokularda yol açtıkları zararlar şöyle sıralanabilir:

- a) DNA' nın tahrip olması,
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı,
- c) Lipit peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- e) Protein ve lipitlerle kovalen bağlantılar yapması,
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması,

- g) Steroid ve yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein “turnover” nin artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozulması kapillerlerde aterosklerotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı şeklinde özetlenebilir (Uysal, 1998).

SOR' ların hücreye nasıl zarar verdiğine dair 3 mekanizma mevcuttur:

a- Membran Lipitlerinin Peroksidasyonu: SOR' ların hücre membranına saldırması ile hücre membranının dengesi bozulur ve hızlı şekilde hücre ve doku bozulmaları meydana gelir. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, SOR' larla kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA' nın oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu sonucu;

- 1) Membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine geçemeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.
- 2) Lipit peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirir.
- 3) Lipit peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için sülfidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap verme imkanı sağlayan yüzey reseptörlerini inhibe ederler (G6Paz ve Na⁺-K⁺ ATPaz gibi).
- 4) Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de lipit peroksidasyonundan hasar görürler ve bazen DNA'nın replikasyonu yapılamaz (Nordberg and Arner, 2001).

b- Disülfit Bağı Oluşumu: Glutasyon (GSH), tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlardadır. GSH gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir ve proteinlerdeki sülfürlerin karşılıklı bağlanma reaksiyonları ile disülfit bağını oluşturur ve proteinlerin yapısını bozarak SOR' un metabolik aktivitelerini engeller.

c- DNA Hasarı: DNA molekülü kendini kopyalayabildiği için DNA modifikasyonları mutasyonlara ve genetik bozukluklara neden olmaktadır. Bu modifikasyonların karsinogenez, diyabet ve yaşlanmanın mekanizmasına da katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür.

Özellikle hidroksil radikali, SOR' un sebep olduğu bir takım değişimlere (DNA ayrılması, DNA protein çapraz bağlanması, pürinlerin oksidasyonu gibi) sebep olmaktadır. DNA onarım mekanizması hemen DNA' yı rejenere etmezse replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu mekanizma oksidatif strese maruz kalmış kişilerdeki artmış kanser yaygınlığını açıklamaktadır (Nordberg and Arner, 2001).

Serbest Radikal Oluşturan Başlıca Mekanizmalar

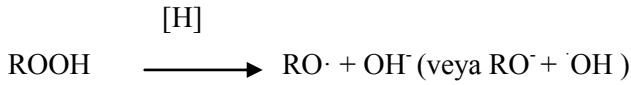
2.1.1. Otoksidasyon

Otoksidasyon, atmosferik oksijenin katalizlediği tipik bir serbest radikal zincir reaksiyonudur (Nawar, 1996). Serbest radikallerin oksijenle reaksiyonu oldukça hızlıdır ve bu reaksiyonların başlangıcı için birçok mekanizma tanımlanmıştır. Özellikle PUFA ve fosfolipidler otoksidasyona eğilimlidir. Otoksidasyonda ilk oluşan ana ürünlerin hidroperoksit (ROOH) ürünleri olduğu düşünülmektedir (Porter, 1984). Hidroperoksitlerin bir zincir reaksiyonunu başlatabilmesi için üç temel mekanizma önerilmektedir (Foote, 1985).

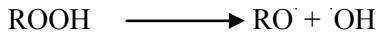
I. Hidroperoksit, zincir reaksiyonuna katılabilecek bir peroksi radikalini (ROO \cdot) oluşturmak üzere bazı kaynaklardan gelen başlatıcı bir radikal (X \cdot) ile reaksiyona girebilir.



II. Hidroperoksit, bir metal iyonu veya farklı bir indirgenle alkoksi (RO \cdot) radikalini (veya daha az bir ihtimalle hidroksi (\cdot OH) radikalini) oluşturmak üzere indirgenebilir.

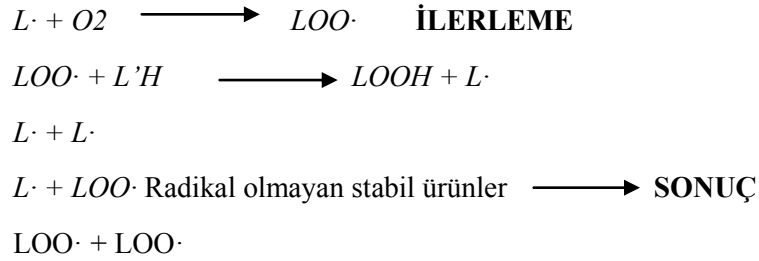


III. Diğer mekanizmalara göre daha az önemli olmakla birlikte, yüksek sıcaklıklardan daha ziyade oda sıcaklıklarında hidroperoksitteki O-O bağı parçalanarak alkoksi ve hidroksi radikallerine dönüşebilmektedir.



Lipid oksidasyonu; aşağıda gösterildiği şekilde, başlangıç, ilerleme ve sonuç aşamalarından oluşmaktadır. Oksidasyonun başlangıç aşamasında, başlatıcı bir radikal (X \cdot) ile yağ asidi (LH) substratının reaksiyonu sonucu H atomu transferi yoluyla bir lipid radikali (L \cdot) oluşmaktadır. İlerleme aşamasında, oluşan L \cdot radikale oksijen eklenmesiyle peroksi radikali (LOO \cdot) meydana gelmekte ve bu peroksi radikali diğer bir yağ asidi (L'H) molekülünden ayrılan bir hidrojen atomu ile birleşerek tekrar hidroperoksitlere ve yeni lipid radikallerine dönüşmektedir. Sonuç aşamasında ise oluşan radikaller birbiriyle reaksiyona girerek radikal olmayan ester, eter, aldehit, keton ve alkol gibi stabil bozunma ürünlerine dönüşmektedir (Porter, 1984).



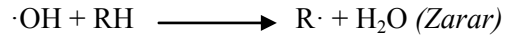
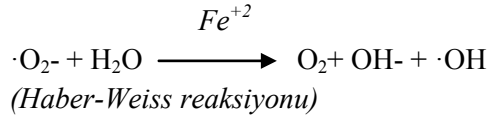


2.1.2. Geçiş metal iyonlarının etkisi

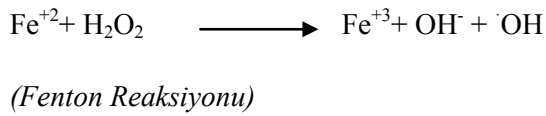
Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı sistemde serbest radikal oluşturan güçlü birer oksidatif katalist olarak görev yapmaktadırlar. Fe; oksidatif reaksiyonları teşvik etmede daha etkili bir metal iken, Cu katalizli reaksiyonlar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (Halliwell and Gutteridge 1984).

Biyolojik sistemlerde oksijen taşınması, ATP üretimi, DNA ve klorofil sentezinde önemli role sahip olan demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite sonucunda oluşan aktif oksijen türleri lipid oksidasyonunu teşvik edebilmekte veya DNA moleküllerine saldırabilmektedir. Gerçekte tüm canlı hücreler serbest demirin toksik etkisini yok eden ve demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan mekanizmalara sahiptir (Miller, 1996). Birçok metal doğal olarak vücutta kelat oluşturmuş formda bulunur. Örneğin; Cu çeşitli enzimlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya miyogloblin ve hemoglobinin porfirin halkasında bu formda bulunmaktadır (Lindsay, 1996).

Süperoksit anyonu (O_2^-), Fe^{+2} katalizörlüğünde H_2O ile reaksiyona girdiği zaman zararlı hidroksil (OH) radikallerini oluşturan “Haber-Weiss reaksiyonu” meydana gelmektedir (Duthie et al., 1989).



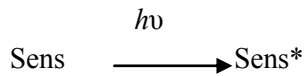
Fe iyonu, hidroperoksitlerin zararlı hidroksil radikaline dönüştüğü “Fenton-tip reaksiyonları” da katalizlemektedir. Hidroksil radikali ise oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid radikallerini oluşturarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (Miller, 1996).



Özellikle yüksek oksijen kullanımını nedeniyle oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları içermekte ve oluşan Fenton-tip reaksiyonlar reaktif oksijen türleri üreterek nöronlara zarar vermektedir. Nispeten düşük antioksidan savunmasına sahip olan beyin dokusu aynı zamanda oksidatif zararlara karşı dokuyu zayıflatan çoklu doymamış yağ asitlerini de yüksek düzeyde içermektedir. Oksidatif strese maruz kalan beyin dokusunda oluşan hasarların beyin iskemisi, hafıza bulanıklığı, Alzheimer, Parkinson gibi birçok sinirsel bozuklukta önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Meydani, 2001).

2.1.3. Fotooksidasyon

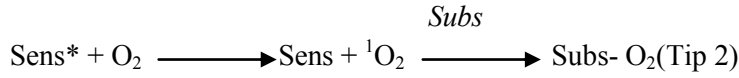
Fotokimyasal iz yolları, oksidasyonlarda başlatıcı olarak rol oynayan peroksitlerin oluşumu için oldukça önemlidir. Işığın bir molekül tarafından direkt olarak absorpsiyonu, süperoksit anyonu üretebilen elektron transfer proseslerine neden olabilmektedir. Fotosensitize prosesler ise, direkt fotokimyasal reaksiyonlardan muhtemelen daha önemli olup bu tip indirekt oksidasyonlarda sensitizer (Sens) denilen bir molekül ışığı absorbe ederek diğer bazı türlerin oksidasyonuna neden olmaktadır. Bu reaksiyonlarda genellikle sensitizerin kendisi tüketilmemekte, ışığı absorbe eden bu molekül aktif forma (Sens*) dönüşmektedir (Foote, 1985).



Klorofil-a, feofitin-a, hematoporfirin, hemoglobin, miyoglobin gibi bazı pigmentler ve sentetik bir boya olan eritrosin tekli oksijen üreten fotosensitizerler arasındadır (Nawar, 1996). Fotooksidasyon reaksiyonları Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Tip 1 reaksiyonda; aktif hale geçen sensitizer, substratla hidrojen atomu transferi ya da elektron vermek suretiyle reaksiyona girerek radikalleri üretmektedir. Bu radikaller de oksijenle reaksiyona girerek oksijene ürünleri meydana getirmektedir.



Tip 2 reaksiyonda ise, aktif sensitizer O_2 ile direkt reaksiyona girerek tekli oksijen üretmekte ve bu oksijen de oksijene ürünleri meydana getirmek üzere substratla reaksiyona girmektedir.



Riboflavin gibi flavinler Tip 1 reaksiyonlar için uygun bir sensitizer iken, klorofil gibi porfirinler de Tip 2 prosese uyan ve önemli oranda tekli oksijen üreten sensitizerler arasındadır. Fotoksidasyondan zarar gören başlıca biyolojik hedefler arasında; histidin, metionin, triptofan, tirozin ve sistein içeren proteinler ve guanidin içeren nükleik asitler bulunmaktadır. Ayrıca, yağ asitleri ve kolesterol gibi doymamış bileşiklerin oksidasyonunun gerçekleştiği lipidler de zarar gören başlıca hedefler arasındadır (Foote, 1985).

2.1.4. Enzimatik oksidasyonlar

Reaktif oksijen türleri, vücutta lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom P-450 gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak da üretilmektedir (Meydani, 2001).

Ksantin oksidaz (XOD): Canlı sistemde ROS oluşturan başlıca enzimatik kaynaklardan biridir. XOD, pürin katabolizmasında bir ara bileşik olan hipoksantini önce ksantine daha sonra da ürik aside okside ederken NAD^{+} ye elektron transferini gerçekleştiren bir dehidrogenaz enzimi olmasına karşın, dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. XOD' ın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır. Ksantin oksidazın beyinde ödem, iskemi, damar geçirgenliğinde değişkenlik gibi oksidatif hasarlara neden olduğu ayrıca hepatit ve beyin tümörü vakalarında da XOD' ın serum düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (Lavelli, 2000).

NADPH oksidaz: Serbest radikal oluşturan bir diğer enzim olan NADPH oksidaz nötrofillerin plazma zarında da bulunmaktadır. Mitokondri tarafından alınan oksijenin

yaklaşık %1-4' ü süperoksit anyonu üretimi için kullanılır ve üretilen süperoksit anyonunun yaklaşık %20' si hücrelere verilir. Makrofajlar ve monositleri içeren fagosit hücrelerde O₂ alımının artması ile aktiflik kazanan NADPH oksidaz, bu oksijeni süperoksit anyonuna dönüştürerek ekstraselüler sıvılardaki miktarını artırmaktadır (Duthie et al., 1989).

Nötrofil miyeloperoksidaz (MPO): Canlı sistemde güçlü oksidan kaynaklarından birisi de, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizleyen “Nötrofilik miyeloperoksidaz” enzimidir. Bu reaksiyonun toksisitesi savunma sisteminde bakterilerin öldürülmesine katkıda bulunur. Buna karşılık, oluşan hipoklorik asit aynı zamanda α 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve sağlıklı insan dokusunu zarara uğratarak iltihaplanmalara neden olmaktadır (Lavelli, 2000).

2.1.5. Halojenlenmiş hidrokarbonlar

Serbest radikal meydana getiren diğer olaylar ise; kontamine içme sularında bulunan toksik etkili halojenlenmiş hidrokarbonlar ve hava kirleticileri olarak bilinen azot oksitleridir. Karbontetraklorül (CCl₄) ve bromotriklorometan (CBrCl₃) gibi hidrokarbonların biyolojik sistemlerdeki oksidatif hasarın başlamasında etkili oldukları bildirilmektedir. Triklorometil, triklorometil peroksil radikalleri gibi oldukça reaktif türler, sitokrom P-450 monooksijenaz enzim sisteminin çeşitli aminoasit ve doymamış yağlarla hızlı reaksiyonu sonucu CCl₄' ün metabolizması sırasında üretilmekte ve bunun sonucunda protein denatürasyonları ve lipid peroksidasyonu oluşmaktadır (Chen and Tappel, 1996).

2.2.Kanser ve Serbest Oksijen Radikallerin İlişkisi

Kanser, hücrelerin kontrolsüz (otonom), normal dışı büyümesi olarak tarif edilebilir. Kansere neden olan maddelere “Karsinojen” adı verilir. Karsinojen madde, radyasyon gibi fiziksel, polisiklik hidrokarbon gibi kimyasal veya virüs gibi bir biyolojik ajan olabilir (Chan and Sell, 1994). Günümüzün en önemli ölüm nedenlerinden olması sebebiyle kanser oluşumunun önlenmesi, üzerinde en çok çalışılan konulardan birisidir (Kumar and Cotran, 1995).

Kanser üzerine yapılan araştırmalar yaklaşık 14. yüzyıldan bu yana devam etmektedir. Söz konusu dönem içinde kanser ilaçlarının araştırılma ve geliştirilme çalışmalarında her zaman deneysel çalışmalara gereksinim duyulmuş ve çeşitli modeller kullanılmıştır (Manson et al., 2000). Diğer bütün tedaviye yönelik denemelerde olduğu gibi kanser araştırmalarında da deneysel modelleri kullanmak zorunluluğu vardır. Deneysel kanser araştırmalarının yapıldığı yüzlerce yıllık dönemde kimyasal karsinojenler veya transplante edilebilen tümörlerin kullanılması ön plana çıkmaktadır (Yuspa and Poirier, 1998).

Normal hücrelerin proliferasyonu onkojenler ile regüle edilir ve tümör süpresör genler ile dengelenir. Kanser gelişiminde onkojenin etkisinin aktivasyona sebep olduğu veya bir tümör süpresör geninin kaybının da inaktivasyona sebep olduğu ya da her ikisinin de bir arada görüldüğü ileri sürülmektedir (Handerson, 1991).

Karsinojenez üç farklı aşamada incelenir. Bu aşamalar başlangıç evresi (initiation), gelişim evresi (promotion) ve ilerleme evresi (progression) olarak adlandırılır (Chan and Sell, 1994). Başlangıç evresi geri dönüşümsüz bir olaydır. Normal dokuda yer alan hücrenin karsinojenle karşılaşması sonucu genomik DNA hasarı oluşur. Oluşan hasarın tamiri söz konusu değildir. Somatik mutasyona yol açan genotoksik hasar, mitoz sırasında mutasyonlu hücre koloni oluşmasına yol açar (Kumar and Cotran, 1995). Gelişme evresi

kısaca premalign tümör hücre popülasyonunun aktif çoğalmasını sağlamak üzere hasarlı hücrelerin büyümesi olarak tanımlanabilir. İlerleme evresi ise geri dönüşümsüz bir mekanizmadır. Yeni bir tümör hücre klonu meydana getirir, bunun sonucu proliferatif kapasite ve invazyon artarak metastatik potansiyel gelişir (Surh, 1999).

Kanserojen etkenler ya doğrudan DNA hasarı yaparak (genotoksik etki) ya hücre proliferasyonunu artırarak ya da her ikisine birden neden olarak kanser riskini artırır (Manson et al., 2000). Bugüne dek insanda kanserojen olduğu tanımlanan eksojen etkenlerin büyük kısmı genotoksik etkilidir (Ames, 1997). Genotoksik veya DNA reaktif karsinojenlerin oluşturduğu reaktif elektrofilik türevler ve serbest radikaller doğrudan DNA hasarı yaparlar. Bu lezyonların DNA onarım enzimleri tarafından uzaklaştırılması ve tamiri söz konusudur. Ancak onarım mekanizması tamamlanmadan hücrenin bölünmesi DNA hasarının kalıcı hale gelmesine ve mutasyona neden olur (Ames, 1997; Farber, 1982). Kritik genlerde oluşan mutasyonlar kanser gelişimine yol açarlar. Örneğin, insanda görülen tümörlerin yarısından fazlasında tümör supressör gen p-53' de mutasyonların olduğu saptanmıştır (Farber, 1982).

Mutajenezde kritik faktör hücre bölünmesi olduğu gibi, hücre proliferasyonu da mutasyon olasılığını artıran ve hatta bizzat kendisi mutajeneze neden olan faktördür. Bunun nedenleri arasında;

- Normalden hızlı replike olan hücrelerin DNA onarımı yapamaması; S fazındaki hücrelerin DNA hasarı yapıcı etkenlere daha duyarlı olması;
- Hücre bölünmesinin mitotik rekombinasyonları ve gen dönüşümlerini tetikleyip kromozomal değişikliklere neden olması;
- Gen duplikasyonlarına neden olup onkogen ekspresyonunu artırması

Özellikle sitotoksik ajanlara bağlı hücre proliferasyonunda fazla miktarda serbest oksijen radikallerinin oluşması ve bunların DNA hasarı yapması sayılabilir. Böylece, hücre

bölünmesindeki artış her tür genetik hata riskini artırmaktadır (Kumar and Cotran, 1995; Ames, 1997; Farber, 1982).

Kemopreventif ajanlar, önleyiciler ve baskılayıcılar olarak iki ayrı grupta sınıflandırılırlar. Önleyici ajanlar karsinogenezin başlangıç evresini önlerler. Baskılayıcı kemopreventifler ise daha ileri basamaklara etkileyerek hücre proliferasyonunu engeller. Pek çok kemopreventif madde her iki tip aktivitede de rol almaktadır. Önleyici ajanlar reaktif oksijen ürünlerinin çöpçülüğü ve ilaç metabolizma yollarının aktivasyonu ile kemopreventif etkilerini göstermektedirler. Tümör oluşumunu baskılayıcı kemopreventifler ise sinyal ileti yollarının modülasyonu, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, apoptoz veya hücre siklus aresti mekanizmalarıyla etki etmektedirler (Manson et al., 2000).

Metastaz yapmış bir hastalığın kontrol altına alınabilmesi için verilen antikanser tedavisinin risk/yarar oranı ile ilacın kanser yinelemesinin önlemek amacıyla ek tedavi olarak uygulandığı durum önemli ölçüde birbirinden farklıdır. Genellikle hastaların yaşamlarını uzatacak seçenekler azaldığı zaman doktor yüksek düzeyde kalp riskini göze almayı yeğlemektedirler. Ancak doktorun tedavi görmüş ve yineleme riskini azaltmak için ek tedavi olarak verilmiş hastalarda ilaç dozunu azaltarak düşük düzeyde riski alarak tedaviye tekrar başlamalıdır. Günümüzde özellikle kinaz inhibitörlerinin uzun dönemdeki kardiyak etkileri konusunda çok az bilgiye sahibiz. Kardiyak yan etkiler kısmen geri dönüşümlü olduğu düşünülmekte, ancak kardiyak miyositlerdeki düzelmelerin gerçek bir iyileşmemi yoksa uyum sağlamak amacı ile yeniden yapılanmamı olduğunun tanımlanması gerekmektedir (Chu et al., 2007).

Yapılan çalışmalarla, çeşitli kategorilerdeki sitostatik ajanların hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak serbest radikal üretimine neden oldukları gösterilmiştir (Weijl et al., 1997; Crohns et al., 2009; Simone et al., 2007; White et al., 2006). Sitostatik ilaçlarla tedavi edilen hematolojik ve / veya solid malignansiteli hastaların, polimorfonükleer lökositlerince

in vitro olarak H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ üretiminin, tedavi öncesine göre belirgin derecede arttığı görülmüştür (Weijl et al.,1997; White et al., 2006). Birçok araştırmacı tarafından, kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak lipit peroksidasyonu (LPO) ürünlerinin miktarının yükseldiği, tedavi sonrasında da plazma E vitamini düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Weijl et al., 1997).

Radyoterapi ve bazı kemoterapötikler serbest radikal üreterek hücre ölümüne neden olmakta, antioksidanlar ise serbest radikalleri ve serbest radikal aracılıklı oksidatif reaksiyonları nötralize etmektedir (Simone et al., 2007; Prasad et al., 2002). Kemoterapi alan hastalarda, plazma lipit hidroperoksitleri ve tiyobarbitürik asit (TBA)-reaktif bileşiklerin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına işaret etmektedir (Sangeetha et al., 1990; Clemens et al., 1997; Lin, 2002). Kemoterapi aracılıklı oluşan reaktif oksijen bileşiklerinin (ROS); DNA, RNA, protein ve lipid gibi makromoleküllerde hücre ölümüne kadar giden hasara neden olabildiği belirtilmektedir (Crohns et al., 2009; Brea-Calvo et al., 2006).

Kemoterapinin serbest radikal oluşumuna yol açtığına gösterilmesine rağmen, kemoterapiye bağlı hücre sitotoksitesi, genellikle ROS'ın oluşumuna bağlanmamaktadır. Örneğin, kemoterapötiklerle birlikte radikal süpürücülerin de uygulandığı *in vitro* deneyler ve hayvan deneylerinde, serbest radikal süpürücülerin, sispilin, doksorubisin gibi sitostatik ilaçların antitümör etkisini azaltmadığı, ayrıca deney hayvanlarında hayatta kalma süresinin sadece kemoterapi uygulananlara göre arttığı gösterilmiştir (Weijl et al, 1997; Jaakkola et al., 1992). Ayrıca, ROS' un sitostatiklerce indüklenen yan etkilerde önemli rolü olduğu çok sayıda veri ile gösterilmiştir. Örneğin, antrasiklin grubu ilaçların, bir elektron redüksiyonu, semikinon radikali oluşumuna yol açmaktadır ve redükte demir iyonu varlığında oluşan OH^{\cdot} in antrasiklinlerin kardiyotoksitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Weijl et al, 1997).

2.2.1. Oksidatif stresin tümör başlamasındaki rolü

Serbest radikaller, oksidatif strese bağlı kanser oluşumunun ilk basamağıdır. OH[·] radikali DNA hasarı yoluyla modifiye pürin ve pirimidin bazları oluşumuna sebep olur. Her gün insanlardaki normal hücrelerdeki her DNA molekülünün 106 bazının oksidatif darbeye maruz kaldığı tahmin edilmektedir. Serbest radikallerle oluşan endojen DNA hasarı yaşa bağlı kanser oluşumuna neden olmaktadır (Willcox et al., 2004).

DNA modifikasyonları: Oksidatif DNA hasarı kimyasal veya yapısal olabilir. Kimyasal modifikasyonlar her zaman yapısal değişikliğe neden olur. Bunlar DNA baz modifikasyonları ve DNA heliks değişiklikleri olarak görülebilir (Kökoglu, 1998).

DNA baz modifikasyonları: Çeşitli kanser türlerinde ROS artışına bağlı DNA modifikasyonları tespit edilmiştir. Örneğin OH[·] radikali DNA'nın bütün komponentleri ve deoksiriboz iskeleti, pürin ve pirimidin bazları ile reaksiyona girebilmektedir. Adenin ve guanine etkisi sonucu halkada açılma, replikasyonda blok oluşması gibi nokta mutasyonları ortaya çıkmaktadır. DNA'da en sık rastlanan oksidatif baz modifikasyonu 8- hidroksi-2'deoksiguanozin (8-OHdG) dir. Oksidatif stres için güvenilir bir belirteç olduğu düşünülmektedir. Serbest radikallerle oluşan DNA hasar ürünlerinden 5-hidroksimetilurasil, 8-OHdG ve DNA oksidasyon ürünleri çeşitli çalışmalarda ölçülmüştür. Hücre bölünmesini bloke eden p53 tümör supresör genindeki mutasyon, kanser gelişiminde önemli bir faktördür. p53 geni inaktive olduğunda hücre siklusa hasarlı DNA ile girer (Willcox et al., 2004). Bunun sonucunda ROS ilgili nokta mutasyonları sonucu onkogenlerin aktivasyonu ile karsinogenezdeki ilk adım başlar. Bunlar aynı zamanda son safha olan ilerleme döneminde de etkilidirler.

DNA heliks değişiklikleri: DNA heliksindeki değişiklikler heliksin kırılması, tek veya çift iplik kırılması, iplikler arası çapraz bağlar ve kromozomal değişiklikler sayılabilir

(Lindahl, 1993). Tek veya çift iplik kırılması serbest radikal etkisiyle oluşabildiği gibi ROS ile ilgili enzimatik DNA bölünmesinin uyarısı ile de olabilir (Kökoglu, 1998).

2.2.2. Oksidatif stresin tümör gelişmesindeki rolü

Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu mutasyon, kanserin başlama ve ilerlemesine neden olduğu gibi, oksidatif stres mutant hücre klonlarının yayılmasına ve proliferasyonuna ve hücre ölümüne de neden olabilir. Son çalışmalar, ROS' nin bening tümörleri malign tümörlere dönüştürürken kanserin evresini de ilerlettiğini göstermiştir (Okada, 2002).

Ca²⁺ aracılığı ile tümör gelişmesi (Promotion): Kalsiyum homeostazının serbest radikaller tarafından bozulması da karsinogeneziste önemli rol oynar. Hücre zarının normal yapısının serbest radikal etkisi sonucu bozulması hücre içi kalsiyum miktarının artmasına sebep olur (Akkus, 1995).

Oksidanlar Ca²⁺ bağlı epigenetik yolu uyarırlar. Bunu polipeptid büyüme faktörlerini ve hormonları kullanarak hücre replikasyonunu uyarmakla sağlarlar. Protoonkogenler aktive olur, örneğin protoonkogen C-FOS' un düşük doz ROS ile indüksiyonunun sitolitik Ca²⁺ aracılığı ile geliştiği gösterilmiştir (Werlen et al., 1993). Kalsiyum-kalmodulin etkileşimi birçok protein kinaz enzimini aktive eder. Protein kinazlar da S6 kinazı aktive ederler. Hem protein kinaz hem de S6 kinazlar çeşitli fosforilasyon yollarıyla transkripsiyon faktörlerinin aktivitelerini regüle ederler ve bu şekilde ROS' nin hücre proliferasyonuna olan etkilerinin başlatmasına aracı olurlar (Akkus, 1995; Kökoglu, 1998).

2.2.3. Oksidatif stresin tümör ilerlemesindeki rolü

Tümör hücrelerinde ROS oluşumunun artması, oksidatif stresin kalıcı ve devamlı olmasını sağlayarak genomik stabil olmayan durumu artırır (Toyokuni et al., 1995). ROS ile genomik instabilite sonucu oluşan p53 genindeki mutasyon insan kanserlerinde en sık rastlanandır. p53' ün esas fonksiyonu karsinogenezde ROS' a karşı koruyucu olmasıdır. p53 proteini onkogen ürünlerini bağlayarak bazı tümörlerin oluşumunu geciktirebilir (Ulus ve ark., 2003). Oksidatif stres, yüksek invaziv ve metastatik kanser hücrelerinin proliferasyon ve apoptozisinin devamını sağlar. Bu hücreler, kanser hücrelerinin devamlılığında sinyal molekülü olan hidrojen peroksitin büyük miktarlarda oluşumunu sağlar. Antioksidanlar, hidrojen peroksit sinyal molekülünü ve kanser hücre proliferasyonunu suprese ederler (Loo, 2003).

2.3. Lipid Peroksidasyonu

Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığına dolayısıyla oksidatif ataklara duyarlıdır (Baykal ve Kocabalkan, 2000). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. PUFA' ların oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür.

Serbest radikal etkisi ile çoklu doymamış yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal nitelik kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali dayanıksız bir yapıya sahip olduğundan bir dizi spontan değişikliğe uğramaktadır. Lipid radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelmektedir. Bu lipid peroksit radikalleri

de zar yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerine dönüşmektedirler. Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşikleri ile etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesi ile sona ermektedir. Bunlar da direkt olarak membran yapısına, indirekt olarak da hücre komponentlerine zarar verir (Wrorow et al., 1993).

Lipid peroksidasyonunun; hücre zarının lipid yapısındaki değişiklikler nedeni ile hücre zarı işlevinin bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Her üç olayın da eşit derecede etkili olduğu veya birlikte ya da birbirlerinin ardınca etkili oldukları ileri sürülmektedir. Bununla birlikte, aldehit yapılı bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun hedef organlardaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Uysal, 1998; Heller et al., 2000; Yu, 1994).

Lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar (Akkus, 1995).

Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipit radikali (L^{\cdot}) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipit radikalın oksijen ile reaksiyonlaşması ile lipit peroksit radikali (LOO^{\cdot}) meydana gelir. Bu radikal de zardaki poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Uysal, 1998; Akkus, 1995).

Lipid peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğerkarbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de, in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtması açısından giderek önem kazanmaktadır. Lipit hidroperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de, son yıllarda lipit peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (Halliwell, 1996).

Membranda bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girip peroksidasyona neden olabilir. İlk önce yağ asidi hidrojen ve kendi üzerinde birer elektron kalacak şekilde parçalanır ve lipid radikalini oluşturur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali de diğerkdoymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksiller ortamdaki hidrojen atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksidleri de oluştururlar (Young and Woodside, 2001; Niki et al., 2005; Şekeroğlu ve ark., 2000).

Birçok araştırmacı tarafından, kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak lipit peroksidasyonu (LPO) ürünlerinin miktarının yükseldiği, tedavi sonrasında da plazma E vitamini düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Halliwell and Gutteridge, 1984; Özgüneş ve Tuncer, 1993).

Klinik çalışmaların doku, plazma ve idrarda oksidasyon ürünlerinin ölçümü, invivo lipit peroksidasyonu yansıtma yapılmaktadır. Lipit peroksitler kararsız bileşikler olup hızlıca bozunma eğilimi gösterdiklerinden kısa zincirli alkanlar, aldehitler gibi çeşitli ürünlere dönüşebilirler. Dolayısı ile genelde tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve sitotoksik aldehitlerin ölçümleri yapılmaktadır (Meagher and Fitzgerald, 2000).

2.4. Miyelosüpresyon

Kemik iliğinin baskılanması, antineoplastik ilaçlarla tedavide ilaca bağlı en önemli morbidite ve mortalite sebebidir. Ayrıca ilaçların bu etkisi onların dozlarını kısıtlayan en önemli etkidir. Belli aralıklarla ilaç uygulamasında bir önceki dozun oluşturduğu lökopeni düzelmeden sonraki doz yapılmaz (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews).

Uzun vadeli Siklofosamid (CP) tedavisinin en önemli olumsuz etkisi miyelosupresyondur ve bu CP' nin en önemli doz sınırlayıcı etkenidir. CP' nin karsinojenik ve teratojenik etkisine ek olarak kalp, mesane ve hematopoietik sistem üzerinde de toksik etkisi bilinmektedir. Lökopeni ve trombositopeniye neden olmaktadır.

Antineoplastik ilaçlar kemik iliğinde lökosit, eritrosit ve trombosit oluşturan ana hücreler için toksiktirler. Lökosit 6 saat, eritrosit 120 gün, trombosit 5-7 gün yarılanma ömrüne sahiptir. Bu yüzden antineoplastik tedavi süresince lökopeni (nötropeni) çok belirgin derecede ve erken görülür.

İlaçların kemik iliğini baskılama dereceleri farklıdır. Hastalarda gözlenen lökopeni derecesi bireysel farklılıklar gösterdiğinden tedavi süresince hastanın kan hücresi sayıları izlenmelidir. Lökosit sayısı $< 1000/\text{mm}^3$ ciddi sistemik enfeksiyon olasılığı, tedaviye uygun bir antimikrobik ilaç eklenmelidir. Trombosit sayısı $< 40.000/\text{mm}^3$ ise ciddi kanama riski görülmektedir (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

Kemoterapiye bağlı immunsüpresyon sonucu oluşan ciddi sistemik enfeksiyonların kontrol altına alınmasında kullanılan çoklu antibiyotiklerin uygulanması, sıvı-elektrolit gereksiniminin karşılanması, kemik iliğinin baskılanması sonucu gereksinim duyulan kan ve kan ürünlerinin karşılanması, kemoterapi esnasında oluşabilecek komplikasyonların

izlenmesi için gerekli olan kan örneklerinin alınmasında da faydası çöktür (Broviac et al., 1973).

Myelotoksisite (Kemik iliği baskılanması): Antineoplastik ilaçlarla tedavide en önemli morbidite ve mortalite nedeni kemik iliği toksisitesidir ve bu durum doz kısıtlayıcı bir durum olarak tanımlanır. Antineoplastik ilaçların hemen hemen tümü miyelotoksisiteye yol açarlar. Kemik iliğinin bütün elemanları için toksisite söz konusu olmakla birlikte anemi, lökopeni ve trombositopeniye oranla daha az sorun yaratır. Nötropeni, bir çok tedavi rejiminden sonra karşılaşılabileceğimiz bir durumdur. Nötropenik olan hastalarda nötropenin derinliği ve süresi ile ilişkili olmak üzere nötropenik ateş görülebilir. Bu durumda hastaların antimikrobiyal tedavi için hospitalize edilmeleri gerekebilir. Trombositopeni de kemik iliği toksisitesinin bir parçası olarak karşımıza çıkabilir. Anemi ve trombositopeni nedeniyle hastalara transfüzyon yapılması gerekebilir (Türker ve Dizdar, 2005).

İmmunosupresyon (İmmun sistemin baskılanması): Antineoplastik ilaçların çoğu nötropenin yanı sıra hücrel ve humoral immüniteyi baskılayarak immünosupresyona yol açarlar. Bu durum enfeksiyonlara duyarlılığı ve fırsatçı enfeksiyon sıklığını artırır (Türker ve Dizdar, 2005).

Özellikle tümör tedavilerinde ve organ transplantasyonlarından sonra kullanılan ilaçlar immunosupresyon yaparlar. Bu tip ilaçlar daha çok hücre DNA' sının sentezini bozarak hücrelerin çoğalmasına engel olurlar (sitostatik ilaç). Bu arada antijen (Ag) uyarımı ile başkalaşıma uğrayıp çoğalması gereken lenfositlerde de çoğalma olamayacağından veya çeşitli nedenlerle kemik iliği baskılandığından bağışık yanıtta önemli ölçüde baskılanma meydana gelir. Bu ilaçlara örnek olarak siklofosamid, klorambusil, azotioprin, metotraksat, siklosporini verilebilmektedir. Ayrıca kortikosteroidler de immunosupresif etkili ilaçlardır.

Antineoplastik ilaçların çoğu lenfoid dokuların hızlı çoğalan hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiklerinden ve buna ek olarak kemik iliğini baskıladıklarından bağışıklık sistemini de baskırlar. Bu durumda vücudun hem patojen mikroorganizma, protozoon, virüs ve funguslara, hem de tümörün kendisine karşı savunma mekanizmaları azalmaktadır.

2.5. Mitokondriyal Disfonksiyon

Mitokondri, disfonksiyonu önemli negatif pleiotropik etkileri olan bir organeldir. Mitokondriyal disfonksiyona bağlı olarak membran potansiyeli azalır, ROS oluşumu artar (membran potansiyeli ROS oluşumunu düzenler), ATP sentezinde azalma olur, potansiyel toksisiteleri olan Ca^{2+} iyonlarının tutulumu azalır. Oksidatif hasara bağlı mutasyonel yük artarken koruyucu ve onarıcı proteinlerin azalması / hasarlanması mitokondrilerin hasar ve mutasyona yatkınlığını artırır ve dolayısı ile hücrenel yaşlanmayı hızlandırır (Luft, 1994).

Mitokondriyal elektron transport zincirinden (ETS) elektron kaçağı sonucu oluşan serbest radikaller önce mitokondride ve sonra hücrede hasar oluşturmaktadır. Hasar ROS oluşumunu daha da arttırmaktadır. Bu kısır döngü belli bir yaştan sonra ölüm hızında görülen büyük artışı açıklamaktadır (Sastre et al., 2003; Barja, 2002).

Mitokondriyal disfonksiyon 3 şekilde gerçekleşebilir.

1. Yağ asidi beta-oksidasyonunun inhibisyonu,
2. Solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu ya da
3. Mitokondriyal DNA'ya doğrudan etki ile.

Bazı ilaçlar hem beta-oksidasyonu hem de solunum zinciri enzimlerinin fonksiyonlarını inhibe ederler. Serbest yağ asitleri metabolize olmayıp, laktat ve reaktif oksijen radikallerinin birikimine yol açar. Bu radikaller mitokondriyal DNA'yı zedeler (Jaeschke et al., 2002; Pessayre and Berson, 2001). Bu 3 olay sonrasında hücrede enerji

sıkıntısı çekilir. Anerobik metabolizma ile laktik asidoz ve trigliserid birikimi (hücre içi mikro vesiküler yağ birikimi) olur (Pessayre and Berson, 2001; Jonsson et al., 2000).

2.6. Kemoterapi ve Prensipleri

Kanser kemoterapisinin esası; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse onları yok etmektir. Ancak malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur; mevcut fark daha çok kantitatif yöndedir. Bu yüzden antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler (Kintzel, 2001).

Yapılan çalışmaya göre kanser hastalarında antineoplastik kemoterapinin gelişmesi ve destek tedavisi ile mortalite ve morbidite oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının daha uzun süre yaşaması ilaçların yan etkilerini de artırmıştır (Meister and Meadows, 1993).

Yeni bir ilaç geliştirilirken önce hayvanlar üzerinde tolere edilebilen toksisiteyi araştırılmakta daha sonra çeşitli tümörlerdeki etkinliğine ve elde edilen yanıt oranlarına bakılmaktadır. En son olarak ise randomize edilmiş hastalarda kullanılarak sonuçların değerlendirilmesi yapılmaktadır (Akyol, 2004).

Kemoterapi prensiplerini ve nasıl etki ettiklerini anlamak için öncelikle normal yaşam döngüsünün (hücre siklusu) bilinmesi çok önemlidir. Yaşam döngüsünün başlıca 5 önemli fazı vardır:

1. Go fazı: Mitoz sonrası hücrelerin dinlendikleri ve hücre bölünmesine aktif olarak katılmadıkları devredir. Bu fazda kemoterapötik ajanların etkisi yok denecek kadar azdır.

Normal hücreler zamanlarının çoğunu Go fazında geçirirler, bir uyarıcının etkisiyle çoğalan hücre haline geçebilirler.

2. G1 fazı: Uyarılma sonucunda başlar. Hücrede üremesi için gerekli olan RNA, enzimler ve diğer proteinler sentez edilirler. Hücre bu dönemde kemoterapiye hassastır.

3. S fazı: Yeni DNA sentez edilir, hücre bölünmeye hazırlanır. Hücre bu fazı etkileyen ilaçlara hassastır.

4. G2 fazı: Mitoz için gerekli protein ve RNA sentezi hızlanır.

5. M fazı: Mitoz fazıdır. Dört safhada iki yeni hücre oluşur. Bu iki yeni hücre ya yaşam döngüsüne girer (G1) ya da kemoterapiye daha dirençli olarak Go fazında istirahate çekilirler.

Aslında kanser hücreleri ve normal hücreler benzer hücre sikluslarına sahiptirler. Kanser hücresiyle normal hücre arasındaki en önemli fark, kanser hücrelerinde proliferasyonu frenleyen mekanizmanın bulunmaması ve organizmayı ölüme götüren duraksız bir proliferasyon içinde olmasıdır.

Kanser tedavi planındaki hedef, hastanın yaşam süresini uzatmak, tümör hücrelerinin yok edilmesi ve normal hücrelerin aktivitesini minimal düzeyde etkilemek olmalıdır. Bilindiği üzere bu tümörler sürekli, hızlı büyüme paterni göstermektedirler. Kemoterapi daha çok hızlı bölünen hücreler üzerine etkilidir. Kanser hücreleri proliferatif faz sırasında çok süratle mitozdan mitoz girip çıkarlar. Her hücrenin bu siklusu tamamlaması farklı zamanlarda olmaktadır.

Bu süre genellikle 24-120 saat arasında değişebilmekte, hücre tipine bağlı olarak ortalama 48-72 saatte gerçekleşmektedir. Erişkinlerde hücrelerin pek çoğu non-proliferatiftir ve tam olarak farklılaşmıştır

Kemoterapötik ajanlar en fazla hücreler proliferatif dönemde iken etkilidirler. Bu bilgi ilaçların geliştirilmesi sırasında önem taşımaktadır. Çünkü yaşam döngüsünün bir fazına spesifik etki eden ilaçlar (faz spesifik ilaçlar) ya da bütün fazlara etkili (faz spesifik olmayan ilaçlar) geliştirilebilir. Yaşam döngüsünde faz spesifik olmayan kemoterapötik ilaçlar, özellikle alkilleyici ilaçlar ve platinum türevleridir ki Go fazındaki hücrelere karşı da etkilidirler ve sadece aktif olarak bölünen hücrelere değil yavaş büyüyen tümörlere de kısmen etkili bulunmuşlardır (Akyol, 2004).

1. Döneme Özgü (hücre siklusuna bağımlı) İlaçlar: Hızlı gelişen ve hızlı düzelen bir lökopeni yaparlar (Metotreksat, vinblastin, pürin ve primidin antimetabolitleri).

2. Döneme Özgü Olmayan (hücre siklusuna bağımsız) İlaçlar: Genellikle daha yavaş gelişen, uzun süren ve geç düzelen bir kemik iliği baskısı yaparlar (Nitrozüreler, busulfan ve mitomisin).

Kemoterapötik ilaçları etkilerine göre iki grupta inceleyebiliriz.

1- Hücre siklusuna bağımlı ilaçlar

S fazına dönük ilaçlar (Antimetabolitler): Hücre metabolizmasını ve DNA sentezini bozarak etki ederler. Methotrexate, 5-Flourouracil, Cytarabine, Procarbazine, 6-Tyoguanin, 6-Mercaptopurine gibi.

M fazına dönük ilaçlar (Bitki alkaloidleri): Ana hücreden iki yavru hücre oluşmasını engellerler. Vincristine, Vinblastine bu gruptandır.

G2 fazına dönük ilaçlar (Antitümör antibiyotikler): RNA, DNA ve protein sentezini etkilerler. Bleomisin, Acytinomycin-D, Daunorubisin gibi

2- Hücre siklusuna bağımsız ilaçlar

Alkilleyici ajanlar: Hücre çekirdeğini, DNA ve RNA sentezini etkilerler. Hızlı çoğalan hücrelerin ölümüne yol açarlar. Nitrojen mustard, Cisplatin, Cyclophashamide, Procarbazine gibi.

Hormonlar: Tümör ortamını değiştirerek büyüme ve çoğalmayı engellerler, protein sentezini bloke ederler. Estrojenler, Kortikosteroidler gibi.

Antibiyotikler: DNA replikasyonunu bozarlar. Adriamisin gibi.

Kemoterapötik ilaçlar kimyasal yapıları ve hücre aktivitesine göre 5 sınıfa ayrılmaktadırlar:

1. Alkilleyici ajanlar: Sitotoksik etkileri, bünyelerindeki elektrofilik alkil kökü ile hedef makromoleküllerin nükleofilik parçasının geri dönüşsüz bir kombinasyon yapması ile olmaktadır. Bu gruptaki ilaçlar arasında, Busulfan, Carboplatin, Carmustine, Clorambusil, Cyclophashamide, Dacarbazine, İfosfamide, Lomustine, Melphalan, Nitrojen mustard, Procarbazine, Tiotepa yer almaktadır.

2. Antimetabolitler: Hücrenin normal metabolitleri ile benzerlik gösterdiklerinden onların yerine, enzimler için benzerlik gösterdikleri metabolitlerin yerine geçer veya aynı rolü alarak aktiviteyi bloke eder, azaltır ya da makromoleküllerin içine girerek, fonksiyonu olmayan bir makromolekül yaratırlar. Bu grupta; Cytrabine, Methotexate, 6-Mercaptopurine, 6-Tioguanine yer almaktadır.

3. **Bitki alkaloidleri:** Podofilotoksinler'den ve vinca alkaloidlerinden semisentetik olarak elde edilen ilaçlardır. Hücre bölünmesini mitoz safhasında durdururlar. Bu grupta; Vincristine, Vinblastine, Etoposide, Teniposide yer almaktadır.
4. **Antitümör antibiyotikler:** Hücrede DNA ve RNA transkripsiyonunu durdurup, dokularda uzun süre kaldıklarından DNA sentezi boyunca hücre ölümüne yol açarlar. Radyasyonla birlikte verildiklerinde toksisiteyi artırır. Actinomycin-D, Adriamycin, Bleomycin, Epirubicin, İdarubicin bu gruptadırlar.
5. **Kortikosteroidler:** Kortikosteroidler pasif difüzyonla hücre içine girip, glukokortikoid reseptörleri ile bağlanarak çekirdeğe geçer, orada DNA ile bağlanıp transkripsiyon olayını bozarlar (Akyol, 2004).

Sitostatik ve sitotoksik tedavi prensipleri: Sitostatik ajanlar hücre gelişimini büyüme siklusunun spesifik fazında durdurmak için kullanılırlar. Sitotoksik ajanlar ise hücreleri öldürürler. Bazı sitotoksik ajanlar düşük dozlarda verildiklerinde ve bazı sitostatik ajanlar yüksek dozlarda verildiklerinde sitotoksik olabilir ve sitotoksik ajanlar gibi davranabilirler. Sitostatik ve sitotoksik ajanların kombine olarak verilmesi prensibinde; teorik olarak daha yüksek oranda tümör hücrelerinin öldürülebilecek olması düşünülmektedir. Sitostatik ajanlar hücreleri spesifik hücre siklusunda tutmakta kullanılmaktadırlar. Örneğin, Cytarabine sitostatik etkiye sahiptir ve hücreleri G1 ve S fazında tutarlar. Methotrexate, vincristine, thioguanin gibi ajanlar ise S fazında tutarlar. Diğer önemli bir nokta kemoterapötik ajanların seçici olmayan yani hem tümör hücrelerine hem de normal hücre üzerine olan yan etkileridir. Toksisiteler, sıklıkla ilaçlarda doz sınırlayıcı, hasta yaşamını tehdit edici, yaşam kalitesini bozan, hasta tarafından kabul edilemeyen, kısa veya uzun süreli olabilmektedirler. Toksisitelerin düzelebilmesi için tedavi kürleri arasında normal hücrelerin kendilerini toparlayabilmesi için fırsat

verilmelidir. En sık gözlenen toksisiteler kemik iliğinde baskılanmaya bağlı lökopeni, trombositopeni şeklinde, gastrointestinal sistemde mukozit, stomatit, bulantı, kusma, diyare ya da saçlı deride alopesi olarak klinikte karşımıza çıkmaktadır (Akyol, 2004).

Tedavi yaklaşımları; bütün hastalar için kür ve kaliteli yaşam tedavinin ana amaçlarıdır. Bu amaçlar birden fazla faktöre bağlıdır. Bunlar içerisinde; hastalığın tipi, evresi, yaygınlığı, tedavi seçenekleri, gelişen teknoloji, bilimsel veriler, onkolojide ekip yaklaşımı, bilinen yanıtlar ve hastanın bilgilendirilmesi yer almaktadır.

Tedavilere yaklaşımlar uzun süreli deneyimler ve yenilikleri takip etmeyi gerektirmektedir. Ulusal ve uluslararası işbirliği, deneyimlerin paylaşılması, tedavi, araştırma ve veri toplamada ortak yaklaşımların kullanılması önem kazanmaktadır. Kemoterapide, maksimum düzeyde tümör hücre ölümünü sağlarken, yüksek mitotik indeksli normal hücrelerin (kemik iliği, oral mukoza, saç follükülleri gibi) minimal düzeyde etkilenmesi amaçlanmalıdır. Hastada uzun süreli kür beklenmiyorsa geçici amaçlı destek tedavi ve semptom kontrolü sağlanarak, hastaya toksisite yükleyen yoğun tedavilerin verilmesinden kaçınılmalıdır.

Tekli ajanlardan kombine ilaçlara geçiş akut lenfositik lösemi (ALL) tedavisinde kemoterapötik ajanların kombinasyonlarının etkisi hastalardaki tam remisyon oranlarındaki artışlar yanında remisyonda kalış sürelerini de uzattığı (%95) gösterilmiştir. Primer kombine tedavi ile tanışma, cell-line direnci yenmek için tek ajan ilaçlar kullanılmıştır. Tekli ajanlar daha az toksik ve sinerjistik etkili ilaçlardır ve diğer ilaçlarla kombine edildiklerinde antitümör etkileri artmaktadır. Tümörlerin hepsi değil fakat bazıları tekli ajanlara yanıt vermektedir. Ancak ilaç direnci varsa bu mümkün değildir.

2.7. Kemoterapötik Ajanlar

1. Antrasiklinler
2. Alkilleyiciler
3. Antimetabolitler
4. Anti-mikrotubul ajanlar
5. Monoklonal antikorlar
6. Diğer Ajanlar

Alkilleyiciler

Birinci Dünya Savaşı sırasında zehirli gaz olarak kullanılan ve ciltte toksik vezikül oluşturan kükürtlü hardalın insanlarda kemik iliği ve lenfoid dokuda atrofi yaptığının saptanması sonrasında azotlu hardal bileşiklerinin geliştirilmesine yol açmış ve böylece modern kanser kemoterapisi başlamıştır. Bu ilaçlar döneme-özü olmayan, ancak hücreler G₁ ve S dönemlerinde bu ilaçlara daha duyarlıdır. Mekloretamin, Siklofosfamid, İfosfamid, Karmustin, Lomustin ve Semustin alkilleyici ajanlardadır (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

Alkilleyicilerin tümü ön-ilaçtır. Çoğu kanserli hücrelerde etilen amonyum türevlerine ve sonrasında karbonyum türevlerine dönüşürler. Güçlü elektrofilik özellik taşıyan reaktif bir metabolit olan karbonyum iyonu negatif yüklü nükleik asitlerin (özellikle DNA) içerdği nükleofilik gruplara kovalent bağla geri dönüşümsüz olarak bağlanarak onları alkiler. Alkilleme, DNA' nın transkripsiyon ve replikasyonunu bozar ya da olanaksızlaştırır (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

Alkilleyiciler kemik iliği ve lenfoid dokuda baskılanmaya yol açarlar. Lenfoid dokuyu etkilemeleri, immunosupresif etkinliğin temelini oluşturur. Alkilleyicilerin bu etkileri nedeniyle, kullanımları sırasında kan sayımları belirli aralıklarla yapılmalı ve lökopeni ve

trombositopeniye eğilim ortaya çıktığında ilaçlar kesilmelidir. Bu gruptaki ilaçların çoğunda kümülatif kemik iliği toksisitesi söz konusudur. Sıklıkla bulantı, kusma ve iştahsızlık yaparlar. İntravenöz kullanıldıklarında bu yan etkiler daha belirgindir. Mukozite yol açarlar. Teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etkileri vardır. Siklofosfamid daha sık olmakla beraber alkilleyici ajanların saç dökülmesi yapabildiği rapor edilmiştir (Türker ve Dizdar, 2005).

Kemoterapötik ve sitotoksik etkiler doğrudan DNA' nın alkillenmesiyle ilgilidirler ve ipçikler arasında çapraz bağlara ve DNA sentezinin bozulmasına neden olurlar. Diğer etkiler arasında anormal baz eşleşmesi, DNA transkripsiyonunun engellenmesi, DNA ipçığının kırılması ve baz çiftinin iptal edilmesi sayılabilir. Alkilleyici ajanlar hücre döngüsünden bağımsız ilaçlar olarak ele alınırlar. Lösemi, lenfoma, miyelom, bazı kanser ve yumuşak doku tümörlerinin tedavisinde ve genel olarak kombine ilaç rejimlerinin ögesi olarak kullanılırlar. Siklofosfamid de belirgin immunosüprezant özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Alkilleyici ajanlara karşı direnç kazanılması çok yaygın bir durumdur. Sitotoksik aktiviteye karşı kazanılan bir tür direnç en az üç mekanizmayla meydana gelir: yüksek tiyol üretimi ajanları etkisiz hale getirebilir, hücre geçirgenliğinin düşük olması da bir rol oynayabilir ve DNA onarımı kapasitesinin yüksek olması sitotoksik aktiviteyi hafifletebilir. Şiddetli trombositopeni ve lökopeni ile birlikte kemik iliği baskılanması dozu sınırlayıcı zararlı yan etkiler arasına girer. Kullanılan ilaca bağlı olarak çeşitli oluş derecelerinde bulantı ve kusma meydana gelir. Gastrointestinal mukoza hücrelerinin kaybından ileri gelen lokal etkiler ve beyindeki kemoreseptör tetikleyici alan bulantı etkilerinden sorumlu olabilir. Ayrıca, özellikle siklofosfamid kullanımında, alopesi ve gonadal fonksiyon bozukluğu bildirilmiştir. Alkilleyici ajanlara özgü olarak ikincil kötü huylu hastalıklar uzun yıllar süren gecikme sonrasında ortaya çıkabilir. Bu ikincil kötü huylu hastalıklar arasında en yaygın olanlar lösemi ve lenfomadır (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

2.7.1. Nitrojen Mustard Analogları

Nitrojen mustard analogları sülfür mustardın türevleridir ve Birinci Dünya Savaşı'nda zehirli gaz olarak kullanılmıştır. Siklofosfamid, mekloretoamin, klorambusil, melfalan, ifosfamid ve estramustin gibi ajanları kapsar.

Siklofosfamid, muhtemelen en çok kullanılan antikanser ilaçlardan biridir ve bir ön-ilaçtır. Oral ve intravenöz olarak uygulanabilir. Karaciğerdeki mikrozomal sitokrom P450 karışık fonksiyonlu oksidaz sistemi tarafından aktif formları olan 4-hidroksisiklofosfamid ve aldofosfamide dönüştürülür. Hem normal hem de tümör dokularda sonradan enzimatik olmayan bir yolla sitotoksik moleküller fosfamid mustard ve akroleine dönüştürülürler. Akrolein boşaltma sırasında mesane içi toksiktir ve hemorajik sistik yaratma riski taşır. Sistitin şiddeti tedavi öncesinde ve sonrasında agresif hidrasyonla azaltılabilir (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996). Mekloretoamin ilk nitrojen mustardtır ve doğrudan toksiktir. Yarılanma ömrü birkaç dakika olan ajanın, tümörü besleyen arterlere doğrudan infüzyonu tercih edilen uygulama şeklidir. Advers etki spektrumu siklofosfamidinkiyle aynıdır. Klorambusil ve melfalan kullanımında, oral olarak uygulanmalarına rağmen bulantı ve kusma şikayetleri minimal düzeydedir. Diğer toksik etkileri siklofosfamidin toksik etkileriyle karşılaştırılabilir. Klorambusil belirgin şekilde immunosuprezant etkinliğe sahiptir (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996). İfosfamid, tıpkı siklofosfamid gibi karaciğerde hidroksilasyon ile etkin hale getirilir. Bununla birlikte ifosfamidin etkin hale getirilmesi daha yavaş bir yol izler ve çok sayıda inaktif metabolit oluşumu da ek toksik etkiler için neden yüksek dozda ifosfamid gerektiğini açıklayabilir (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

2.7.2. Etileniminler

Etileniminyum iyonunun oluşumu nitrojen mustardları için kritik önem taşıdığından, sabit etilenimin türevlerini antitümör etkinliğinin olması şaşırtıcı değildir. Tiyofosfaramid ya da tiyotepa, bu türde en iyi bilinen ve klinik olarak kullanılan bileşiktir. Hem tiyotepa hem de onun (hepatik karışık fonksiyonu oksidaz sistem tarafından hızlıca dönüştürüldüğü) birincil metaboliti olan trietilenfosforamid (TEPA) DNA ile çapraz bağlar oluşturur. Özellikle mesane kanserinde intravesiküler ajan olarak kullanılır. Tiyotepa myelosupresyon dışında çok az toksisite yaratır (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

2.7.3. Alkilsülfonatlar

Alkilsülfonatlar klinik kullanımda busulfan ve treosulfanı içerir. Busulfanoral uygulamadan sonra iyi emilir. Geleneksel dozlarda bu sulfanın myelosupresyondan başka çok az farmakolojik etkisi bulunur. Düşük dozlarda selektif granülositopeni belirgindir ve kronik miyelojenöz lösemnin kronik aşamasında birincil kullanıma yol açar. Busulfan, özellikle kök hücreleri olmak üzere, kandaki tüm elementleri baskılar ve aylarca süren uzun ve kümülatif miyelosupresyona neden olabilir. Bu nedenden ötürü allojenik kemik iliği nakli programlarında yüksek dozlu rejimler kullanılır. Adrenal yetersizliği, cilt pigmentasyonunda artış ve pulmoner fibroz meydana gelebilir. Treosulfan da oral olarak uygulanır. Over karsinomasında son çare geçici tedavi olarak kullanılır. Kemik iliği depresyonu başlıca toksisitesini oluştur (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

2.7.4. Nitrosoüreler

Karmustin, lomustin ve semustin gibi tüm nitrosoüreler, etkinliklerini göstermek için enzimatik olmayan biyotransformasyona gereksinim duyarlar. Lipitte çözünürlük oranları yüksek olduğu için ve kan-beyin bariyerini kolayca geçebildikleri için beyin tümörlerinde çok yararlı ajanlardır. Etki mekanizmaları, DNA' nın alkilasyonu yoluyla çapraz bağların oluşturulmasına dayanır. Diğer alkilleyici ajanlarla çapraz direnç ortaya çıkmaz. Karmustin genellikle intravenöz olarak verilir. Lomustin ve semustinin avantajı oral biyoyararlanımlarının iyi olmasıdır. Klinik etkinlik spektrumları birincil beyin tümörlerini, melanoma ve gastrointestinal kanserleri kapsarken, gecikmiş myelosupresyon ve geç renal ve pulmoner etkileri içeren toksisiteyi karmustinin toksisiteyle aynıdır (Kayaalp, 2009; Bökesoy ve ark., 2000; Lippincott's Illustrated Reviews, 1996).

2.7.5. Diğer Alkilleyici Ajanlar

Prokarbazin bir metilhidrazin türevidir. Diğer ajanlarla kombine olarak Hodgkin hastalığının ve Hodgkin olmayan lenfomaların tedavisinde önemli bir ajandır. Metile edici bir ajandır ama DNA'yı metilleyen sitotoksik yanıtçıları üretmek için metabolik aktivasyona uğraması gerekir. Mikrosomal enzimlerin indüklenmesi, örneğin fenitonin ve diğer ajanlar tarafından, prokarbazinin aktif metabolitlerine dönüşme oranını artırır. En yaygın görülen toksik etkileri lökopeni ve trombositopenidir. Çoğu hastada hafif bulantı ve kusma meydana gelir. Prokarbazinin sedatif etkisi vardır. Alkol alınması, disulfiram tarafından da yaratılan, asetaldehid sendromuna yol açabilir (Chris, 2008)..

Dikarbazin karaciğerde metabolik aktivasyona uğradıktan sonra metilleyici etkinlik kazanır. Kötü huylu melanoma, Hodgkin hastalığı ve yetişkin sarkomların tedavisinde kullanılır. Dikarbazin intravenöz verilir. Toksikitesi çoğunlukla bulantı ve kusmadan oluşur. Myelosupresyon hafif ve orta dereceli olarak değişir. Üşüme, ateş, kırıklık ve

miyalji gibi grip benzeri sendromlar tedavi sırasında ortaya çıkabilir. Hepatotoksisite, alopesi, yüz kızarıklığı, nörotoksisite ve dermatolojik reaksiyonlar bildirilmiştir (Chris, 2008).

Her siklusta kullanılan doz miktarı kümülatif doza göre akut kardiyotoksisite açısından daha önemli bir belirteçtir. Akut toksik etkileri 6 güne kadar devam edebilir, yaşayanlarda uzun dönem yan etkiler genellikle gözlenmez (Dow et al., 1993; Kupari et al., 1990). Hasar mekanizmasının toksik metabolitlerden çok endotelial ve miyosit hasarı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Braverman et al., 1991).

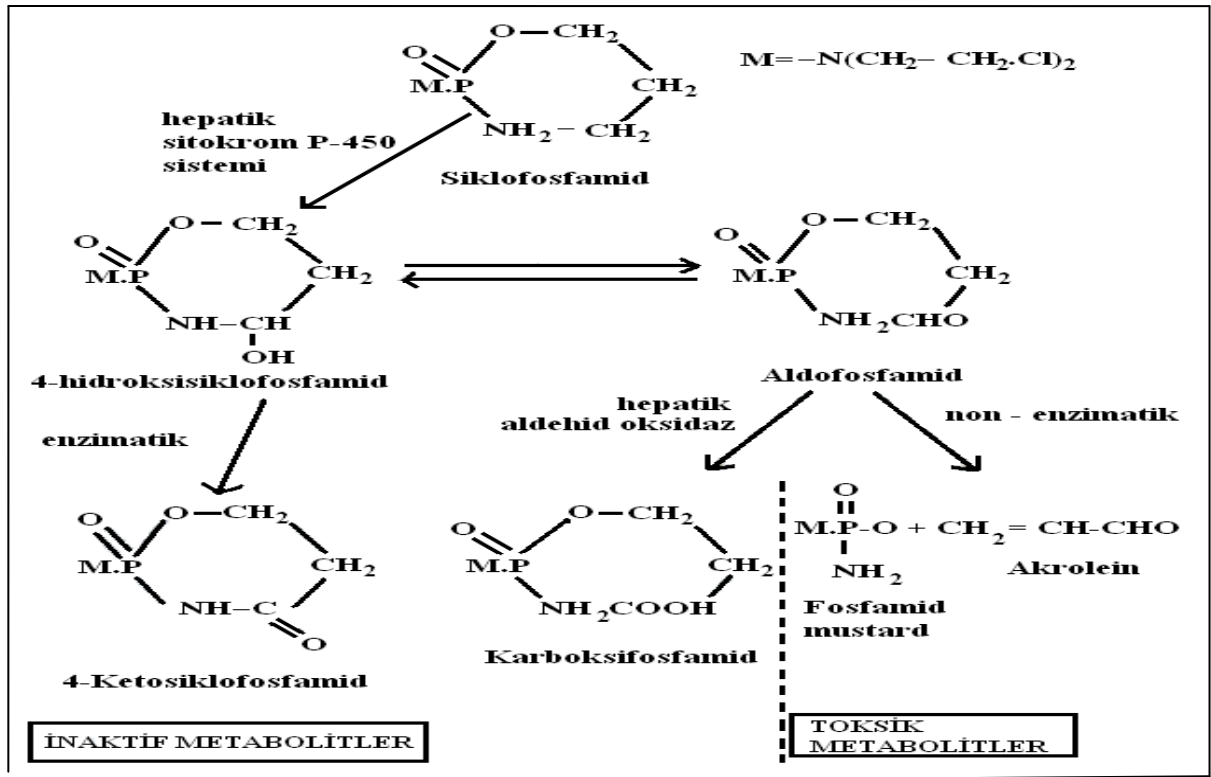
2.8. Siklofosfamid (CP)

Siklofosfamid (CP), nitrojen mustard (azotlu hardal) tipi alkilleyici ilaçlardandır. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid mustard (FAM)' a dönüşerek etkinlik kazanır. DNA' ya bağlanıp alkilleşerek DNA' nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozar. Döneme özgü olmayan bir ilaçtır (McEvoy, 2004). CP, ifosfasmid ve dikarbazin farmakokinetik anlamda ön ilaçlardır. Bu ilaçlar karaciğerde karma fonksiyonlu oksidazlar tarafından aktif metabolitlere dönüştürülürler, bu metabolitler de kanser hücresinde reaktif metabolitlere dönüşürler. Vezikan olmaları nedeniyle damar dışına kaçmalarına engel olunmaya çalışılmalıdır (Türker ve Dizdar, 2005).

Alkilleyici tipte bir antineoplastik ilaç olan CP, sitotoksik immünosüpresif ilaçların en güçlüsü olduğu kabul edilir; ancak toksisitesinin fazlalığı nedeniyle immünosüpresif ilaç olarak kısıtlı sayıdaki endikasyonlarda kullanılır. Bazen süpresör T lenfositlerini baskılamak suretiyle paradoksik olarak immünostimülasyon yapar. B lenfositler üzerinde, T' lerde olduğundan daha etkilidir. İntravenöz ve oral yolla uygulanabilir (Kayaalp, 2005).

CP, bir oksazosfosforindir (Bernacki et al., 1987). Bağışıklık baskılayıcı ve bir antitümör ajan olan CP' nin onkosidal etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive

edilmesi gerekir (Şekil 2.8.1). Hümorale ve hücresele bağışıklığın CP ile baskılandığı bildirilmektedir (Kawabata et al., 1990; Bernacki et al., 1987). Alkilleyici ajanlar nitrojen mustard, etilen aminler, alkil sülfanatlar, nitrozürelere ve triazenlerdir. Beş çeşit nitrojen mustard tedavide kullanılır. Bular; mekloreteamin, siklofosfamid, ifosfamid, melfalan ve klorambusildir. Mekloreteamin intravenöz yolla verilir. Hızlı bir şekilde kimyasal değişime uğrar. Karaciğer bozukluğuna neden olmaz (DeSemet, 1993). Neoplastik dokulara daha fazla seçici bir ilaç araştırılırken mekloreteamin türevi olan siklofosfamid bulunmuştur. Karaciğer sitokrom p450 sistemi CP' yi 4-hidroksisiklofosfomide çevirir. Bu form aldofosfamide eşittir. Aldofosfamid ayrışması ile FAM ve ACR oluşur. Bu iki bileşen oldukça sitotoksiktir ve ilacın aktif formlarıdır. Sitotoksik etkileri, bünyelerindeki elektrofilik alkil kökü ile hedef makromoleküllerin nükleofilik parçasının geri dönüşsüz bir kombinasyon yapması ile olmaktadır (Shaunak et al., 1988).



Şekil 2.8. Siklofosfamid metabolizması

CP karaciğerde hidrosillenerek bir metaboliti olan ACR' ye dönüşmektedir. ACR sadece siklofosfamidin yıkılması ile oluşmamakta ayrıca sigara, böcek ilaçlarında, bazı yiyeceklerde ve yanmış organik malzemelerde de bulunabilmektedir (Masuda et al., 2006). ACR epiteli geçerek ve bazı reaktif oksijen türlerini uyararak etkisini gösterdiği gibi nitrik oksit sentaz (NOS) üzerinden de nitrik oksit (NO) seviyelerini artırarak da etki gösterir. NO birçok önemli fizyolojik ve fizyopatolojik süreci düzenleyen SOR öncülü bir üründür. L-argininden NOS vasıtasıyla sentez edilmektedir. NOS'un 3 tipi vardır:

- 1) Endotelial NOS (eNOS): Endotelial hücreler ve fibroblastlardan sentez edilir, vazodilatasyondan sorumludur.
- 2) Nöronal NOS (nNOS): Sinir sisteminde üretilir ve sinirsel sinyalizasyonda görev alır.
- 3) İndüklenebilir NOS (iNOS): Lökosit ve makrofajlarda sentezlenir. Genel olarak patolojik durumlarda sentezlenen iNOS' un aktivasyonu ile eNOS aktivasyonundan daha çok NO üretilir (Szabo, 1996).

CP klinikte çok geniş kullanımı olan bir ilaçtır. Lenfoma, akut ve kronik lösemilerde, multiple myelom gibi kanser tedavilerinde ve non maling hastalık durumlarında örneğin romatoid artritte etki sağlamaktadır (Dollery, 1999). CP, hem hematolojik ve hem de solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunmuştur. CP güçlü immünoşüpresif etkinlik gösterir, bu özelliği nedeniyle romatoid artrit, Behçet hastalığı, nefrotik sendrom ve diğer bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde de kullanılır (Kayaalp, 2005).

CP' den en çok etkilenen hücreler lenfositlerdir ve bunların sayısı ve işlev açısından değişiklikleri bağışıklık sisteminin baskılandığının göstergesidir (Fritz and Kaina, 2006). CP' nin plazmadaki yarılanma ömrü 6,5 saattir. Parenteral olarak verildiğinde aktif metabolitlerin plazma konsantrasyon pikine ulaşması 2-3 saat sürer (Akçasu ve ark., 1992). Bağışıklığı büyük oranda etkilemektedir ve yakın laboratuvar takibi gerektiren yan etkileri vardır. En çok görülen yan etki bulantı ve kusmadır. CP, bağışıklığı bozan yüksek doz

kortikosteroidler gibi ilaçlarla birlikte kullanıldığı zaman savunma sistemini baskılayıp enfeksiyon riskini artırır (Fritz and Kaina, 2006).

2.9. Kemoterapik Ajanlar ve Kardiyotoksik Yan Etkileri

Kemoterapötik ilaç kullanımında dikkate alınması gereken durumlardan biri de ilaç toksisitesidir. Bu grup ilaçların optimal kullanımında etki mekanizmaları, biyoyararlanım, eliminasyon yolu ve ilaç etkileşiminin bilinmesi yanında toksisitelerinin de bilinmesi ve izlenmesi önem taşımaktadır (Dilek, 2010).

Antineoplastik ajanlara bağlı kardiyotoksikite uzun süredir bilinmektedir. Antrasiklinler yüksek antineoplastik aktiviteleri nedeniyle onkolojide en sık kullanılan ajanlardan biridir (Holland et al., 1993). Antineoplastik etkileri ise; DNA yapısına girerek makromoleküllerin sentezinin inhibisyonu, serbest radikal üretimine yol açarak DNA hasarına neden olması, direkt hücre zarına toksik etkileri, topoizomeraz II enzim inhibisyonu, DNA hasarı ve p53 geni aktivasyonu ile apoptozu uyarması sonucu ortaya çıkmaktadır (Mimotti et al., 2004).

Antikanser tedavinin potansiyel bir komplikasyonu kısa ve uzun dönem kardiyovasküler toksisitedir. Kardiyovasküler sistem üzerine etki eden kemoterapötiklerin en önemlileri antrasiklinler, mitksantron, siklofosfamid, ifosfamid ve paklitaksel olmakla birlikte yeni monoklonal antikorlar (transtuzumab) ve trozin kinaz inhibitörleri de seyrek olarak çok ciddi kardiyotoksikite gösterebilmektedir. Antrasiklin toksisitesinin akut formu EKG değişiklikleri, ritim bozuklukları ve hemen oluşan ventrikül disfonksiyonudur. Semptom ya da kalp hastalığı öyküsü olan olgularda infüzyon sırasında kardiyak monitörizasyon gereklidir. Kümülatif doz ilişkili kardiyomiyopati çoğunlukla geri dönüşümsüzdür. Akut kardiyomiyopati yüksek doz CP ile oluşabilir. 5-6 gm/m² kümülatif

dozda hemorajik formda kardiyomiyopati görülebilir (Özkocaman, 2010; Yahalom and Portlock, 2008).

Son yıllarda kanser tarama yöntemlerinin geliştirilmesi ile erken tanı konabilmekte ve adjuvan kemoterapi kullanımının yaygınlaşması ile de kanser tedavisinde şifa oranı belirgin olarak yüksek olabilmektedir. Ancak bu yükseklik ile birlikte kemoterapiye bağlı erken ve geç kardiyak yan etkilere maruz kalan kişi sayısı da artmaktadır. Kanser hastalarındaki uzun yaşam beklentisine karşın kanser ilaçlarının yapmış oldukları kardiyovasküler yan etkiler gittikçe artan bir konu olmuştur. Alınan ilaçların birçoğunun kardiyotoksik olması nedeni ile bu hastalarda kardiyoloji konsultasyonu ve takibi istenilmektedir. Ayrıca bu kanser vakalarının görülme yaşı dikkate alınır ise bu yaş gurubunda koroner arter hastalığı, hipertansiyon, kalp yetersizliği ve diğer kalp hastalıkları görülme sıklığı da yüksektir (Slamon et al., 2001; Khakoo and Yeh, 2008).

Kanser tedavisinde değişen bir başka nokta ise tümörlerde damar oluşumunu artıran tirozin kinaz uyarı yolaklarını baskılamak amacıyla üretilmiş monoklonal antikorların veya tirozin kinaz inhibitörleri gibi yeni kuşak ilaçların kullanılmasının artmasıdır. Yeni ilaçların kullanılmaya başlamasından sonra antikanser tedavinin amacı tümörün bütün olarak ortadan kaldırılmasından ziyade, tümör yükünün kontrol altına alınması şeklinde değişmiştir. Yeni grup ilaçlar her ne kadar iyi tolere edilseler de, son zamanlarda bazı hedefe yönelik ilaçların kullanımı sırasında aralarında kalp yetersizliği (KY), Sol Ventrikül (SV) sistolik fonksiyonlarında bozulma, hipertansiyon (HT), tromboembolik olaylar ve nadir olarak miyokard infarktüsünün (MI) de bulunduğu kardiyak yan etkiler bildirilmiştir (Slamon et al., 2001; Khakoo and Yeh, 2008).

Özellikle yüksek doz siklofosfamid (120-200 mg/kg) kullanımından sonra kardiyak etkiler bildirilmiştir (Slordal and Spigset, 2006; Floyd et al., 2005). Kardiyak semptomları; aritmi (taşikardi, atriyo-ventriküler tam blok), akut fulminant kalp yetersizliği ve hemorajik miyoperikardiyum ve bunun neden olduğu perikardiyal efüzyon, kardiyak tamponat ve

hatta ölüme neden olabilir (Slordal and Spigset, 2006; Floyd et al., 2005). Akut semptomlar genellikle ilaç verildikten 1-2 hafta sonra görülür, yan etki gelişirse %11 oranında ölümcül olabilir (Slordal and Spigset, 2006; Yeh et al., 2004).

Ando ve ark.'nın (2000) yüksek doz siklofosfamid ile kemik iliği transplantasyonu yapılan 39 meme kanserli hastayı içeren çalışmalarında hazırlama rejimi olarak siklofosfamid ($2000\text{mg}/\text{m}^2$) ve thiotepa ($200\text{mg}/\text{m}^2$) kullanılmıştır. Bu çalışmada hastaların birisinde konjestif kalp yetersizliği, 2' sinde sol ventrikul disfonksiyonu, 3 hastada perikardiyal effuzyon, 2 hastada ST-T anormallikleri, aritmi gelişen 9 hastanın 3' ünde atriyal, 2' sinde ventrikuler aritmi ve 4' ünde atriyoventrikuler blok epizotları izlenmiştir (Ando et al., 2000).

Morandi ve ark. (2001)'nin kemik iliği transplantasyonu yapılan 16 meme kanseri hastasını içeren çalışmalarında siklofosfamid dozu $7\text{mg}/\text{m}^2$ olarak kullanılmış ve hastaların takibinde kardiyak enzimlerden troponin, kreatin kinaz (CK) ve CK-MB, EKG ve EKO kullanılmış: EKG, 12, 24, 48. ve 72. saatlerde çekilmiş. Hastaların hiçbirinde kardiyak enzimler yükselmezken, sadece 6 hastanın EKG' sinde nonspesifik ST-T değişiklikleri izlendi ve 6 hastanın EKO' sunda sol ventrikul diyastolik disfonksiyon tespit edildiği bildirilmiştir (Morandi et al., 2001).

Goldberg ve ark. (1986)'nin 84 kemik iliği transplant hastasını içeren, $50\text{mg}/\text{kg}/\text{gün}/4$ gün dozunda CP' nin kullanıldığı çalışmasında hastaların 14' ünde CP' nin kardiyak toksisitesine bağlı semptom ve bulgular saptanmıştır. Hastalar, siklofosfamid dozuna göre (vücut yüzey alanı göz önüne alınarak) 2 gruba ayrılmıştır. Günlük $1.55\text{mg}/\text{m}^2$ ' den yüksek dozda siklofosfamid kullanılan 52 olgunun 13'ünde konjestif kalp yetersizliği gözlenirken, 6 olgu ölümle sonuçlanmış; günlük $1.55\text{mg}/\text{m}^2$ ' den daha az dozda siklofosfamid kullanılan 32 olgunun 1' inde konjestif kalp yetersizliği gelişmiş ve hiçbir hasta kaybedilmemiştir. Yapılan bu çalışmada $60\text{mg}/\text{kg}/\text{gün}$ dozunda kullanılan siklofosfamid, vücut yüzey alanına göre hesaplandığında, $2.3\text{mg}/\text{m}^2$ olup yan etki

gözlenmiştir. Olgudaki kardiyak toksisite nedeninin, vücut yüzey alanına göre hesaplanan yüksek doza bağlı olabileceği görülmüştür (Goldberg et al., 1986).

Sonuç olarak; kemoterapiye bağlı olduğu düşünülen, kardiyak yan etki değerlendirmelerinde mutlaka olgunun hikayesi, semptomları, ilaçları, ilaç dozları, EKG, EKO ve kardiyak enzimleri birlikte değerlendirilmeli ve özellikle siklofosfamidin en sık görülen konjestif kalp yetersizliği toksisitesi dışında MI ile karışabilen vazospastik angina tablosu ile karşımıza çıkan klinik durumu da yapabileceği unutulmamalıdır (Teke ve ark., 2008).

2.10. Antioksidanlar

Serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkabilmektedir (Halliwell, 1996; Nakazawa, 1996). Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır. Bu sistemler farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynadıkları için birbirlerini tamamlayıcı niteliktedir (Diplock, 1998).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “Antioksidan” adı verilir (Elliot, 1999).

Antioksidanlar (AO), hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir (Akkuş, 1995). ROS’ ların oluşumunu ve bunların meydana getirdiği

hasarı önlemek için vücutta antioksidan savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. AO moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içerir. Hücre içi SOR toplayıcı enzimler asıl AO savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz (GSHPx), glutatyon redüktaz, katalaz (CAT) ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (Halliwell, 1991).

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan SOD, GSHPx ve CAT gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrenel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak suretiyle bir hücrenel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock, 1998). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou et al., 2002).

Kemoterapi uygulanan hastalarda, kemoterapinin oksidatif stres artışına ve ayrıca, antioksidanlarda kayba yol açabildiği bildirilmiştir (Crohns et al., 2009; Block et al., 2007; White et al., 2006; Clemens et al., 1997; Hunnisett et al., 1995; Ladas et al., 2004; Dürken et al., 2000). Bazı araştırmalarda, kemoterapinin antioksidanlar üzerine etkisi, serum mikronutrientleri veya total antioksidan kapasite tayin edilerek değerlendirilmiştir (Hunnisett et al., 1995; Lin, 2002; Jonas et al., 2000; Prasad et al., 1999). Bazı çalışmalarda ise, kemoterapi ile birlikte tek başına veya kombine uygulanan antioksidanların etkileri incelenmiştir (Block et al., 2007; Simone et al., 2007; Ladas et al., 2004; Blumenthal et al., 2000; Conklin et al., 2000; Christen et al., 2000).

Kemoterapi, lipid peroksidasyon ürünlerini artırmakta, kanda serbest radikal tutucu kapasiteyi azaltmakta ve A, E, C vitaminleri gibi plazma antioksidan düzeylerinde azalma görülmektedir. Kanser hastalarının antioksidan düzeylerinin, kemoterapi cevabı açısından önemli olduğu bildirilmiştir (Simone et al., 2007; Seifried et al., 2007; Bairati et al., 2005; Seifried et al., 2003).

Kemoterapi ile birlikte AO takviyesi yapılması konusunda en çok tartışma, sitotoksik etkilerini serbest radikaller oluşturarak gösteren ajanlar (alkilleyici ajanlar, radyasyon gibi) konusundadır. Teorik olarak, antioksidanların serbest radikalleri süpürerek bu ajanların etkisini azaltabileceği düşünülmektedir. Ayrıca antioksidanların, kemoterapinin etkinliğini azaltmadığını bildiren çok sayıda çalışma da bulunmaktadır (Block et al., 2007; Simone et al., 2007; Ladas et al., 2004; Blumenthal et al., 2000; Langemann et al., 1989; D'Andrea, 2005). Bazı çalışmalarda, antioksidanların *in vivo* ve *in vitro* olarak kemoterapinin antitümör etkilerini artırdıkları gösterilmiştir (Block et al., 2007; Seifried et al., 2007; D'Andrea, 2005). Yapılan bir çalışmada, kemoterapi ve radyoterapiye bağlı oksidatif strese karşı; E, A ve C vitaminleri kullanılmış, *in vivo* ve *in vitro* olarak vitaminlerin terapötik etkiyi artırdığı, normal hücreleri de apoptozdan koruduğu tespit edilmiştir (Blumenthal et al., 2000).

In vitro araştırmalarla ve hayvan çalışmaları ile, serbest radikal süpürücülerin, doksorubisin ve sisplatin gibi sitostatik ajanlarla birlikte uygulanmasının, antitümör etkiyi azaltmadığı, ayrıca hayvan çalışmalarında, tek başına kemoterapi uygulananlara göre birlikte antioksidan uygulananlarda hayatta kalma oranının daha yüksek olduğu pekçok kez gösterilmiştir (Weijl et al, 1997; Simone et al., 2007). Klinik çalışmalarda da antioksidanlar, kemoterapinin antitümoral etkisini azaltmamıştır (Weijl et al, 1997; Seifried et al., 2007; Bairati et al., 2005).

Antioksidanların, kemoterapi ile ilgili bazı toksik etkileri azaltabileceği ileri sürülmüştür. Birçok yayında antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisite şiddetini ve sıklığını azalttığı bildirilmektedir. Antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisiteyi azaltarak, daha yüksek ve etkin dozların kullanılmasının sağlanabileceği ileri sürülmüştür (Block et al., 2007; Ladas et al., 2004; Simone et al., 2007; Christen et al., 2000; Blumenthal et al., 2000; Borek, 2004).

Kanser kemoterapisinde sıklıkla kullanılan antioksidanlar, E vitamini, C vitamini, β -karoten ve A vitaminidir. Radyoterapi ve kemoterapi uygulanmış skuamöz ağız kanserli hastalarda, β -karoten desteğinin oral mukozit oluşumuna karşı koruyucu etkisi tespit edilmiştir. Benzer şekilde, adenokarsinomlu sıçanlarda, radyoterapinin yanısıra β -karoten verilmesiyle, yan etkilerin azaldığı, hayatta kalma süresinin uzadığı gösterilmiştir (Mills, 1988). 51 hücre kültürü ve 81 hayvan çalışmasında A, B₆, B₁₂, C, D, E vitaminleri, β -karoten, selenyum ve sistein kombinasyonlarının, kemoterapi ve radyoterapinin yan etkilerine karşı koruyucu olduğu, hayatta kalma süresinin uzadığı, tedaviye cevabın arttığı bildirilmiştir (Simone et al., 2007).

Epidemiyolojik çalışmalarla, kanser hastalarında antioksidan vitaminlerin ve minerallerin plazma konsantrasyonlarının düşük olduğu gösterilmiştir. α - tokoferol ve β karoten, kanser tedavisi ve kanserden korunma ile ilgili klinik denemelerde, antioksidan özelliklerinden dolayı en çok çalışılan vitaminlerdir (Bairati et al., 2005; Drisko et al., 2003; Mills, 1988). Kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve göz hastalıklarında, β -karoten, vitamin E, vitamin C ve multivitamin kombinasyonlarının, yarar-zarar oranlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, yüksek risk altındaki hastalarda vitaminlerin koruyucu etkileri olduğu bildirilmiştir (Borek, 2004). Sağlıklı, 45 yaş üstü kadınlarda yapılan bir çalışmada, β -karotenin kanser ve kardiyovasküler hastalık insidansı üzerine etkisi denenmiş, 2 yıl süre ile vitamin takviyesi alan kadınlarda, suplementasyona bağlı herhangi yarar veya zarar görülmemiştir (Abu et al., 2005).

Kemoterapi alan 8500 kanser hastasında yapılan bir çalışmada, çoklu nutrient kombinasyonunun, tedaviyle etkileşmeksizin yan etkileri azalttığı, hayatta kalma süresinin uzadığı ve tedavi cevabının arttığı gösterilmiştir (Simone et al., 2007). Kemoterapi almış 103 çocuk ALL hastasında, antioksidan vitamin takviyesinin uygulandığı bir çalışmada ise kemoterapötiklere bağlı toksisitenin ve enfeksiyon riskinin azaldığı görülmüştür (Stallings, 2008).

Miyelodisplazik sendromlu hastalarda aralarında α -tokoferolün de bulunduğu antioksidan kombinasyonlarının uygulandığı bir çalışmada, cilt toksisitesi ve sistemik toksisitenin azaldığı bildirilmiştir. Baş ve boyun, deri, akciğer, meme kanseri, miyelodisplazi gibi pekçok hastalıkta uygulanan kemoterapinin yan etkilerine karşı α -tokoferolün koruyucu olduğu gösterilmiştir (Simone et al., 2007). Periferik nöropati, birçok kemoterapötik ilaca bağlı yan etkilerden biridir. E vitamini desteğinin bu yan etkiyi azalttığı bildirilmiştir (Wolf, 2008).

Koenzim Q veya diğer ismi ile ubikinon, yağda çözünen bir membran bileşiği olup, mitokondriyel solunum zincirinde elektron ve proton taşıyıcısıdır. Son yıllarda antioksidan özelliği ile hücreleri oksidatif strese karşı koruduğu belirlenmiştir. Farklı kemoterapötiklere bağlı oksidatif stresin, koenzim Q düzeylerini vücudun antioksidan savunmasının bir göstergesi olarak artırdığı görülmüştür (Brea-Calvo et al., 2006).

Ajanlarla tedavi edile ve antioksidan kullanan hastalarda, antioksidanların ajanlar tarafından oluşturulan kaybı telafi etmek üzere kullanılması mantıklı görülmekte ve bu hastalarda antioksidan takviyesinin gerekli ve yararlı olabileceği üzerinde durulmaktadır (Ladas et al., 2004; Blumenthal et al., 2000).

Antioksidan enzimlerin sınıflaması:**a). Yapılarına göre****➤ Enzim karakterli antioksidanlar**

- Süperoksit dismutaz (SOD)
- Katalaz (CAT)
- Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)
- Glutatyon –S- transferaz (GST)
- Glutatyon redüktaz
- Sitokrom oksidaz

➤ Enzim karakterli olmayan antioksidanlar

- Antioksidan vitaminler
- Karotenoidler
- Glutatyon
- Ürik asit
- Billuribin
- Melatonin

b). Kaynaklarına göre

- Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar)
- Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar)

c). Çözünürlüklerine göre

- Suda çözünenler
- Lipitlerde çözünenler

d). Yerleşimlerine göre

- Hücre içinde bulunanlar
- Plazma ve diğer ekstrasellüler sıvılarda bulunanlar (Yalçın, 1998).

Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki ederler:

- 1) SOR' ları etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. AO enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2) SOR' larla etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) SOR' ları bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) SOR' ların oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir (Durak ve ark., 1996).

AO' lar peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya ROS türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. AO' lar endojen ve eksojen diyerek ikiye ayrılabilirdiği gibi SOR oluşumunu önleyenler ve mevcut olanı etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler (Durak ve ark., 1996). Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilir (Liebler, 1993).

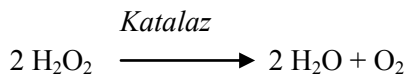
Birinci savunma hattını, peroksidaz ve metal bağlayan proteinlerin baskılanması ile SOR meydana gelmesini önleyen AO' lar oluşturur. İkinci savunma hattını, vitamin C ve vitamin E gibi radikal temizleyici AO' ların zincir oksidasyonunun başlamasını baskılaması

ve zincirleme reaksiyonların yayılımını önlemesi oluşturmaktadır. Üçüncü olarak da hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı enzimler (lipazlar, proteazlar, DNA onarıcı enzimler ve transferazlar gibi) savunmada rol alırlar (Willcox et al., 2004).

AO enzimlerden; SOD, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşümünü katalize eder (Janssen, et al., 1999). H_2O_2 , CAT tarafından H_2O ve O_2 ' ye dönüştürülür. H_2O_2 , GSH-Px ile de detoksifiye edilir. GSH-Px bu işlemi yaparken redükte glutatyondan elektron alır. GSH-Px, glutasyon tarafından hidroperoksitlerin (ROOH ve H_2O_2) indirgenmesini sağlayarak, memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan selenyum içeren bir enzimdir (Mates and Sanchez-Jimenez, 1999). GSH-Px enziminin selenyuma bağlı ve bağımsız 2 izomeri vardır. Selenyuma bağlı izoenzimi selenosistein formunda bulunmaktadır. Bu enzim hem H_2O_2 'i hem de organik peroksitleri kullanabilir. Selenyumdan bağımsız GSH-Px ise, hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında lokalize olup, yalnızca lipit H_2O_2 'ini metabolize edebilmektedir (Seven ve Candan, 1996).

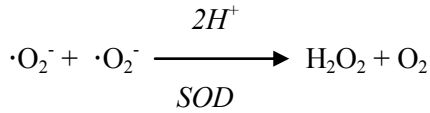
CAT, H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene parçalayarak elimine etmektedir (Koltuksuz ve ark., 1999). CAT, H_2O_2 'e spesifiktir, diğer organik peroksitlere etki etmez (Siems et al., 1994).

Katalaz ve Peroksidaz: Bir metaloenzim olarak bilinen CAT enzimi redoks reaksiyonunu teşvik eden en etkili protein katalistlerinden birisidir (Larson, 1988). SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik H_2O_2 , CAT enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (Duthie et al., 1989).



H₂O₂, biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile spesifik olarak reaksiyona girmemekle birlikte ·OH radikali gibi daha reaktif oksidanların oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır. Peroksidazlar da CAT ile aynı özelliklere sahiptir (Larson, 1988).

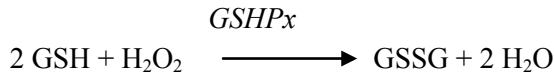
Süperoksit dismutaz enzimi (SOD): Bu enzim, süperoksit anyonunun (·O₂⁻), H₂O₂ ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir (Larson, 1988).



Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun (·O₂⁻) pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını artırmak için yeterince güçlü bir katalisttir (Larson, 1988).

Süperoksit anyonunu da, H₂O₂ gibi bir oksidan olarak çoğu organik bileşikle direkt olarak reaktif değildir ancak muhtemelen daha reaktif ve yüksek toksisiteye sahip oksijen türlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Tütün bitkisinin yaşlı yapraklarında membran zararlanmasının bir işareti olarak SOD ve CAT enzim aktiviteleri azalma göstermektedir. Bu iki enzimin aktivitesi ve yapraklardaki lipid peroksidasyonunun derecesi arasında çok açık bir korelasyon belirlenmiştir. Bu enzimlerin, yaprağı lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden korumada önemli rolleri olduğu ileri sürülmektedir (Larson, 1988).

Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz (GSHPx) : Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan bir tripeptid olan glutasyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır. Suda çözünebilen bir tiyol olan ve birçok hücrede çok yüksek konsantrasyonlarda bulunan glutasyon, biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korumaktadır. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşmektedir (Di Mascio et al., 1991). Aktivitesi için Se mineraline ihtiyaç duyan GSH-P_x enzimi, glutasyon'un indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir.



Glutasyon aynı zamanda hücre içinde tekli oksijen (¹O₂), süperoksit anyonu (O₂⁻), hidroksi (·OH) radikalleri gibi birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir (Larson, 1988).

GSH (γ-glutamil sisteinil glisin), glutamin, glisin, ve sisteinden sentezlenen bir tripeptiddir. En yüksek derişimi karaciğerde olmasına rağmen tüm hücrelerde bulunmaktadır. Bu nedenle GSH homeostazında karaciğer önemli rol oynamaktadır. Glutasyon sentezi, sırasıyla γ-glutamilsistein sentetaz ve glutasyon sentetazın katalizlediği reaksiyonlarla sitozolde gerçekleşir. γ-glutamilsistein sentazın katalizlediği reaksiyon glutasyon sentezinin hız sınırlayıcı basamağıdır (Lu, 2009).

Glutasyon, redükte glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olmak üzere iki formda bulunmaktadır. Redükte olan form hücrede baskın olan formdur. Hücre glutasyonunun % 80-85' i sitozolde, %10-15' i mitokondride ve çok az bir kısmı endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. Mitokondrial GSH hücre için esansiyeldir.

Glutasyon sentezi için gerekli enzimler mitokondride bulunmadığı için mitokondri GSH' ı sitozolden sağlanmaktadır. Glutasyon transport kapasitesine sahip iki antiport taşıyıcı protein tanımlanmıştır. Bunlar dikarboksilat taşıyıcı protein ve 2-oksoglutarat taşıyıcı proteindir (Valko et al., 2006; Yuan and Kaplowitz, 2009).

Glutasyon hücre için en önemli antioksidan olmasının yanında, detoksifikasyon, redoks durumunun düzenlenmesi, immün yanıt ve hücre farklılaşması gibi birçok hücre işlevinin kontrolünde önemli rollere sahiptir. Glutasyonun işlevi ksenobiyotik ve/veya metabolitlerinin detoksifikasyonunun sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu metabolitler spontan veya glutasyon-S-transferaz (GST)' in katalizlediği reaksiyonlarla konjugat oluşturur. Hücre dışına taşınan konjugattan glutamiltranspeptidaz (-GT) enzimi ile -glutamil grubu, dipeptidaz enzimi ile glisin yapıdan uzaklaştırılır. Sistein konjugatının N-asetilasyonla merkaptürik asit oluşturması sonucu detoksifikasyon süreci sonuçlanır.

GSH konjugatının merkaptürik asite metabolize edilmesi barsak, safra kanalları ve böbrekte başlarken, N-asetilasyon basamağı böbrekte gerçekleşmektedir (Yuan and Kaplowitz, 2009).

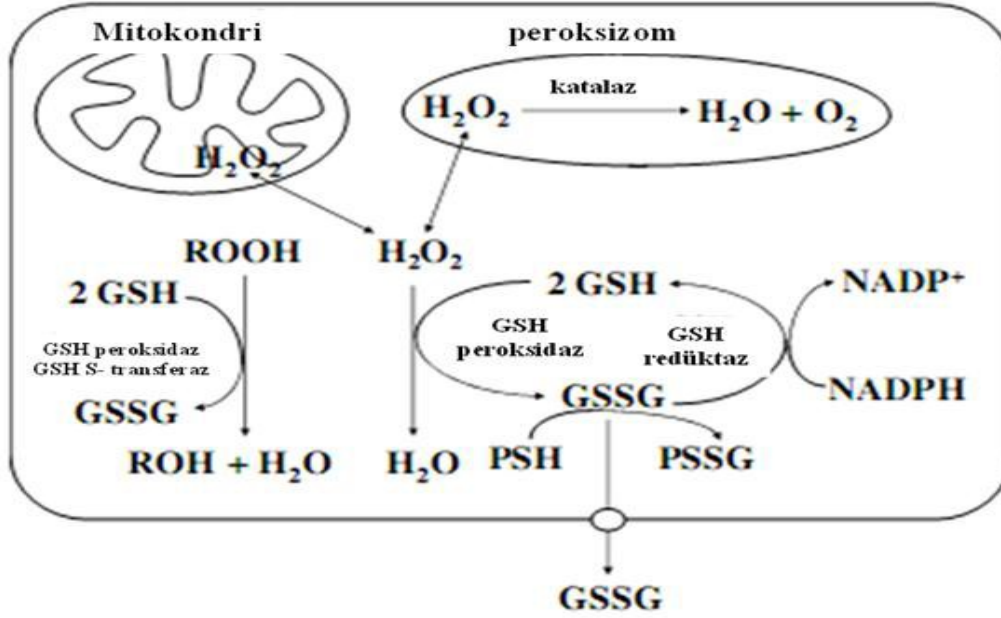
Glutasyon protein olmayan tek tiyoldür ve hücre içi tiyol dengesinin, redoks durumunun ana belirleyicisidir. Ayrıca GSH/GSSG, NADP+/NADPH ve tiyoredoksin (TrxSS/Trx(SH)₂) gibi çiftler hücre içinde redoks ortamın sağlanmasına yardımcı olmaktadır. GSH derişimi diğerlerine göre 100 - 10000 kat daha fazla olduğu için redoks durumunun belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. GSH derişiminin yanında GSH/GSSG molar oranı da redoks potansiyelinde belirleyicidir. Orta şiddette bir oksidatif stres sırasında GSH/GSSG oranı değişmeksizin GSH tüketilmekte ve GSSG' nin GSH'a indirgenmesi yolu ile redoks potansiyeli korunmaktadır. Hücre içi GSH havuzu farklı hücrelere göre değişim göstermektedir. Örneğin hepatositte yaklaşık 10 mM iken nöron GSH derişimi yalnızca 1mM' dir. Bu nedenle hepatositin redoks kapasitesi nörona göre daha fazladır. Hücredeki enzimlerin aktiviteleri, sinyal oluşumu gibi birçok işlevin

gerçekleşmesi hücre içi tiyol düzeyine bağlıdır. Tiyol transferazın katalizlediği reaksiyonla GSH ile protein arasında tiyol-disülfid değişimi gerçekleşmektedir:



Bu reaksiyon tersinir olup, hücre içi GSH ve GSSG derişimlerine bağlıdır. Fizyolojik şartlarda hücrel GSSG içeriği çok düşük olduğu için protein disülfid oluşumu da sınırlıdır (Lu, 2009).

Şiddetli oksidatif stres sırasında oluşan ROS, lipit peroksidasyonu ve hücre hasarına neden olmaktadır ve oluşan H_2O_2 ve organik peroksitler GSH ile indirgenmektedir. H_2O_2 ' in indirgenmesinde peroksizomlarda CAT enzimi işlev görmektedir. Mitokondride CAT bulunmadığı için mitokandrial oksidatif strese karşı korunmada GSH çok önemli rol oynamaktadır. Şiddetli oksidatif stres durumunda GSH azalırken GSSG derişimi artar. Artan GSSG ya aktif olarak hücreden uzaklaştırılmakta ya da proteinlerin sülfidril gruplarıyla etkileşerek protein disülfid oluşumuna yol açmaktadır (Şekil 2.10.). Şiddetli oksidatif stres hücrel GSH tüketimi ile sonuçlanmaktadır (Lu, 2009).



Şekil 2.10. GSH'ın antioksidan işlevi (Lu, 2009).

Glutasyonun en önemli görevlerinden biri de sistein deposu olmasıdır. Sistein hücre dışı ortamda kararsızdır ve hızlıca sistine okside olmaktadır. GSH'ın sistein kaynağı olarak işlev göstermesi γ -glutamil döngüsü ile sağlanmaktadır. γ -glutamil döngüsü en fazla böbrekte olmak üzere, karaciğer ve diğer bazı dokularda fonksiyon göstermektedir (Lu, 2009; Yuan and Kaplowitz, 2009).

2.11. Karvakrol

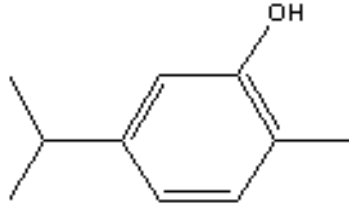
Bitki kaynaklı doğal ürünlerden bazıları, antitümör ve antioksidan aktiviteleri içeren çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı yıllardır ilgiyi üzerinde toplamaktadır (DeFeudis et al., 2003; Takeoka and Dao, 2003). Bitki kaynaklarından antikanser ajan aramada en iyi yaklaşımlardan biri; modern bilimin ışığında, etkinliği ve güvenilirliği test edilmiş bitkilerin seçimidir (Kirtikar and Basu, 1975).

Aromatik bitkilerin antioksidan aktivitesi yapılarındaki fenolik bileşiklerle ilişkilidir (Skerget et al., 2005). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarla bileşik oluşturma (metal selatlama) ve singlet (tekli) oksijen oluşumunu engelleme veya azaltma gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Rice-Avans et al., 1995; Pekkarinan et al., 1999). Bu bileşikler, lipitlerin ve diğer biyomoleküllerin (protein, karbonhidrat, nükleik asitler) serbest radikallerce okside olmalarını engellemek için aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarda bulunan hidrojeni verebilmektedir (Burda and Oleszek, 2001). Aromatik bitkilerin kimyasal bileşimi birçok etmene bağlı olarak farklılık gösterdiğinden, antioksidan etkileri de değişebilmektedir (Akgül ve Ayar, 1993; Javanmardi et al., 2003). Türkiye’ de yetiştirilen aromatik bitkiler arasında kekiğin güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Akgül ve Ayar, 1993).

Üzerinde en fazla araştırma yapılan aromatik bitkilerden biri de kekiktir. Ülkemizde ticareti yapılan ve yaygın olarak kullanılan cinsler; *Origanum* L., *Thymbra* L., *Coridothymus* Reichb. Fil., *Satureja* L. ve *Thymus* L. ’ dur (Baser, 2001). Ülkemizde kekik adıyla bilinen bitkilerin genellikle *Thymus* türlerine ait bitkiler olduğu kayda geçmiş olmakla birlikte, halk arasında kekik olarak kullanılan bitkilerin daha çok *Origanum* türlerine ait olduğu bilinmektedir. Bu türlerin yanı sıra *Thymbra*, *Satureja* ve *Coridothymus* cinslerine ait türler halk arasında kekik olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Kekik türlerinin yer aldığı Labiateae familyasının tüm cinslerinde ortak özellik, yüksek miktarda uçucu yağ içermeleri ve uçucu yağın ana bileşiminin kekiğe kendine özgü kokusunu veren karvakrol (carvacrol = Car) ve/veya timolün olmasıdır (Baser, 2001; Baydar ve ark., 2004). Bu maddeler kekiğe kendine özgü kokusunu veren ve antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir (Baser, 2001). Bu bileşikler uçucu yağların %78-82’ sini oluşturmaktadır (Botsoglou ve ark., 2003).

Şekil 2.11.’ de görüldüğü gibi Car; açık formülü; 2-metil -5-(1-metil etil) fenol, kapalı formülü; $C_{10}H_{14}O$, molekül ağırlığı; 150,21 gram/mol olan bir bileşiktir.

Sinonimleri; isopropil-o-cresol, peymen-2-ol, 2-hidroksi-peymen, 5-izopropil-2-metilfenol, iso-timol' dür (De Vincezi et al., 2004).



Şekil 2.11. Car' ün açık kimyasal formülü (Yanishlieva et al., 1999).

Car' ün çeşitli aktiviteleriyle çok sayıda AO özellikleri belirlendiği için ve kimyasal yapısında hidroksil (-OH) grupları bulunmasından dolayı AO olarak değerlendirilebilir (Kulisic et al., 2004; Sökmen et al., 2004). Car, ilaçların yapısında bulunarak pek çok hastalıkları tedavi edici olarak kullanılmaktadır.

Soğuk algınlığı, grip, boğaz ve kulak ağrılarında, akciğer infeksiyonlarında, bulaşıcı hastalıklarda, yaralanmalarda ağrıyı azaltıcı ve infeksiyon riskine karşı, artirit, kas ve baş ağrılarında, *E. coli*, hepatit, viral zatürre, menenjit ve Lyme's hastalığında, allerji, bronşit, ishal, diş ve diş eti hastalıklarında, sinüzit, astım, aft ağrılarında, ekzema, sinirlere bağlı ağrılarda, kas burkulması, yorgunluk giderici olarak, prostat, parazitlerde, sırt ağrılarında, sedef hastalığında, döküntülerde, kolit, böcek ısırmasında, gastrit, mantar hastalığında ve et ürünlerinde bakterilere karşı koruyucu olarak da kullanılmaktadır.

2.11.1. Karvakrol' ün kimyasal özellikleri

- Bilinen adları: 2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol
- CAS kayıt no: 499-75-2

- Kapalı formülü: C₁₀H₁₄O
- Molekül ağırlığı: 150,22 g/mol
- Erime sıcaklığı: 0°C
- Kaynama sıcaklığı: 236-237°C
- Yoğunluğu: 0,976 g/cm³
- Suda çözünürlüğü: 1,25 g/l (25°C)
- Fiziksel durumu: Sıvı
- Renk: Açık sarı
- Sıçan oral LD50: 810 mg/kg
- Sıçan i.p. LD50: 73 mg/kg
- Sıçan s.c. LD50: 680 mg/kg
- Sıçan i.v. LD50: 80 mg/kg
- Saflık düzeyi: % 98 (Azırak, 2007).

İpek ve ark., (2005) 'nın yaptıkları çalışmada *Origanum onites*' in yağı ve ana bileşenlerinden olan Car ile yapmış oldukları çalışmada genotoksik ve antigenotoksik etkilerini Ames Salmonella/Microsome testi ile tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre Car' ün önemli bir şekilde antimutajenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Son yapılan bir araştırmada da Car' ün genotoksik maddelere karşı insan sağlığını koruyabileceği bildirilmiştir (İpek ve ark., 2005). Car' ün memeli ventriküler kardiomyositlerinde L-tip kalsiyum kanallarını inaktive ettiği bildirilmiştir (Magyar et al., 2004).

2.11.2. Karvakrol' ün antioksidan etkisi

Organizmada, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) ile antioksidan sistem arasında hemostatik bir denge bulunmaktadır. Oksidan moleküllerin oluşum hızında artma ya da antioksidan savunma sistemi etkinliğinde azalmaya bağlı

olarak, oksidan/antioksidan dengenin bozulması ile oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkmaktadır (Victor et al., 2004; Salvemini and Cuzzocrea, 2002; Sakaguchi and Furusawa, 2006).

Kekiğin AO etkisi genellikle vitamin E ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Farklı düzeylerde kekik uçucu yağı ilavesi, dondurulmuş tavuk ve hindi etlerinde lipit oksidasyonunu önemli düzeyde azaltmıştır (Botsoglou et al., 2003). Car ve timolün AO etkili olduğu rapor edilmiştir (Vardar ve ark., 2003).

Yapılan bir çalışmada Car' ün UVB (ultraviyole B)' nin uyardığı lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve DNA hasarına karşı hücreyi önemli derecede koruduğu gösterilmiştir (Balakrishnan et al., 2010).

2.12. Karaciğer Enzimleri

Aminotransferazlar

Her aminotransferaz bir ya da birkaç amino grubu verici için özgüdür. Aminotransferazlar spesifik amino grubu vericisine göre isimlendirilirler, çünkü amino grubu alıcısı hemen her zaman α -ketoglutarattır. En önemli iki aminotransferaz reaksiyonu alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) tarafından katalizlenir (Champe et al., 2007).

ALT ve AST hayvan dokularında çokca bulunur. İnsan plazması, safra, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve tükürkte normal olarak bulunurken, böbrekte hasar olmadıkça idrarda görülmez. Değişik dokuların transaminaz aktiviteleri birbirinden farklılık gösterir (Dilek, 2003; Burtis and Ashwood, 2005).

Aminotransferazların Etki Mekanizmaları: Tüm aminotransferazlar koenzim olarak bir B₆ vitamini türevi olan pridoksal fosfata gereksinim duyarlar. Bu koenzim, enzimin aktif bölgesindeki spesifik lizin aminoasidin amino grubuna kovalent olarak bağlanır. Aminotransferazlar bir aminoasidin amino grubunu koenziminin pridoksal bölümüne transfer etmek üzere etki gösterirler. Bunun sonucunda pridoksamin fosfat oluşur. Koenzimin pridoksamin formu bir aminoasit oluşturmak üzere bir α -ketoasit ile reaksiyona girer ve koenzim tekrar orijinal aldehid formuna dönüşür.

Aminotransferazlar normal olarak hücre içi enzimleridir ve normal hücre yıkımı sırasında hücre içeriğinin kana geçmesi nedeniyle plazmada düşük düzeyde bulunurlar. Plazma aminotransferaz düzeyinin yükselmesi bu enzimlerce zengin hücrelerin yıkımını gösterir. Örneğin, fiziksel travma veya bir hastalık nedeniyle hücre yıkımı meydana gelir ve hücre içi enzimlerin kana karışmasına neden olur. İki aminotransferaz AST ve ALT plazmada yüksek düzeyde buldukları zaman tanısal öneme sahiptir (Champe et al., 2007).

Aminotransferlerin gerçekleştiği reaksiyonlarda 2-okzaloglutarat/ L-glutamat ikilisi, amino grubu alıcısı ve vericisi olarak kullanılır. Her enzimin özgüllüğü, amino grubu vericisi olarak kullanılan kendi aminoasitinden kaynaklanır. Örneğin; AST enziminin amino grubu vericisi aspartat, ALT enziminin amino grubu vericisi ise alanin aminoasitleridir. Geri dönüşümlü olan AST ve ALT reaksiyonlarında denge sırasıyla aspartat ve alanin oluşumu yönündedir (Burtis and Ashwood, 2005).

2.12.1. Aspartat transaminaz (AST)

AST, SGOT (serum glutamat oxaloasetat transaminaz) olarak da adlandırılır. Katabolizması sırasında, AST amino gruplarını glutamattan okzaloasetata transfer ederek üre döngüsünde bir azot kaynağı olarak kullanılan aspartatı oluşturur (Champe et al., 2007).

Aminoasit kalp, karaciğer, iskelet kası ve böbreklerde bolca bulunur. Bu dokular akut olarak hasara uğradığında, bu hücrelerden enzimin salınması ile serum değerleri yükselir. AST'nin %80' i hücrenin mitokondrisinde %20' si sitozolde bulunur. Serumdaki normal seviyesi 5-12 ünite/100 ml' dir (Dilek, 2003; Burtis and Ashwood, 2005).

Kalp ve iskelet kasında da yoğun bulunduğu için miyokard enfarktüsü, hepatik konjesyonla birlikte bulunan kalp yetmezliği, bazı perikardit ve miyokardit olgularında artışı gözlenir. Kalp kası hastalıkları dışında kas distrofisi, kas travması, intramusküler enjeksiyonlarda da AST artışı olur. Hafif karaciğer hücre harabiyetlerinde, karaciğer hücre sitozolünde yoğun bulunan ALT enziminin kan düzeyi, AST' ye göre daha çok yükselir. Ağır hücre harabiyet ve nekroz durumların da ise, karaciğerin hücresinin hem mitokondri, hem de sitozolünde bulunan AST kan dolaşımına karışacağından, kandaki AST düzeyleri ALT' den daha fazla olacaktır (Henry, 2001).

2.12.2. Alanin transaminaz (ALT)

ALT, SGPT (serum glutamat piruvat transaminaz) olarak da adlandırılır. Alaninin amino grubunun α -ketoglutarata transferini katalizleyerek pirüvat ve glutamat oluşumunu sağlar. Reaksiyon geri dönüşümlüdür. Ancak, amino asit katabolizması sırasında, bu enzim glutamat sentezi yönünde çalışır. Böylece sonuçta glutamat, azot toplayıcısı olarak alaninden hareket etmiş olur (Champe et al., 2007). Serumdaki normal seviyesi 4-13 ünite/100 ml' dir (Dilek, 2003; Burtis and Ashwood, 2005).

Karaciğer hücre harabiyetini gösteren testerden biridir. Artışları viral hepatit, toksik hepatit, Reye Sendromu, tıkanma sarılığı ve siroz gibi karaciğer parankim hastalıklarında; hepatik konjesyonla birlikte olan kalp yetmezliği ya da myokard enfarktüsünde, enfeksiyöz mononükleoz ve kas distrofilerinde gözlenir (Henry, 2001).

2.12.3. Laktat dehidrogenaz (LDH)

Laktat dehidrogenaz (LDH), dokuların çoğunda bulunan sitoplazmik bir enzimdir. En yoğun bulunduğu dokular; karaciğer, kalp kası, iskelet kası ve böbrektir. Pek çok dokuda bulunması nedeniyle tek başına karaciğer hastalıklarının değerlendirilmesinde yararlı değildir (Dilek, 2003). Dolaşımda, LDH 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak adlandırılan 5 izoenzimi bulunur (Henry, 2001).

LDH₁ özellikle kalp kası, LDH₅ ise karaciğer hasarını göstermekte etkindir. Total LDH aktivitesi başta myokard enfarktüsünde, kalp kası hastalıkları, iskelet kası hastalıkları, akut viral hepatitler, tıkanma sarılığı, enfeksiyöz mononükleoz, siroz, kolestaz, karaciğerin primer ya da metastatik tümörlerinde artar. Megaloblastik ve pernisiyöz anemi, hemolitik anemiler, akciğer hastalıkları, şok ve dolaşım yetmezliği, böbrek hastalıkları, akut pankreatit gibi hastalıklarda da artmaktadır (Henry, 2001).

Günlük laktat döngüsü 1300 mmol/24 saat olabilmektedir. Laktat karaciğerde glukoneogeneze girip metabolize edilir, hidrojen iyonları kullanılır, bikarbonat ise asidozu düzeltmede işe yarayabilmektedir. Kritik hastada bu metabolik yol bozulursa veya artan bikarbonatın renal atılımı etkilenirse (kritik hastaların bir kısmı zorunlu asidik idrar üretir) alkaloz ve hipokalemi gelişebilmektedir. Diabetes mellitusta ise şeker kontrolü kötü vakalarda laktatın glukozla dönüşümü ile glukoz düzeyi artacağından ringer laktattan kaçınılması gerekmektedir (Continuing Education in Anaesthesia, 2005).

Plazma laktat konsantrasyonunun normal değeri 0.3-1.3 mmol/L ve laktat üretimi ile laktat metabolizması arasındaki dengeyi ifade etmektedir. İnsanda laktat L-isomeri halinde bulunmaktadır.

Normal Laktat Üretimi: Sitoplazmada glikoliz sonucu ortaya çıkan ara metabolit piruvattır. Aerobik şartlarda piruvat asetil koenzim A'ya (asetil CoA) dönüştürülür ve

Krebs siklusuna girer. Anaerobik şartlarda ise laktat LDH tarafından laktik asite çevrilir. Aköz bir solüsyonda laktik asit hemen hemen tümüyle laktat ve H⁺ iyonuna dissosiyeye olur (pH 7.4' de pKa=3.9). Kısacası laktik asit ve laktat terimleri birbirinin yerini tutabilen niteliktedir. Laktat plazmada NaHCO₃ tarafından tamponlanır (Continuing Education in Anaesthesia, 2005).

Normal Laktat Metabolizması: Karaciğer laktatın %70'ini temizler. Karaciğerin laktatı alması hem bir monokarboksilat taşıyıcısı hem de daha az olarak difüzyonla olur (>2 mmol/L düzeyindeki konsantrasyonlarda önemli). Periportal hepatositlerde laktat glukoneogenez ve daha az olarak da CO₂ ve H₂O'ya oksidasyon şeklinde metabolize edilir. İskelet ve kalp kası miyositleri gibi mitokondriden zengin dokular ve proksimal tubulus hücreleri laktatın kalanını piruvata dönüştürerek uzaklaştırır. Bu işlem için oks-fos taşıyıcı sisteminin sağladığı NAD⁺ gereklidir. Laktatın %5' den azı ise renal yolla atılır (Continuing Education in Anaesthesia, 2005).

2.13. Malondealdehit (MDA)

Lipid peroksidasyonu, lipid-hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanır (Halliwell and Gutteridge, 1999; Halliwell and Chirico, 1993).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu ortaya çıkan lipid peroksidasyonunun son ürünü mutlak bir aldehit olan MDA, lipitler, proteinler ve nükleik asitler ile çapraz bağlanmaya neden olmaktadır (Ray et al., 2000). Lipit peroksidasyonunun ikincil ürünü olan MDA, doku zincir reaksiyonlarının hız belirleyicisidir. Lipit peroksidasyon ürünlerinin DNA hasarına yol açtığı belirlenmiştir. Lipit hidroperoksitler direkt olarak DNA zincir kırılmasına yol açarken, lipid peroksil ve alkoksil radikalleri DNA' da baz oksidasyonuna neden olur. İn vivo olarak peroksit ve hidroperoksitlerin tümör ilerletici etki gösterdikleri ispatlanmıştır. Ayrıca lipid peroksidasyonunun prokarsinojenleri son karsinojene çevirmede indirekt rol alabileceği

gösterilmiştir. Portakal ve ark., yaptıkları çalışmada meme kanserli dokunun MDA düzeylerini, çevre normal dokuya göre yüksek olarak bulmuşlar ve bu yüksekliğinde nekroz varlığında yetersiz kanlanma sonucunda ortaya çıktığını düşünmüşlerdir (Portakal ve ark., 2000).

MDA, non-enzimatik oksidatif lipid peroksitlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerden birisidir. İki'den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin otooksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksitler MDA'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır (Yagi, 1987; Slater, 1984).

MDA miktarının ölçümü, lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra, peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de in vivo lipid peroksitlerinin düzeyini yansıtmaktadır (Halliwell and Gutteridge, 1999; Halliwell and Chirico, 1993).

Oksidatif strese oluşan lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi olan MDA düzeylerindeki artış hücre hasarının olduğunu göstermektedir (Pascual et al., 1998). MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Mercan, 2004).

Lipid peroksidler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA veya proteinlerle reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler. Üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu MDA oluşmaktadır. Bu da tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun şiddetiyle orantılı olarak artar, ancak spesifik değildir.

Aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir (Young and Woodside, 2001; Niki et al., 2005; Masella et al., 2005).

Oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve hücre hasarının bir göstergesi olarak doku örneklerindeki MDA düzeyleri, lipid peroksidasyon ürünü olan MDA' nın tiyobarbitürük asitle reaksiyonu sonucu oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi temeline dayanan yöntem ile ölçülmüştür (Ohkawa et all., 1979).

2.14. Kreatin kinaz(CK) ve Kreatin kinaz-MB (CK-MB)

Kreatin kinaz (CK), yüksek enerjili fosfatların ATP' den kreatine transferini sağlayan bir enzimdir. Kas hücrelerinde mitokondri ve sitozol içinde yer alır. M ve B zincirlerinden oluşan 3 farklı izoenzim şeklinde bulunur. CK-MM; tüm dokularda bulunan dominant formdur. CK-BB; beyin, böbrek ve gastrointestinal sistemde bulunur. CK-MB; kalp, iskelet kası ve az miktarda ince bağırsak, diyafram, uterus, dil ve prostatta bulunur (Jaffe and Davidenko, 2003).

Miyokarda yer alan total CK' in %20'si MB formundadır. Bu da miyokard infarktüsü (MI) tanısında hassaslık ve özgüllüğe sebep olur. İskelet kasında ise %5 oranında bulunur. Bu nedenle travma ve inflamasyonlarda seviyesinin yükselmesi özgüllüğünü azaltmaktadır. CK-MB' nin bir diğer kısıtlılığı da yüksek moleküler ağırlığı nedeniyle minor miyokard hasarını gösterememesidir.

Serum CK ve CK-MB' nin plazma aktivitesi akut MI başlangıcından 4-8 saat sonra normal sınırlarını aşar. 20-24 saatte pik yapar ve 48-72 saat içerisinde normal düzeylerine ulaşır. Ancak serum enzim tayini ile kesin MI tanısı için semptomların başlamasından itibaren 6-12 saat geçmesi gerekir. Total CK ve CK-MB düzeyleri enfarktüs büyüklüğü ile koreledir ve prognozun önemli bir belirtecidir (Jaffe et al., 2003).

CK-MB seruma geçtikten sonra, MB₁ ve MB₂ olarak ikiye ayrılır. Plazmada normalde CK alt tipleri dengededir. MI meydana geldiğinde MB₂ düşük oranda seruma geçer ve daha CK ve CK-MB seviyeleri normal iken MB₂ / MB₁ oranında bariz bir değişiklik olur. MB₂ / MB₁ oranının ≥ 1.5 olması MI lehine yorumlanır. CK-MB alt grup analizi AMI' ın ilk 6 saatteki tanısında %91 hassasiyet ve özgüllük sunmuştur. İlk 6 saatteki negatif prediktif değeri ise %97'dir. Aynı dönemde miyoglobinin negatif prediktif değeri % 95'dir.

CK-MB limitasyonları;

- 1- CK-MB artış ve azalışında atipik bir süreç varsa ve özellikle uzun süreli ise iskelet kası hasarı düşünülmelidir.
- 2- Eğer total CK aktivitesinin %5'den azını CK-MB oluşturuyorsa iskelet kası kaynağı araştırılmalıdır.
- 3- Total CK' nın 20-30 kat gibi yüksek oranlarda artışı sebebin iskelet kası kaynaklı olabileceğini düşündürmelidir. Ancak CK-MB/CK oranı $> \%2.5$ ise kardiyak kökenli olma ihtimali yüksektir.
- 4- Hipotiroidizmde azalmış klerens yüksek seviyelere neden olur.
- 5- Makro CK-1 (CK + makroglobulin kompleksi) elektroforezde CK-MB yerine göç eder ve yalancı pozitif sonuca yol açar. Yaşlı hastalarda insidans %1.6' dır.
- 6- Kardiyoversiyon (DC/CV) plazma total CK aktivitesini artırır ancak tekrarlanmadığı sürece CK-MB düzeyini artırmaz (Jaffe et al., 2003).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Gereçler

Çalışmamızda 3-4 aylık, erkek, 220±20 gram ağırlığında, sağlıklı, Sprague-Dawley cinsi, albino sıçanlar kullanıldı. Bütün deney hayvanları Halk Sağlığı Merkezi'nden temin edilerek Eskişehir Osmangazi Üniversitesi (ESOGÜ) Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Laboratuvarı'nda normal musluk suyu ve pellet yemle standart bir çevre yaşamında beslendi.

Bu çalışma ESOĞÜ Deney Hayvanları Etik Kurulu' nun 16.02.2011 tarihli ve 213/2011 nolu kararı ile kabul edilmiştir. Karar örneği ektedir.

3.2.Yöntemlerin Uygulanması

3.2.1. Deney hayvanlarının hazırlanması

Bütün deney hayvanları enjeksiyondan önce bir haftalık karantinaya alındı ve deney süresince 12:12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırması olan, ısı (22 °C) ve nemi (%45-50) otomatik olarak ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Sıçanlar Tablo 3.2.2.1' de gösterildiği gibi her grupta 7 hayvan olacak şekilde kontrol dahil 13 ayrı gruba ayrıldı ve her kafeste 4 hayvan olacak şekilde yerleştirildi. Hayvanlar ilk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptandı.

Deney bittiğinde, tüm sıçanların etik kurallarına uygun olarak, ketamin/ksilazin anestezisi altında toraksı açılıp yüreğe enjektörle girilerek kalp kanı yapılacak işleme göre, normal ve EDTA' lı tüplere alındı.

3.2.2. Siklofosfamid ve Karvakrol uygulaması

Deneyde 1, 2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12. gruplara tek doz intraperitoneal (i.p) olarak uygulanan Siklofosfamid (CP) Sigma' dan (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) temin edildi (Cyclophosphamide Monohydrate Katalog no: C0768). CP dozları önceki çalışmalara göre (50, 70, 100, 120, 150 ve 200 mg/kg) düzenlendi (Lerza et al., 1998; Uchida et al., 1994; Slattery et al., 1995; Ayhanci ve ark., 2008). Deneylerimizde CP' nin üç farklı dozu (50, 100, 150 mg/kg) uygulandı.

Deneysel çalışmamızda 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12. gruplara i.p olarak iki farklı dozu (5 ve 10 mg/kg) uygulanan %98 saflıktaki Car Sigma' dan (Sigma-Aldrich, Germany) (Carvacrol Katalog no: 282197) temin edildi.

CP' nin 500 mg' ı 25 ml bidistile suda çözülerek 25 ml/500 mg CP içeren çözelti hazırlandı. Car' ün ise 5 ve 10 mg/kg' ı 0.5 mL zeytinyağı ile birlikte enjeksiyona hazır hale getirildi. Bu kimyasal maddeler ve kontrol gruplarına uygulanan gerekli dozlardaki serum fizyolojik intraperitoneal (i.p) olarak verildi.

İlk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce deney hayvanları tartılarak ağırlıkları saptandı. Sadece CP verilen ilk üç gruptaki hayvanlar CP enjeksiyonundan 3 gün sonra anestezi uygulandı. Car ile birlikte CP verilen gruplarda, Car uygulamasına CP uygulamasından üç gün önce başlandı ve deney sonuna kadar devam edildi.

Dördüncü günde hayvanlar tekrar tartılarak uygulanacak CP dozu belirlendi ve böylece dördüncü gün CP+Car verildi. Yedinci gün hayvanlar anestezi altında 7 kan örnekleri ve kalp dokuları alındı (Mythili et al., 2006). Car' ün CP ile birlikte 5 ve 10 mg/kg' lık dozlarından başka, 5 ve 10 mg/kg' lık dozları da tek başına kullanıldı (Tablo 3.2.2.1).

Tablo 3.1. Uygulanan Siklofosfamid ve Karvakrol'ün gruplara göre dağılımı.

Gruplar Dozlar	50 mg/kg CP	100 mg/kg CP	150 mg/kg CP	0.5 mL zeytinyağı	5 mg/kg Car	10mg/kg Car
Kontrol (n=7)						
1. grup	+					
2. grup		+				
3. grup			+			
4. grup				+		
5. grup					+	
6. grup						+
7. grup	+				+	
8. grup		+			+	
9. grup			+		+	
10. grup	+					+
11. grup		+				+
12. grup			+			+

Tablo 3.2. Siklofosfamid ve Karvakrol' ün gruplara uygulanma şekli.

Gün/Verilen Madde	1	2	3	4	5	6	7
CP				+			Kesim
Car	+	+	+	+	+	+	Kesim
CP+Car	Car	Car	Car	CP + Car	Car	Car	Kesim
Kontrol	SF	SF	SF	SF	SF	SF	Kesim

3.3.Kalpten Kan Alımı ve Serum Örneklerinin Hazırlanması

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Ketamin/ksilazin (50/10 mg/kg) ile anestezi uygulanmış hayvanların biyokimyasal analizleri için antikoagülsüz jelli biyokimya tüplerine ve plazma elde etmek için EDTA'lı kan tüplerine intrakardiyak kan alımı yapılmıştır. Alınan kanlar Eppendorf Centrifuge 5804 R marka ve model cihaz ile 10 dakika 3000 rpm' de santrifüjlenerek plazma ve serumlar elde edilmiştir. Polietilen tüplere aktarılan serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C derin dondurucuda korunmuştur (Furuta et al., 2000). Kalp dokusu hücrelerinin

olası fonksiyon bozukluğunu tespit etmek amacıyla biyokimyasal olarak serum örneklerinde alanintransaminaz (ALT), aspartattransaminaz (AST) ve laktatdehidrogenaz (LDH), kreatin kinaz MB (CK-MB) enzimleri ile total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve glutatyon (GSH) seviyeleri ve plazmada malondialdehit (MDA) belirlenmiştir. ALT, AST ve LDH ölçümleri HITACHI-917 oto analizörü ile (Human Gesellschaftfür Biochemicaund DiagnosticambH, Wiesbaden Germany) marka ticari kitler kullanılarak yapılmıştır.

3.4. Serum Kreatinkinaz-MB (CK-MB) Düzeyinin Belirlenmesi

Kan örnekleri sıçanların kalplerinden antikoagulan içermeyen bir tüpe 2ml kan ve heparinli bir tüpe 4ml kan olacak şekilde alındı. Antikoagulan içermeyen tüpe alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve serum örnekleri -70°C'de saklandı. Serum örneklerinde CK-MB düzeyleri çalışıldı. Heparinli tüpe alınan kan örnekleri 0°C'de 15 dk santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve plazma örnekleri çalışılmak üzere -70°C'de saklandı. Serum CKMB düzeyi, Konelab 60İ otoanalizör ile Medkim firmasının CKMB düzeyleri ölçümü için ürettiği reagent kitler kullanılarak 0.5 ml serumda çalışıldı. Sonuçlar *U/L* cinsinden verildi (Wu and Bowers 1982).

3.5. Plazma Malondialdehid (MDA) Düzeyinin Belirlenmesi

Ratlardan elde edilen plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılana kadar – 80 C⁰ de saklandı.

Plazma örneklerinde malondialdehit miktarı Yagi (1984) tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak tayin edildi. Lipid peroksidasyon ürünü (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü. Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona

girerek aynı rengi veren suda çözünür maddeleri uzaklaştırmak için serum lipidleri proteinle birlikte fosfotungistik asit/sülfirik asit sistemiyle çöktürüldü.

Deneyin yapılışı :

1. Bir deney tüpüne 150 µL plazma, 1,2 mL H₂SO₄ ve 150 mL fosfotungistik asit eklendi, iyice karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletildi.
2. Karışım 1500 g' de 10 dk. santrifüj edildi ve üst faz atıldı.
3. Geriye kalan çökelek üzerine 2 mL saf su eklendi ve yeniden çözününcüye kadar vortekslendi.
4. Tüpe 500 µL TBA eklendi ve 1 saat 100 °C' de inkübe edildi.
5. İnkübasyonun ardından tüpler 1000 g' de 10 dk. santrifüjlendi.
6. Üstteki berrak kısım alınarak 532 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

1 mmol 1,1,3,3-tetrametoksipropan 100 mL 0.01 M HCl içinde 50 °C' de 1 saat inkübe edildi ve bu bileşiğin hidrolizi sonucu oluşan MDA çözeltisinden 10, 5, 3, 2, 1 - 0,5 nmol/mL çalışma standartları hazırlandı. Elde edilen sonuçlarla standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanarak plazma MDA miktarı nmol MDA/mL olarak belirlendi. Sonuçlar g protein başına nmol cinsinden ifade edildi.

3.6. Serum Glutasyon (GSH) Düzeyinin Ölçülmesi

Örnek GSH miktarı Sedlak ve Lindsay metodu kullanılarak 412 nm'de ölçümü yapıldı. Örnekler %50 TCA (triklorasetik asit) ile çöktürüldü ve 5 dakika 1000xg' de santrifüj edildi. Çöktürülen örneğin üst fazından 0,5 ml alınarak 2 ml Tris-EDTA tamponu (0,2 M, pH=8,9) ve 0,1 ml 0,01 M 5,5'-ditiyo-bis-2-nitrobenzoik asit ilave edildi. Bu karışım oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve spektrofotometrede 412 nm'de absorbansları

ölçülerek alındı (Sedlak ve Lindsay, 1968). Deneysel çalışmada UV-1700 Shimadzu marka spektrofotometre kullanıldı. Sonuçlar mg protein başına mg cinsinden verildi.

3.7. Total Oksidan Seviyenin (TOS) Ölçümü

Total Oksidan Seviye (TOS) seviyeleri üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari kolorimetrik-assay kit (RelAssay, Ref. RL27, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Örneklerin absorbsansları 530 nm dalga boyunda VERSA maxtunablemicroplatereader (Designed by molecular Divices in California, USA) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar $\mu\text{molH}_2\text{O}_2\text{equivalent/L}$ cinsinden verildi (Erel, 2005).

3.8. Total Antioksidan Kapasitenin (TAS) Ölçümü

Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari kolorimetrikassay kit (RelAssay, Ref. RL27, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Örneklerin absorbsansları 530 nm dalga boyunda VERSA maxtunable microplatereader (Designed by molecular Divices in California, USA) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar $\text{milimolTroloxequivalent/L}$ cinsinden verildi (Erel, 2004).

3.9.Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Ölçümü

TOS/TAS oranı alınarak Oksidatif Stres İndeksi (OSI) değeri hesaplandı. Hesaplama sırasında, TAS değerlerinin birimi, $\text{mmol Troloxequivalent/L}$ cinsinden $\mu\text{mol Troloxequivalent/L}$ cinsine dönüştürüldü. OSI, $\text{OSI} = [(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equivalent/L}) / (\text{TAS}, \mu\text{molTroloxequivalent/L}) \times 100]$ formülü kullanılarak hesaplandı (Aycicek ve ark., 2005).

3.10. Histolojik İncelemeler

Çıkarılan kalpler dilimlere ayrılarak %10 formaldehit çözeltisi solüsyonu ile fikse edildi. Alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen dokular ksilol ve ardından sıvı parafinlerden geçirilerek parafin bloklar oluşturuldu. Bu bloklardan 5µm kalınlığında seri kesitler alınarak hematoksilin eozin ile boyandı. Binoküler mikroskop altında histopatolojik olarak değerlendirildi. Değerlendirmede hücrelerin boyanma özellikleri, iltihabi hücre varlığı, kanama ve hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerindeki değişiklikler dikkate alındı.

3.11. İstatistiksel Değerlendirmeler

Tüm veri analizleri SPSS 20.0 ve SigmaStat 3.5 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ve standart sapma olarak, Nitel veriler ise n, ortanca değer, 25. ve 75. yüzdelerik değerler olarak ifade edilmiştir. Bağımsız ölçümlerden oluşan ve normal dağılım gösteren sürekli verilere, One Way Anova (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey Method ve Student Newman Keuls Method yararlanılmıştır) ile analiz edilmiş olup normal dağılım göstermeyen skor değişkenlerinden oluşan verilerin grup sayılarına göre ise Kruskal-Wallis (bu testin çoklu karşılaştırmalarında Tukey Method ve Student Newman Keuls Method yararlanılmıştır) testi ile analiz edilmiştir.

Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $p < 0,05$ olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve serum fizyolojik verilen kontrol gruplarının CK-MB ortalama değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırması Tablo 4.1' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen deney grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 150 mg CP verilen en yüksek toksisitenin görüldüğü grup olmak üzere kontrol grubuna göre oldukça anlamlı bir artış saptanmıştır ($p < 0,001$).

0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları kontrolle kıyaslandığında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

5 ve 10 mg/kg Car ile beraber CP verilen deney grupları kontrolle karşılaştırıldığında 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarında anlamlı bir artış görülmezken ($p > 0,05$), diğer CP+Car gruplarında oldukça anlamlı bir artış göstererek koruyucu olduğu görülmüştür ($p < 0,001$).

Tablo 4.1. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının CK-MB değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

CKMB	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	FY	FY	FY	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	FY	FY	FY	P<0,001	P<0,001	FY	FY	P<0,01
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,05	P<0,001
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,01	P<0,001	FY	FY
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve kontrol gruplarının MDA ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.2' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarının MDA düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 150 mg/kg CP grubu daha fazla olmak üzere istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir artış görülmektedir ($p<0,001$).

0,5 mL zeytinyağı MDA düzeyi kontrole göre biraz artma göstermiş, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının MDA düzeyi kontrolle kıyaslandığında azalma görülmüş olmakla birlikte bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

5 ve 10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları MDA değerleri bakımından kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 100+10 mg/kg CP+Car grubu hariç ($p>0,05$) diğer tüm CP+Car grupları kontrollerine göre oldukça anlamlı fark görülmektedir ($p<0,001$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının MDA değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

MDA	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 Car mg/kg	VI. GRUP 10 Car mg/kg	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	FY	FY	P<0,001	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	FY	P<0,001	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,01
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	FY	FY	P<0,01	FY	FY	P<0,05	FY	P<0,05	FY	FY
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,01	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,05
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,01
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	P<0,001
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	P<0,001
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	P<0,001
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$. Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$. İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve kontrol gruplarının GSH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.3' de gösterilmiştir

50, 100 ve 150 mg/kg CP uygulanan deney grupları GSH düzeyi açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre oldukça anlamlı bir azalma olduğu görülmektedir ($p < 0,001$).

0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının GSH düzeyi kontrol grubu ile kıyaslandığında 0,5 mL zeytinyağı grubundaki artış istatistiksel açıdan anlamlı görülmemektedir ($p > 0,05$), 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının GSH düzeyi kontrole göre oldukça anlamlı bir artış göstermiştir ($p < 0,001$).

5 ve 10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları GSH düzeyi bakımından kontrolleri ile kıyaslandığında 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car grupları kontrole benzer değerlerdeyken ($p > 0,05$), diğer gruplardaki değişiklik istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

Tablo 4.3. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının GSH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

GSH	I. GRUP 50 CP mg/kg	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Z.yağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,05	FY	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,05	FY	P<0,001
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	FY	FY	P<0,001
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	FY
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,05	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$. Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$. İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve kontrol gruplarının ALT ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.4' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarının serum ALT düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 50 mg/kg CP grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), 100 ve 150 mg/kg gruplarında istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir artış görülmektedir ($p<0,001$). 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının ALT düzeyi kontrol grubu ile kıyaslandığında görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

CP+Car verilen deney grupları kontrolleriyle karşılaştırıldığında 100+5 ve 150+10 mg/kg Car gruplarındaki artışlar anlamlı bulunurken ($p<0,001$) diğer gruplardaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının ALT değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

ALT	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Z.yağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,05	P<0,001	P<0,001	FY	FY	FY	FY	FY	P<0,01	FY	P<0,05	P<0,01
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,05	P<0,001	FY	P<0,05	FY	P<0,05	FY	FY	FY	FY	FY
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,01	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01	FY	P<0,001	P<0,05	P<0,05
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	P<0,05	FY	FY	P<0,05
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	P<0,01	FY	FY	P<0,01
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	FY	P<0,01	FY	FY	P<0,01
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,01	FY	P<0,05	P<0,01
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,05	FY	FY
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,05
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve kontrol gruplarının AST ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.5’de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP grupları AST düzeyi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; CP gruplarıdaki AST artışı istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının AST düzeyi kontrolle kıyaslandığında görülen azalışlar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

CP+Car verilen deney grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 50+5 ve 50+10 mg/kg grupları kontrole benzer bulunurken ($p>0,05$), 150+5 CP+Car grubunda oldukça anlamlı bir artış ($p<0,001$), diğer gruplardaki artış ise anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

Tablo 4.5. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının AST değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

AST	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	FY	FY	FY	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,01	P<0,01
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01	P<0,05	P<0,001	P<0,01	P<0,01
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,01	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	FY	FY	FY	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,01	P<0,01
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	FY	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,01	P<0,01
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,01	P<0,01
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,01	P<0,001	FY	P<0,01	P<0,01
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,01	FY	FY
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	FY	FY
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,01	P<0,01
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve kontrol gruplarının LDH ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.6' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen deney gruplarının LDH düzeyi kontrol grubu ile istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında; 150 mg/kg CP grubunun oldukça anlamlı bir artış göstermesi ($p < 0,001$) dışındaki artış ve azalışlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul görülmemiştir ($p > 0,05$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının LDH değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

LDH	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	FY	FY	P<0,001	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	FY	P<0,001	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,01	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ. Yağı	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	FY	FY
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY	FY
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY	FY
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY	FY
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY	FY
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY	FY
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	FY

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve bunların kontrol gruplarının TOS değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.7.' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarının TOS düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 100 ve 150 mg/kg CP gruplarında istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir artış görülürken ($p<0,001$), 50 mg/kg CP grubundaki artış anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TOS düzeyi kontrolle kıyaslandığında 0,5 mL zeytinyağı grubunda görülen azalış anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), 5 ve 10 mg/kg Car verilen deney gruplarındaki azalış istatistiksel açıdan oldukça anlamlı görülmüştür ($p<0,001$). CP+Car verilen deney grupları kontrol grubu ile kıyaslandığında 50+5 mg/kg CP+Car grubunda görülen düşüş anlamsız ($p>0,05$), 150+5 CP+Car grubundaki artış ve diğer gruplardaki azalış istatistiksel açıdan oldukça anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,001$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TOS değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

TOS	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01	P<0,001	P<0,001	P<0,01	FY
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	P<0,05	P<0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,05	P<0,001	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	FY	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,01
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve bunların kontrol gruplarının TAS değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.8.' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarının TAS düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 100 ve 150 mg/kg CP gruplarındaki azalış oldukça anlamlı kabul edilirken ($p < 0,001$), 50 mg/kg CP grubundaki azalış anlamsız görülmüştür ($p > 0,05$). 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TAS düzeyi kontrolle kıyaslandığında istatistiksel açıdan fark görülmemiştir ($p > 0,05$).

TAS düzeyi açısından 5 CP+Car verilen deney grupları kontrol ile kıyaslandığında 50+5, 100+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmezken ($p > 0,05$), 150+5, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney gruplarındaki azalışlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir ($p < 0,01$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının TAS değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

TAS	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,01
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney grupları ve buların kontrol gruplarının OSİ değerlerinin istatistiksel karşılaştırması Tablo 4.9.' de gösterilmiştir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarının OSİ düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 100 ve 150 mg/kg CP gruplarında istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir artış görülürken ($p<0,001$), 50 mg/kg CP grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$). 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının OSİ düzeyi kontrolle kıyaslandığında görülen artış ve azalışlar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). CP+Car verilen deney grupları OSİ düzeyleri bakımından kontrolleri ile kıyaslandığında 150+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarındaki artış istatistiksel olarak oldukça anlamlı kabul edilirken ($p<0,001$), diğer gruplarda anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car uygulanan deney gruplarının OSİ değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

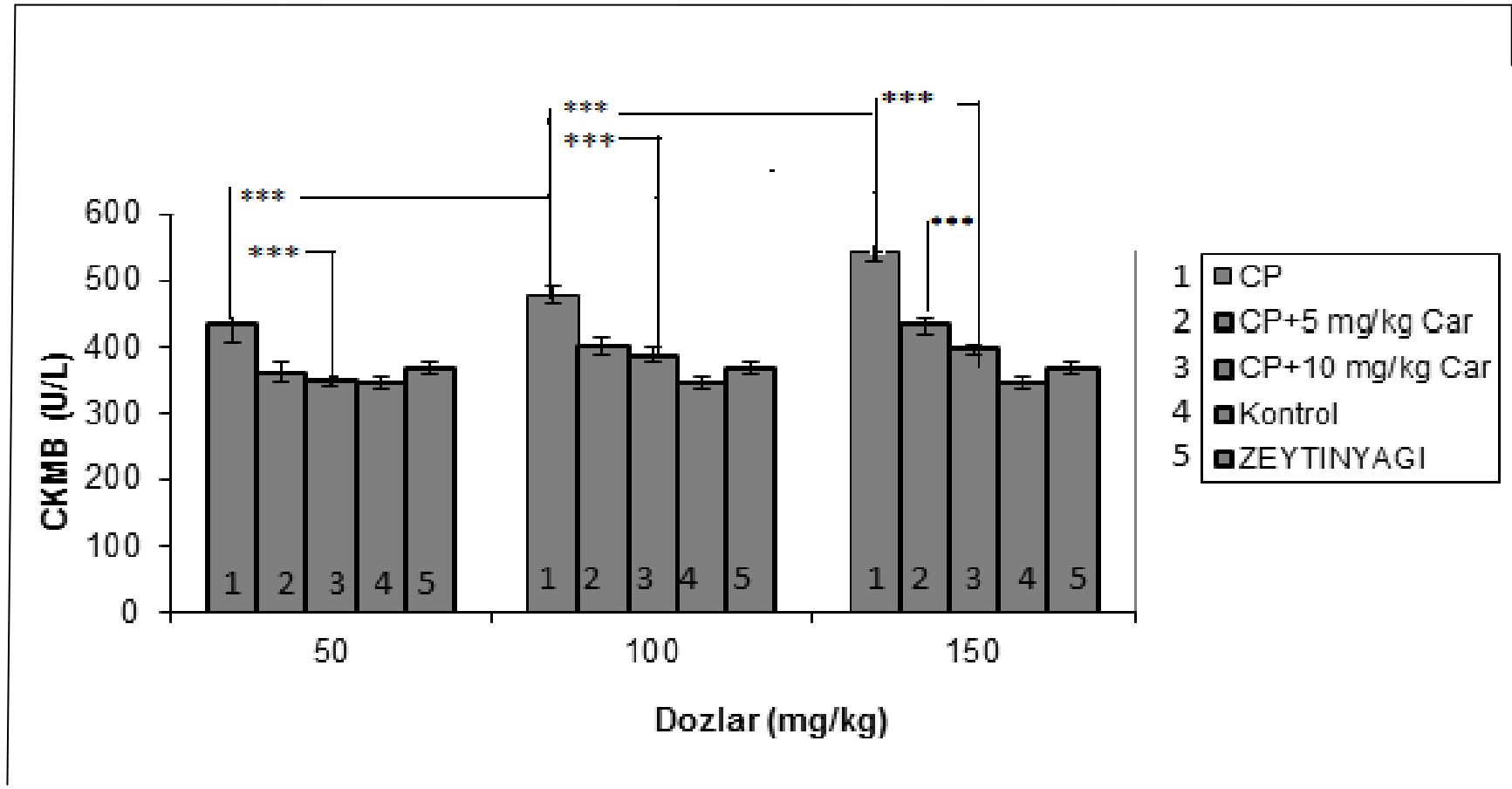
Osî	I. GRUP 50 mg/kg CP	II. GRUP 100 mg/kg CP	III. GRUP 150 mg/kg CP	IV. GRUP 0.5 mL Zyağı	V. GRUP 5 mg/kg Car	VI. GRUP 10 mg/kg Car	VII. GRUP 50+5 CP+Car	VIII. GRUP 100+5 CP+Car	IX. GRUP 150+5 CP+Car	X. GRUP 50+10 CP+Car	XI. GRUP 100+10 CP+Car	XII. GRUP 150+10 CP+Car
Kontrol	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001
I. GRUP 50 mg/kg CP	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
II. GRUP 100 mg/kg CP	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
III. GRUP 150 mg/kg CP	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,001
IV. GRUP 0.5mLZ.Yağı	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY	P<0,001
V. GRUP 5 mg/kg Car	-	-	-	-	-	FY	P<0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,05	P<0,001	P<0,001
VI. GRUP 10 mg/kg Car	-	-	-	-	-	-	P<0,05	P<0,001	P<0,001	P<0,05	P<0,001	P<0,001
VII. GRUP 50+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	P<0,05	P<0,001
VIII. GRUP 100+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001	FY
IX. GRUP 150+5 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001	P<0,001
X. GRUP 50+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001	P<0,001
XI. GRUP 100+10 mg/kg CP+Car	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P<0,001

* : $p < 0,05$, Fark var** : $p < 0,01$, Önemli fark varns (not significant) : $p > 0,05$, Fark yok*** : $p < 0,001$, İleri derecede önemli fark var

50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen tüm deney gruplarının ve serum fizyolojik (SF) verilen kontrol grubunun CK-MB, MDA, GSH, ALT, AST, LDH, TOS, TAS ve OSİ ortalama +/- SD değerlerine ait bar grafikleri verilmiştir.

Şekil 4.1.' de de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP verilen deney grubu ile 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları serum CK-MB değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan oldukça anlamlı derecede bir artış bulunmuştur ($p<0,001$).

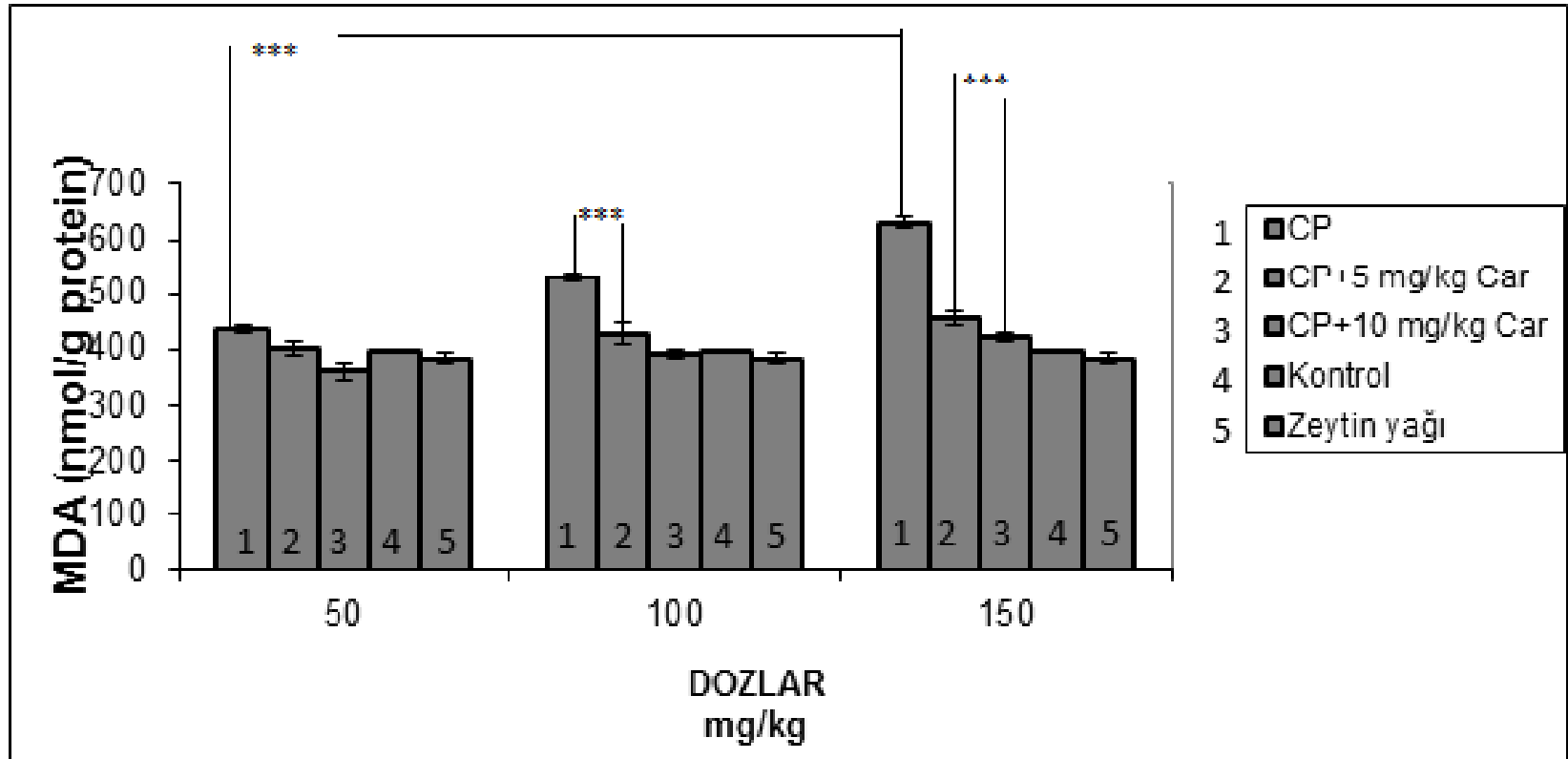
50, 100, 150 mg/kg CP grupları kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırıldığında serum CK-MB seviyesinin doza bağlı olarak oldukça anlamlı artırdığı görülmektedir ($p<0,001$). 50 mg/kg CP ile birlikte verilen Car' ün 5 ve 10 mg/kg'lık dozlarının CK-MB seviyesini kontrol düzeyine yaklaştırdığı görülmektedir ($p>0,05$). 100 mg/kg CP verilen deney grubu ile 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları karşılaştırıldığında; 100 CP ile verilen 5 ve 10 mg/kg CP+Car grupları serum CK-MB değerlerini sadece CP alan gruba göre önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). 0.5 ml zeytinyağı, 5 ve 10 mg/kg Car verilen deney grupları uygulanan deney grupları ve SF verilen kontrol gruplarının CK-MB ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırmasına baktığımızda istatistiksel açıdan anlamlı görülmemiştir ($p>0,05$). 150 mg/kg CP verilen deney grubu ile 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları karşılaştırıldığında Car'ün 10 mg/kg car dozu daha fazla olmak üzere 5 ve 10 mg/kg Car'ün bu dozlardaki CP toksisitesini önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır ($p<0,001$).



Şekil 4.1. 50-100-150 mg/kg CP verilen deney grupları, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car verilen gruplar ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının CK-MB seviyeleri.

Şekil 4.2.' de görüldüğü 50, 100, 150 mg/kg CP grupları MDA düzeyi bakımından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artan CP dozu artışına paralel olarak artış gösterdiği görülmektedir.

50 mg/kg CP, 0,5 mL zeytinyağı, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları MDA değerleri bakımından kontrol grubu karşılaştırıldıklarında deney gruplarının tümü MDA bakımından oldukça anlamlı bir fark göstermiştir ($p<0.001$). 50 CP ile birlikte verilen Car'ün 5 ve 10 mg/kg'lık dozları karşılaştırıldığında 10 mg/kg'lık CP+Car dozu daha fazla olmak üzere MDA seviyesini düşürerek kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. 100 mg/kg CP verilen deney grubu ile 100+5 ile 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları MDA değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan oldukça anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.001$). Bu deney gruplarının hepsinde kontrol grubuna göre MDA değeri bakımından oldukça anlamlı bir fark saptanmıştır ($p<0.001$). 150 mg/kg CP verilen deney grubu 150+5 ile 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları MDA değerleri bakımından karşılaştırdığında MDA seviyesini kontrol düzeyine düşürerek koruma yaptığı görülmektedir.

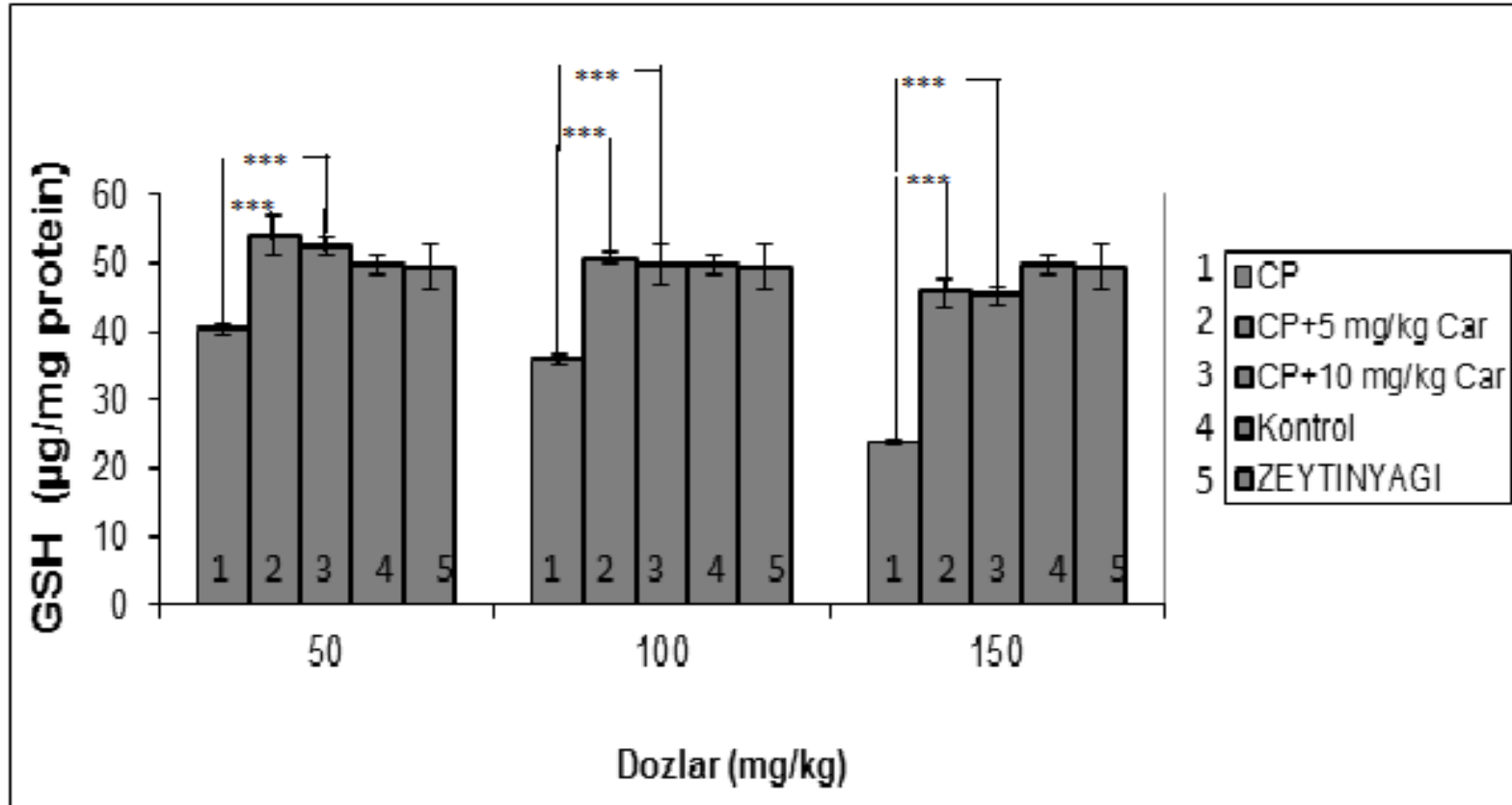


Şekil 4.2. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney gruplarının MDA seviyeleri.

Şekil 4.3.' de de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları GSH değerleri bakımından kontrolleri ile karşılaştırıldıklarında her üç grupta da GSH değerleri bakımından oldukça anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.001$). Sadece 50 CP verilen grupta GSH değeri kontrole göre %20 oranında azalırken 50+5 ve 50+10 gruplarında GSH değeri kontrole göre biraz artmıştır. 50+5 ve 50+10 mg/kg CP gruplarında GSH değerleri sadece 50 mg/kg CP alan gruplara göre oldukça anlamlı bir artış ($p<0.001$) gösterirken 50+5 CP+Car ile 50+10 mg/kg CP+Car arasında görülen fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

100, 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları GSH değerleri bakımından kontrolleri ile karşılaştırıldıklarında sadece 100 CP verilen deney grubunda GSH düzeyi bakımından kontrole oldukça anlamlı bir fark gösterirken ($p<0.001$) 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car grupları hem kendi aralarında hem de kontrolleriyle anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları GSH değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 150 CP verilen deney grubunda GSH değerleri kontrole göre %52 oranında azalırken ($p<0.001$) 150+5 (%8) ve 150+10 (%10) mg/kg CP+Car gruplarındaki azalmalar daha düşük düzeyde saptanmıştır ($p<0.01$). 5 ve 10 mg/kg Car'ün bu dozdaki CP toksisitesini azaltmada benzer etki göstermişlerdir ($p>0.05$).

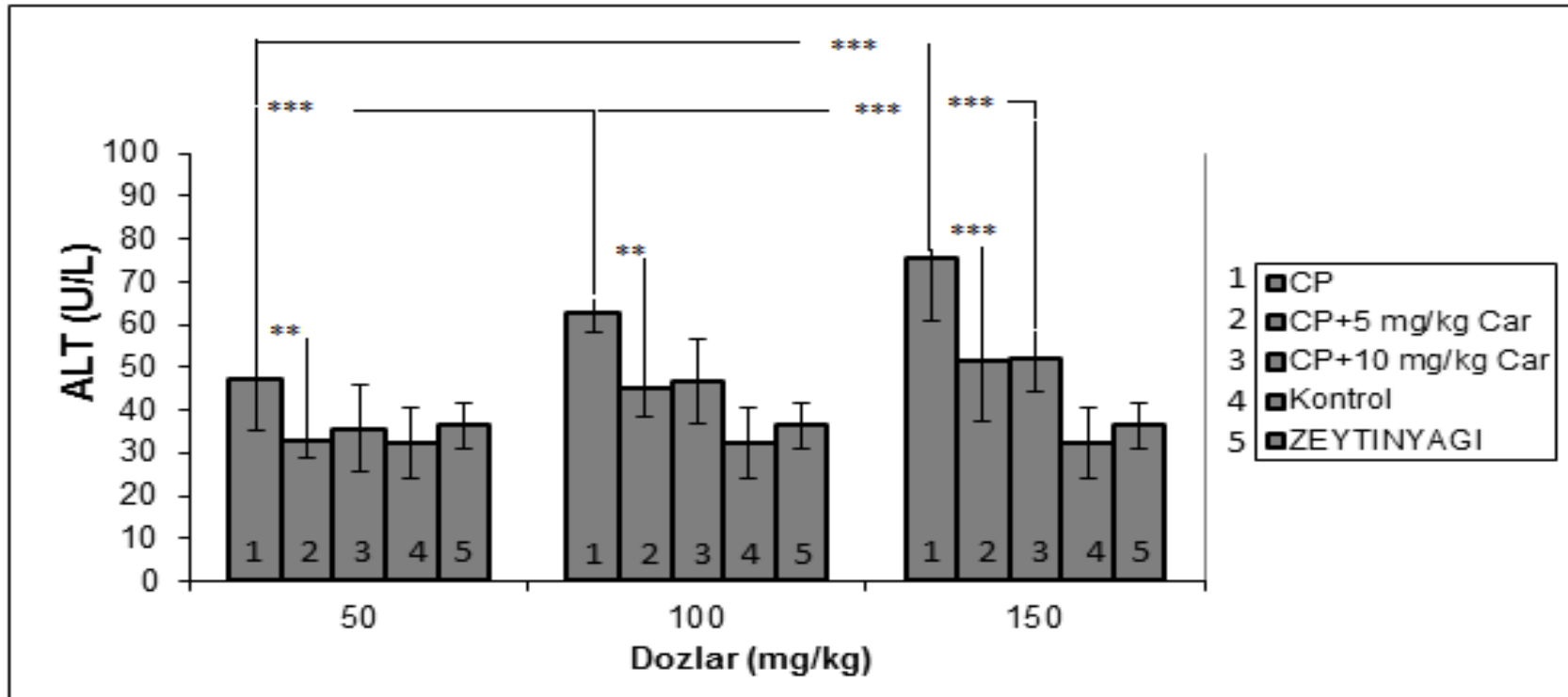


Şekil 4.3. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen gruplarının GSH seviyeleri

Şekil 4.4' de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları ALT değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). Sadece 50 mg/kg CP verilen deney grubunda serum ALT düzeyindeki artış (%32) hem kontrole göre hem de 50+5 ve 50+10 CP+Car gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). 50+5 ve 50+10 CP+Car gruplarında da ALT düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p<0.01$).

100 mg/kg CP, 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney gruplarında ALT düzeyleri hem kontrolleriyle hem de kendi aralarında kıyaslandığında sadece 100 mg/kg CP verilen deney grubundaki artış oldukça önemli bulunurken ($p<0.001$) diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları ALT değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 150 mg/kg CP grubundaki fark oldukça anlamlı ($p<0.001$) bulunurken 150+5 ve 150+10 gruplarındaki farklar önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Sadece 150 mg/kg CP grubunda ALT düzeyindeki artış 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarından oldukça yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Buna karşılık 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarında ALT düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

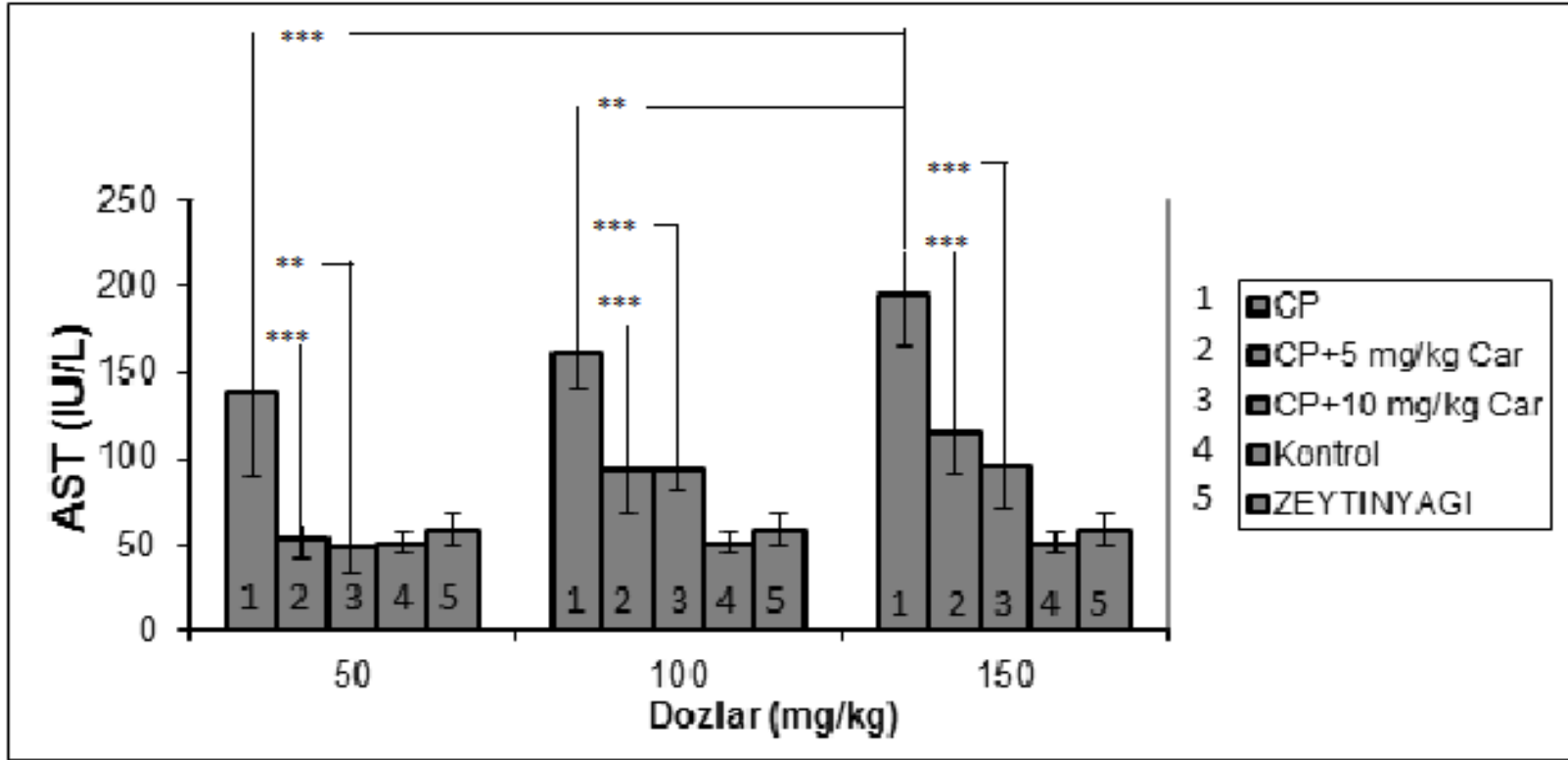


Şekil 4.4. 50-100-150 mg/kg, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının ALT seviyeleri.

Şekil 4.5.' te de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları AST değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 50 mg/kg CP verilen deney grubunda hem kontrole hem de 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarından oldukça anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.001$). 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car grupları arasında serum AST düzeyleri bakımından fark bulunmamıştır.

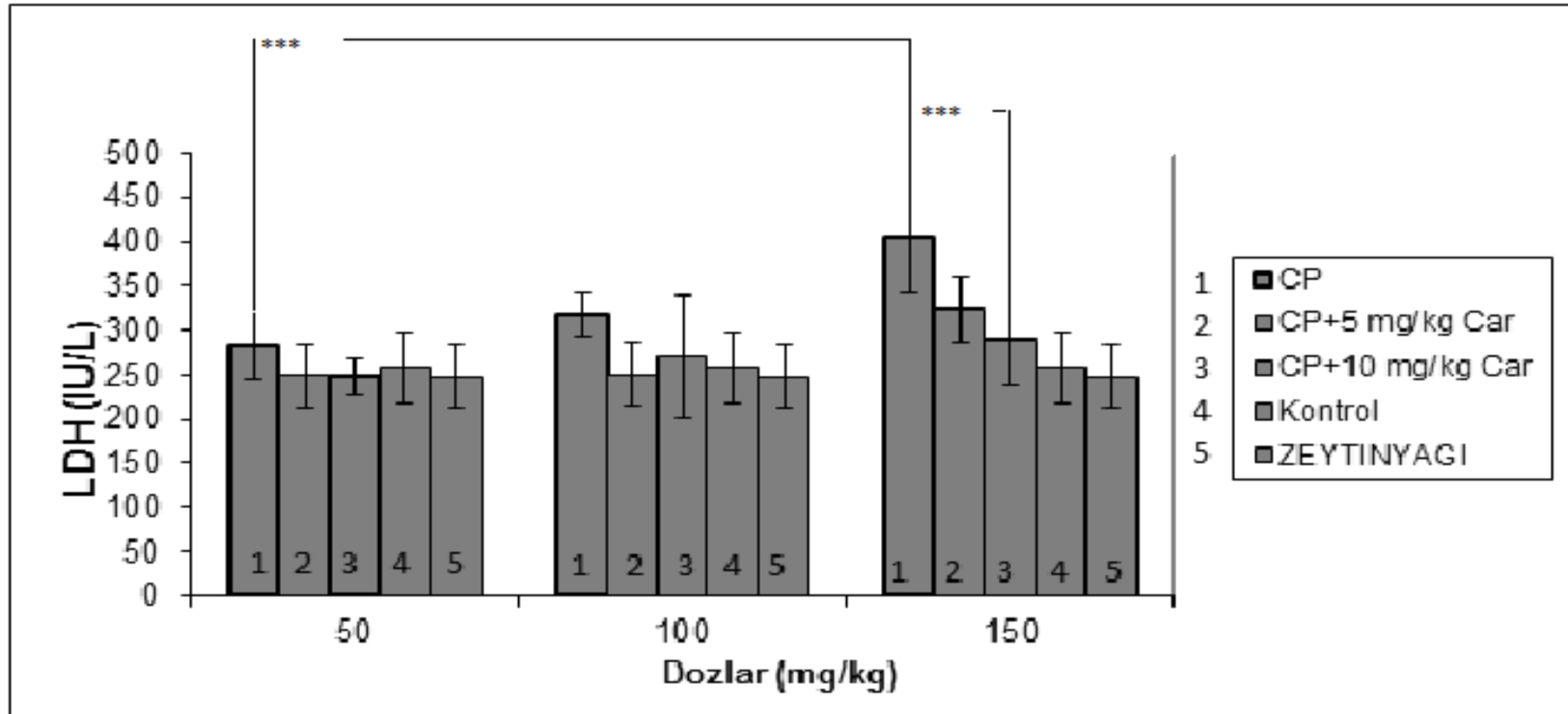
100 mg/kg CP, 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları AST değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında sadece 100 mg/kg CP verilen deney grubunda kontrole göre çok büyük bir artış ($p<0.001$) saptanırken 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car gruplarındaki fark önemli bir fark olarak görülmüştür ($p<0,01$). 100 mg/kg CP verilen deney grubunda AST düzeyindeki artış 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen gruplara göre oldukça önemli ($p<0.001$) kabul edilmiştir. 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car grupları arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları AST değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında 150 mg/kg CP ve 150+5 mg/kg CP+Car gruplardaki artış oldukça anlamlı bulunurken ($p<0.001$) 150+10 mg/kg CP+Car grubundaki artış önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Sadece 150+10 mg/kg CP verilen deney grubunda AST düzeyi 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarına göre oldukça anlamlı artış olarak kabul edilmiştir ($p<0.001$). 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarında AST düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.5. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının AST seviyeleri

Şekil 4.6' da da görüldüğü gibi 50 mg/kg CP verilen deney grubu ile 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları LDH değerleri bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel açıdan karşılaştırıldığında sadece 150 mg/kg CP verilen deney grubu hariç ($p < 0,001$) diğer tüm deney gruplarında LDH değerleri hem birbirlerinden hem de kontrollerinden istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

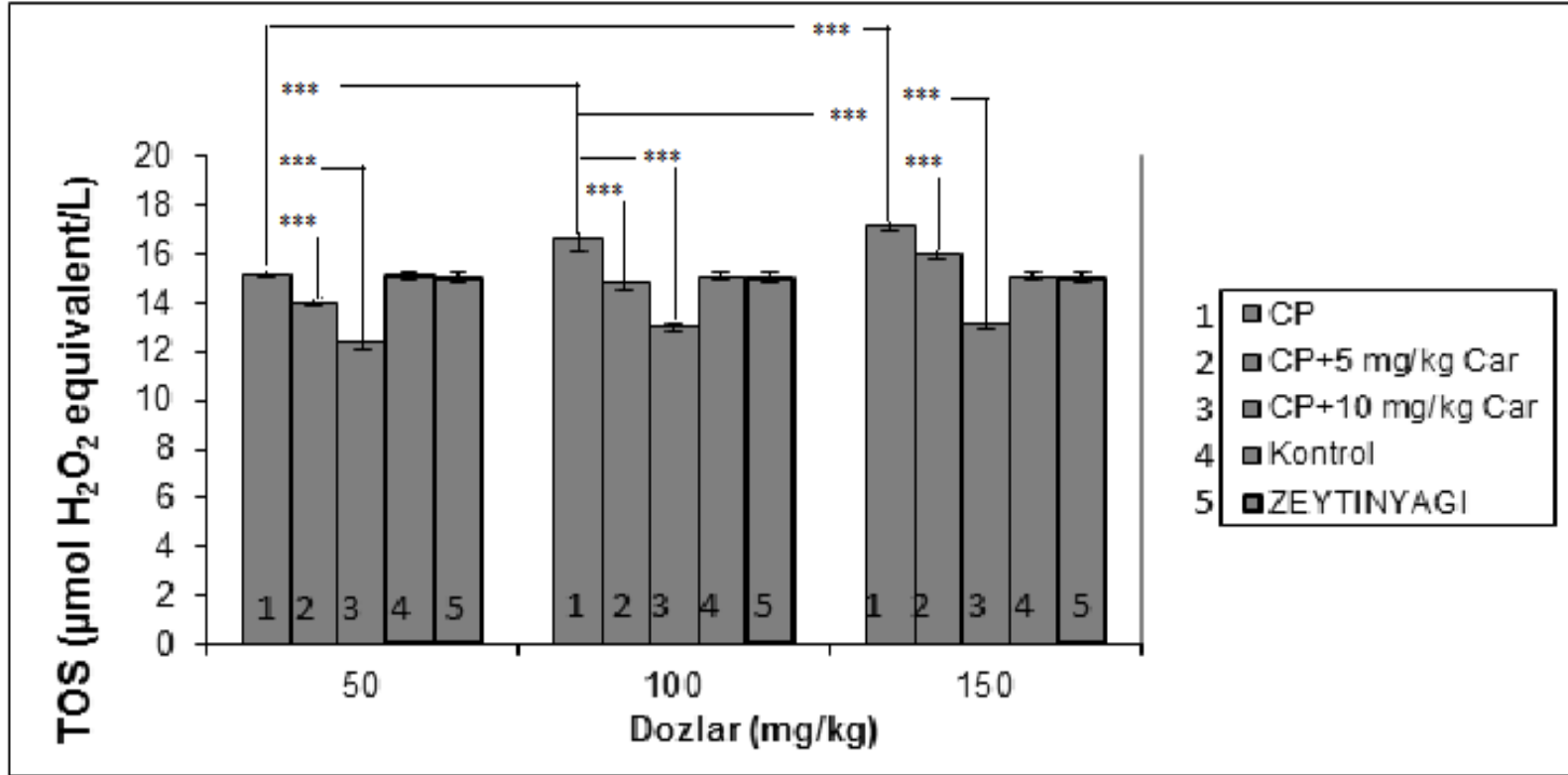


Şekil 4.6. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının LDH seviyeleri.

Şekil 4.7.'de de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları TOS değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 50mg /kg CP ile kontrol grubu arasında fark bulunmazken ($p>0,05$) 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarında TOS değerlerindeki azalış oldukça anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Benzer şekilde hem 50 mg/kg CP grubu ile 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car grupları arasında hem de 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car grupları arasında oldukça anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$).

100 mg/kg CP grubu TOS değerleri bakımından hem kontrolünden hem de 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car gruplarından önemli derecede bir artış göstermiştir ($p<0,001$). Buna karşılık 100+5 mg/kg CP+Car grubu ile kontrol grubu arasında TOS değeri bakımında anlamlı bir fark bulunmamıştır. 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car grupları arasında 100+10 mg/kg CP+Car grubu lehine çok önemli bir azalma saptanmıştır ($p<0,001$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları kontrolleriyle karşılaştırıldığında her üç grup da oldukça anlamlı fark göstermiştir ($p<0,001$). Sadece 150 mg/kg CP verilen deney grubu 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney gruplarına göre oksidan stresi oldukça anlamlı derecede artırmıştır ($p<0,001$). 10 Car, 5 mg/kg Car'e göre 150 mg/kg CP nedenli oksidan stresi azaltmada büyük oranda etkili olmuştur ($p<0,001$).

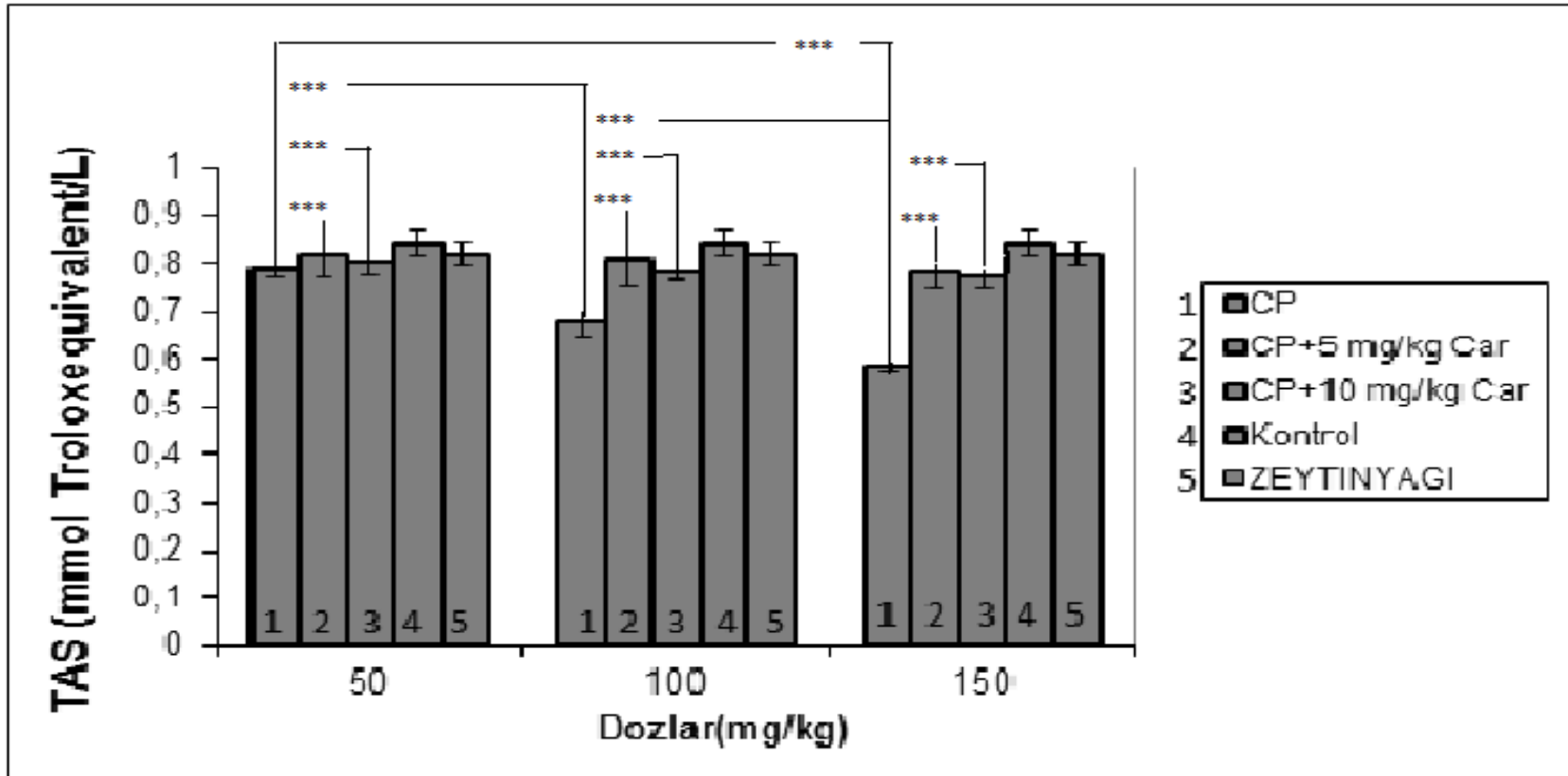


Şekil 4.7. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının TOS seviyeleri.

Şekil 4.8.' de de görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları TAS değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında istatistiksel bakımdan fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu deney gruplarının kendi içlerinde de fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

100 mg/kg CP, 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları TAS değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 100 mg/kg CP grubu hem kontrole hem de 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car gruplarından çok önemli oranda azalma gösterirken ($p<0,001$) 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları TAS değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 150 mg/kg CP grubu hem kontrole hem de 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarından çok önemli oranda azalma gösterirken ($p<0,001$) 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



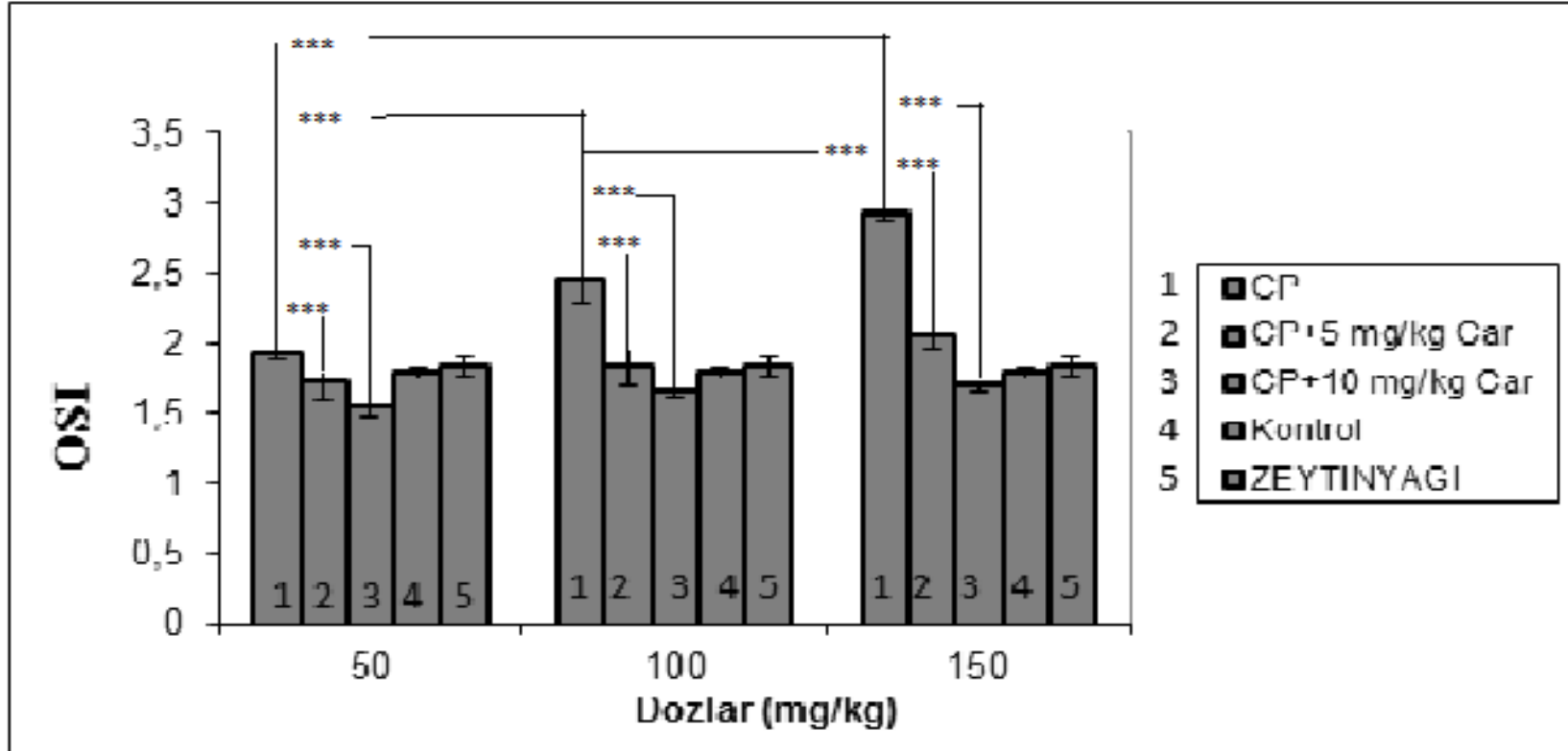
Şekil 4.8. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının TAS seviyeleri.

Şekil 4.9.' da da görüldüğü gibi 50 mg/kg CP, 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları OSİ değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında sadece 50 mg/kg CP verilen deney grubunda OSİ değeri önemli derecede artarken ($p<0,001$), 50+10 mg/kg CP+Car verilen deney grubunda OSİ değeri oldukça anlamlı olarak azalmış ($p<0,001$). Buna karşılık 50+5 mg/kg CP+Car OSİ değerindeki azalma anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 50+5 ve 50+10 mg/kg CP+Car gruplarında OSİ değerleri sadece 50 mg/kg CP verilen gruba göre kaydadeğer bir şekilde azalma göstermiştir ($p<0,001$). Diğer taraftan 50+10 mg/kg CP+Car grubunda OSİ değeri 50+5 'e göre düşük göstermekle beraber bu düşüş anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

100 mg/kg CP, 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları OSİ değerleri bakımından kontrolleriyle karşılaştırıldığında sadece 100 mg/kg CP grubunda oldukça anlamlı bir artış bulunurken ($p<0,001$), 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car gruplarının OSİ değerlerindeki farklılık anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 100 mg/kg CP verilen deney grubunda OSİ değerlerindeki artış 100+5 ve 100+10 mg/kg CP+Car gruplarına göre oldukça büyük bir artış göstermiştir ($p<0,001$), 100+10 mg/kg CP+Car grubu 100+5' e göre önemli bir düşüş göstermiştir ($p<0,01$).

150 mg/kg CP, 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grupları OSİ değerleri bakımından kontrolleriyle kıyaslandığında 150 mg/kg CP grubu ile 150+5 mg/kg CP+Car grubunda OSİ değerleri kontrole göre önemli derecede artış gösterirken ($p<0,001$), 150+10 mg/kg CP+Car verilen deney grubu kontrolünden farklı bulunmamıştır ($p>0,05$). Diğer taraftan 150 mg/kg CP grubundaki OSİ artışı 150+5 ve 150+10 mg/kg CP+Car gruplarına göre de oldukça yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). 150+10 mg/kg CP+Car deney grubunda OSİ değerleri 150+5 mg/kg CP+Car verilen grubuna göre oldukça önemli bir oranda azalmıştır ($p<0,001$).

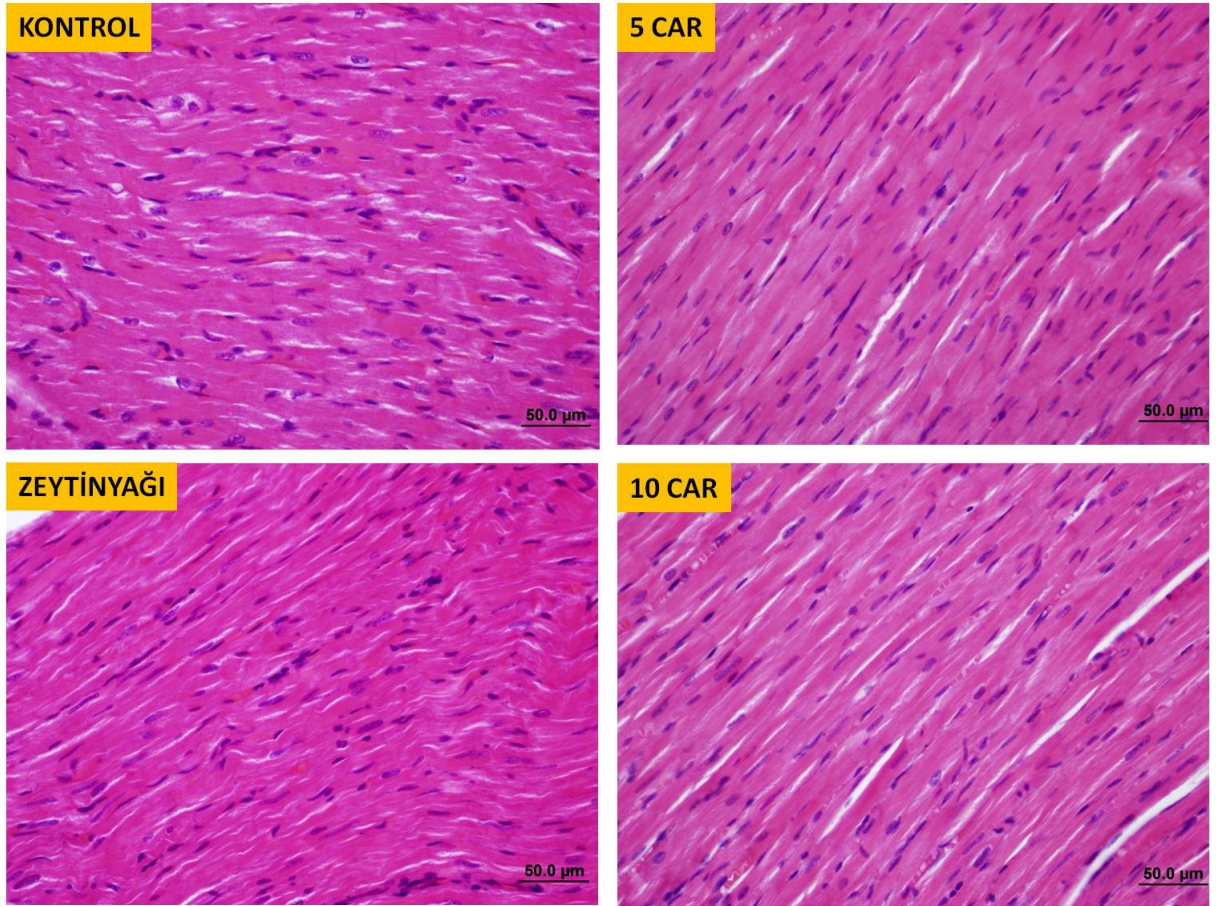
5 ve 10 mg/kg Car verilen grupları kontrollerine göre oksidan stresi istatistiksel olarak oldukça anlamlı oranda azaltmıştır ($p<0,001$). Diğer tüm biyokimyasal parametrelerin bu Car gruplarında kontrole benzer olduğu bulunmuştur ($p>0,05$).



Şekil 4.9. 50-100-150 mg/kg CP, 50+5, 100+5 ve 150+5 mg/kg CP+Car ve 50+10, 100+10 ve 150+10 mg/kg CP+Car deney gruplarının OSI seviyeleri.

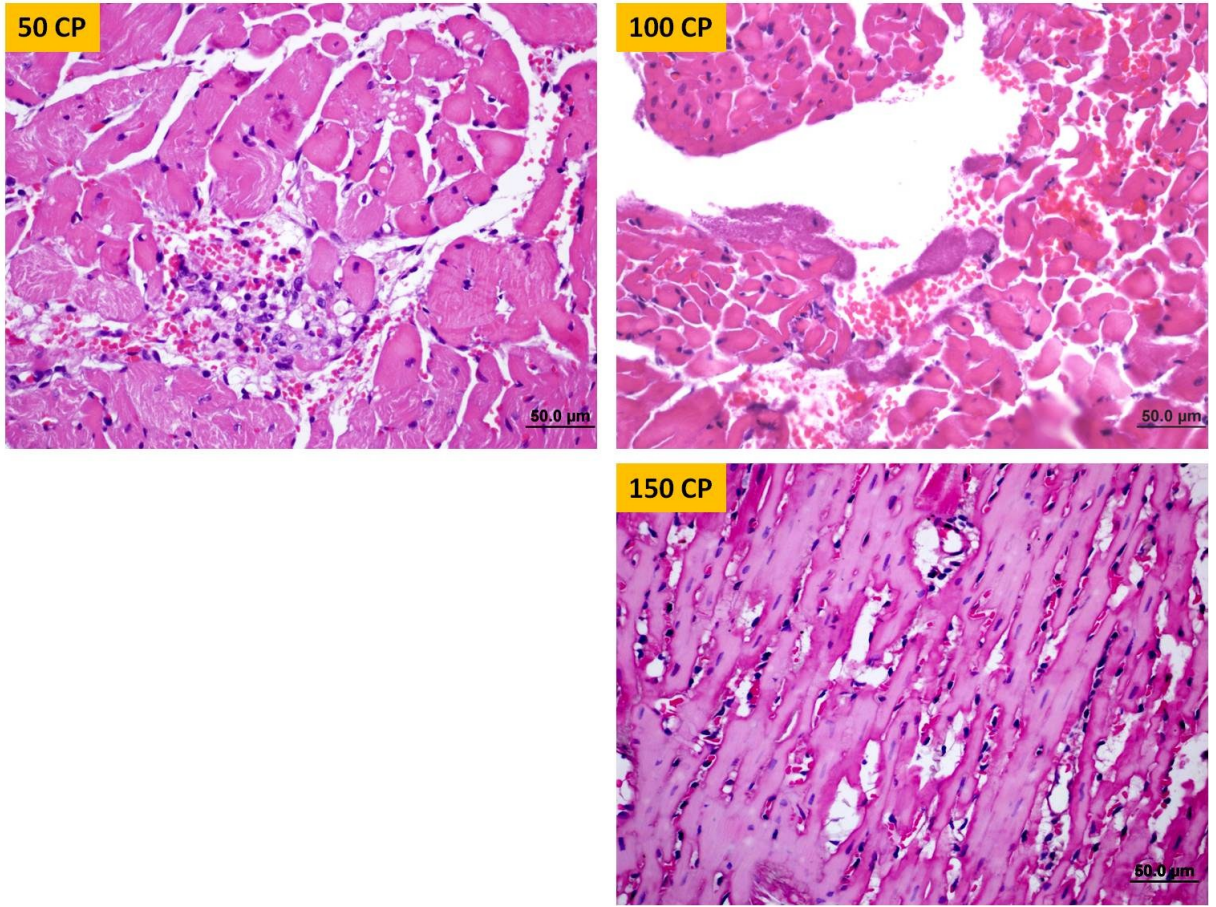
4.2. Histolojik Bulgular

Kontrol, zeytinyağı, 5 CAR ve 10 CAR verilen gruplarda normal histolojik görünüm vardı (Şekil 1). Kalp kası hücrelerinin sitoplazma ve çekirdeklerinin normal boyanma özellikleri, enine çizgilenmeler, interkalar diskler görüldü.



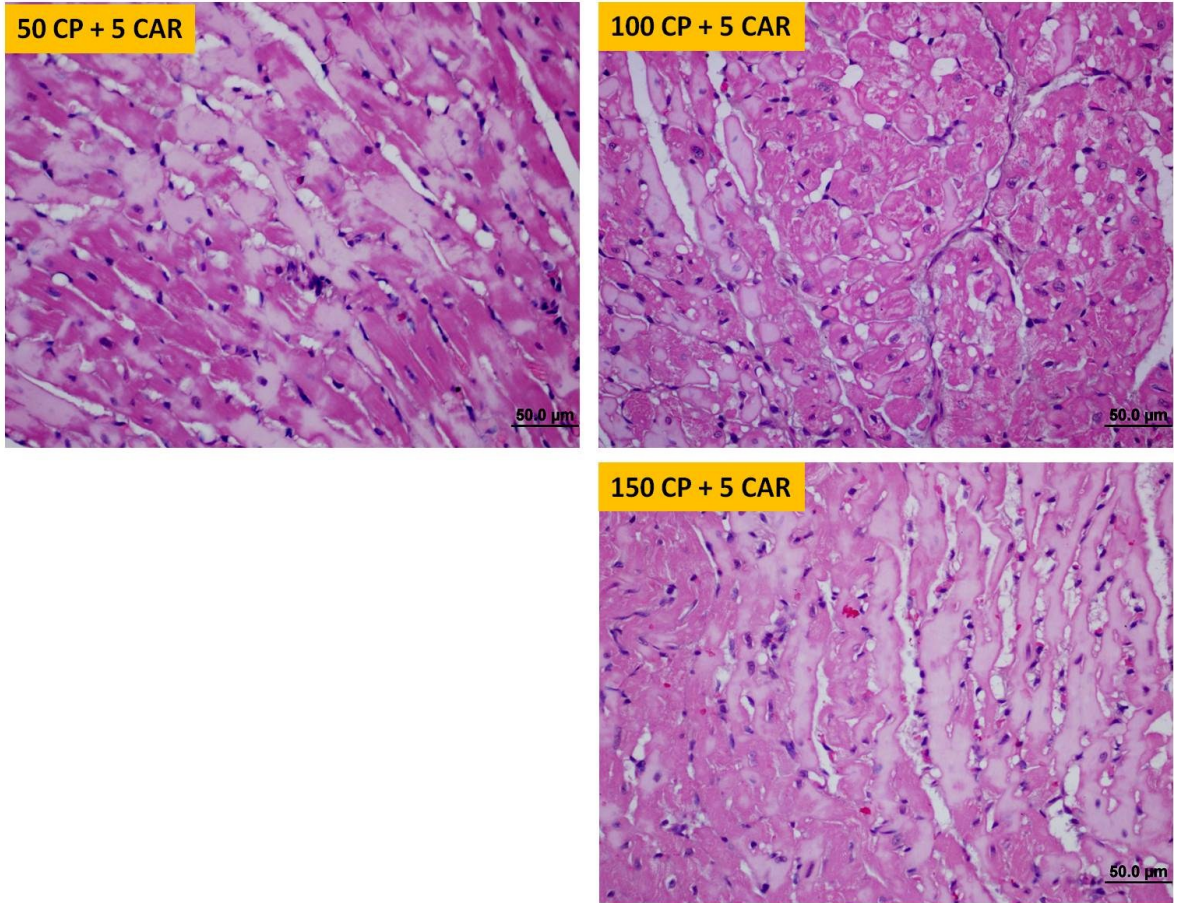
Şekil 4.2.1: Her dört gruba ait kalp dokularının normal histolojik görünümde olduğu izlenmektedir. Hematoksilen eozin boyama, barlar 50 µm' dir.

50, 100 ve 150 mg/kg dozunda CP verilen gruplarda doza bağı olarak artan histolojik bozulmalar gözlemlendi (Şekil 4.2.2). Kalp kası hücrelerinde stoplazmanın boyanma özelliklerinin değiştiği, çekirdeklerin daha koyu ve büzülmüş oldukları, kas hücrelerinin arasında kanamaya işaret eden eritrositlerin varlığı, küçük iltihabi hücre odakları, kas liflerinin birbirinden ayrılmaları dikkati çekti.



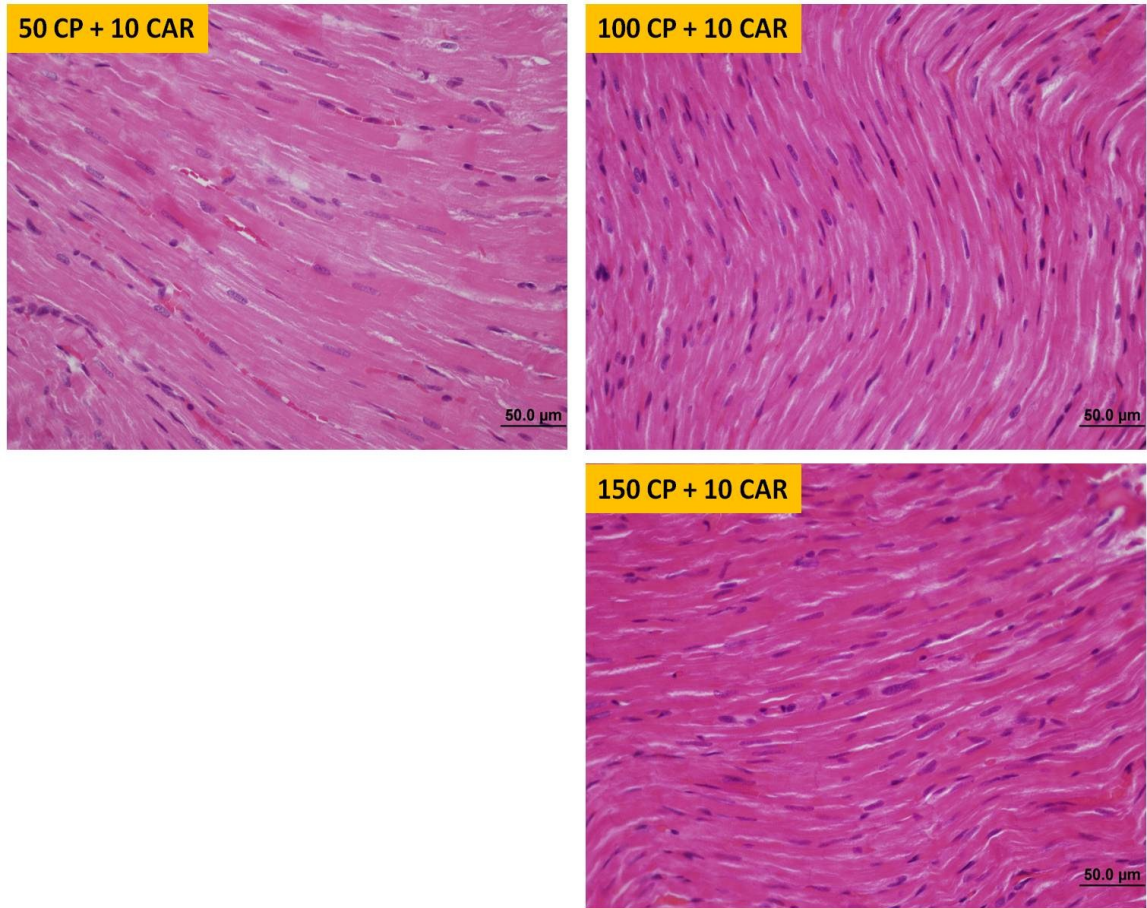
Şekil 4.2.2: 50 CP grubuna ait kalp kesitinde iltihabi hücre odağı, asidofilik boyanmış kas hücreleri ve heterokromatik hücre çekirdekleri; 100 CP grubuna ait kesitte kas lifleri arasında kanamaya işaret eden eritrositler ve 150 CP grubunda kas liflerinin birbirinden ayrılması ve dejenerasyon belirtisi olarak boyanma kaybı dikkati çekmektedir. Hematoksilen eozin boyama, barlar 50 µm' dir.

50, 100 veya 150 mg/kg dozlarında CP ile birlikte 5 mg/kg Car verilen gruplarda bozulan histolojik görünümün düzeldiği ancak bu düzelmeye yeterli bir düzelme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.2.3).



Şekil 4.2.3: 50, 100 ve 150 CP ile birlikte 5mg/kg dozunda Car verilen gruplara ait kesitlerde kas hücrelerinin aralarında ayrılmalar olduğu, hücrelerin normal boyanma özelliklerini yitirdikleri, hücrelerin içerisinde vakuollerin olduğu ve düşük dozdaki Car ile düzelme sağlanamadığı görülmektedir. Hematoksilen eozin boyama, barlar 50 µm'dir.

50, 100 veya 150 mg/kg dozlarında CP ile birlikte 10 mg/kg Car verilen gruplarda tek doz CP verilen gruplara göre histolojik görünümün düzeldiği ve kontrol gruplarına yakın bir görüntü sergilediği gözlemlendi (Şekil 4.2.4).



Şekil 4.2.4: 50, 100 ve 150 CP ile birlikte 10mg/kg dozunda Car verilen gruplara ait kesitlerde kas hücrelerinin normal boyanma özelliklerine ve yapıya sahip oldukları ve yüksek dozdaki Car ile düzelme sağlandığı görülmektedir. Hematoksilen eozin boyama, barlar 50 µm' dir.

5. TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

Kanser günümüzde en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Bu yüzden kanser oluşumunun önlenmesi, üzerinde en çok çalışılan konulardan biri haline almıştır (Kumar and Cotran, 1995). İnsan tümörlerinin antikanser ilaçlara gösterdikleri direncin üstesinden gelebilmek için tümörlü hastalara yoğun bir kemoterapi uygulanmalıdır. Bunun için özellikle Siklofosamid (CP) gibi yüksek doz alkilleyici ajanların kullanılması gerekmektedir (Cavalletti et al., 1986).

Sitotoksik bir ilaç olan CP karaciğerde hidroksillenerek metabolitleri olan fosforamid mustard (phosphoramid mustard = PAM = FAM) ve akroleine (acrolein = ACR) dönüşmektedir. CP' nin antineoplastik etkileri PAM ile ilişkilidir. PAM' ın DNA' ya bağlanarak hücre bölünmesini baskılayıp CP' nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. CP' nin toksik etkisinin aktif metaboliti olan ACR ile ilgili olduğu sanılmaktadır. ACR doku antioksidan (AO) savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest radikal (SR) oluşumuna yol açmaktadır (Kawabata et al., 1990; Masuda et al., 2006). Oksidatif stres serbest oksijen radikali (SOR) miktarındaki artışla seyreden bir durumdur ve bu artış zarlarda lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Virag et al., 2003). SOR' ların inflamatuvar süreç içerisinde aşırı üretimi oksidatif strese neden olur ve bu da hücre ve DNA hasarlanması, protein denatürasyonu ve zar lipidlerinin peroksidasyonunu da içeren mekanizmalar yoluyla nekroza yol açmaktadır (Ribeiro et al., 1998). Memeli kalp dokusu hücrelerinde yapılan bir çalışmada CP terapisi boyunca SOR' un aşırı üretiminin lipid peroksidasyonu yaptığı ve oluşan membran hasarının miyokardiyal membranın bütünlüğünü bozduğu ve disfonksiyona neden olduğu rapor edilmiştir (Janero et al., 1991).

Kanser ve malignant olmayan hastalıkların tedavisinde etkili olduğu kanıtlanmış geniş klinik kullanımlı alkilleyici kemoterapötik bir ilaç olan CP' nin antitümoral etkinliği, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlanmaktadır (Dechant et al., 1991; Kumar and Kuttan, 2004; Perini et al., 2007; Sugumar et al., 2007; Abraham, 2011). Ancak yüksek doz sitotoksik ilaçların kullanılması ve kanser hastalarının yaşam sürelerinin

uzaması ilaçların yan etkilerini de artırmaktadır (Kumar and Kuttan, 2004) ve CP' nin optimal klinik yararlanımı çoklu organ toksisitesi yüksekliği nedeniyle sınırlandırılmaktadır (Brock et al., 1982; Ludeman, 1999). Yapılan bir çok çalışmada CP' nin özellikle yüksek doz (120-200 mg/kg) kullanımından sonra kardiyak etkiler bildirilmiştir (Slordal and Spigset, 2006; Floyd et al., 2005). Jan (2011) tarafından yüksek doz CP kullanılarak yapılan klinik bir çalışmada kardiyotoksisite ve kardiyomiyopatinin CP kemoterapisinin ciddi komplikasyonu olduğu rapor edilmiştir. Weinstein ve ark., (2000) farelerle yaptıkları bir çalışmada kalp dokusunda kemoterapiye bağlı oksidatif hasarın olduğunu ve kalp dokusunda proteine bağlı peroksinitrit radikallerinde artış saptadıklarını bildirmişlerdir. Kardiyak açıdan toksik kemoterapötik bir ajan olan CP, (Biganzoli et al., 2003) yüksek dozlarda kullanıldığında akut miyoperikardite sebep olabileceği (Morandi et al., 2001) ve ortaya çıkan toksisitesinin ölümcül olabileceği belirtilmiştir (Braverman et al., 1991). Yine birçok araştırmada (Özkocaman, 2010; Yahalom and Portlock, 2008) antikanser tedavinin potansiyel bir komplikasyonunun kardiyovasküler toksisite olabileceği ve akut kardiyomiyopatinin yüksek doz CP ile oluşabileceği rapor edilmektedir. Benzer şekilde deneysel ve klinik çalışmalar (Shanholtz, 2001; Schimmel et al., 2004) kardiyak yetmezlik ve kardiyomiyopati gibi akut ölümcül kardiyotoksisite yüksek doz CP terapisi ile ilişkilendirilmiştir. Yine Mohamed ve ark., (2014) tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada akut kardiyotoksisite ve kardiyomiyopati CP (200 mg/kg) terapisi ile ilişkilendirilmektedir.

Yapılan araştırmalarda (Ludeman, 1999; Millsand Roberts, 1979) CP' nin kardiyotoksik etkilerinin doza bağlı kalp dokusu hasarı, morfolojik olarak karakterize edilmiş nekrozis, hemoraji ve daha sonra gelişen fibrozis olduğu ileri sürülmüştür. Buja ve ark., (1976)' nın kemik iliği transplantasyonu yapılan hastalarda yaptıkları bir çalışmada CP nedenli endotelial hasar ile birlikte bunu izleyen miyokardiyal nekrozun da oluşabileceği rapor edilmiştir. Miyokardiyal doku, kendisini oksidatif zarardan koruyan AO enzimlere sahiptir. Ancak Selvakumar ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada CP verilen sıçan miyositlerinde SOR' ların AO enzimlerin inaktivasyonuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yine Machida ve ark., (2003) murin miyokardiyumunda yaptıkları bir çalışmada CP (200 mg/kg) nedenli akut kardiyotoksisiteyi SOR artışına ve azalan AO savunma mekanizmasına bağlamaktadırlar. Son zamanlarda sıçanlarla

yapılan deneysel bir çalışmada 200 mg/kg CP' nin akut kardiyotoksisite yaptığı belirlenmiştir (Mohamed et al., 2014). Birçok çalışmada CP kardiyotoksisitesinin lipid peroksidasyonu ve oksidatif strese katkıda bulunabileceği (Fatani et al., 2010; Todorova et al., 2009) ve artan oksidatif stres belirleyicilerinin, azalmış enzimatik ve non-enzimatik AO'ların kanser oluşumunu artırabileceği rapor edilmiştir (Gupta et al., 2009; Fisher-Wellman et al., 2009). Nitekim son zamanlarda farelerde yapılan bir çalışmada CP sitotoksisitenin SR üretimine ve oksidatif strese neden olabileceği gösterilmiştir (Tripathi & Jena, 2009). Birçok çalışmada (Block et al., 2007; Ladas et al., 2004; Simone et al., 2007(b); Christen et al., 2000; Blumenthal et al., 2000; Borek, 2004) AO'ların kemoterapiye bağlı toksisite şiddetini ve sıklığını azaltarak, daha yüksek ve etkin dozların kullanılmasının sağlanabileceği ileri sürülmüştür.

Mythili ve ark. (2006) sıçanlarda yaptıkları deneysel bir çalışma sonucu AO'ların kardiyovasküler hastalıkların geriletilmesinde yararlı rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kekik yağının ana bileşeni ve monoterpenik fenol olan Karvakrol (Car)'ün lipozom fosfolipitlerinin peroksidasyonunu baskıladığı ve çeşitli sentetik AO' lardan çok daha yüksek bir AO aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Aeschbacher et al., 1994; Mastelic et al., 2008). Antineoplastik ilaçların doz- kısıtlayıcı toksik etkilerini önleyerek, onların daha etkin dozda (yüksek doz kemoterapisi) vermeye olanak sağlayan çeşitli yöntemlerden en önemlisi ilaçla birlikte onun antineoplastik etkinliğini azaltmadan toksisitesini düşüren antidotunun verilmesidir. Biz de çalışmamızda CP nedenli kardiyotoksisiteyi önlemek için kekik bitkisinden elde edilen antioksidan özellikleri bilinen Car' ü kullandık.

Bu bilgiler ışığında yaptığımız deneysel çalışmada CP nedenli kalp dokusu hasarının önlenmesinde Car' ün muhtemel koruyucu etkisi serum kreatin kinaz-MB (CK-MB), Glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA), alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), total oksidan seviyesi (TOS), total antioksidan seviyeleri (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) bakımından biyokimyasal ve histolojik olarak incelenmiştir.

Deneysel kardiyotoksisite modellerinde genellikle CP' nin 100 ve 150 mg/kg' lık dozları kullanılmakta ve hayvanlar CP enjeksiyonundan 6-72 saat sonra sakrifiye

edilmektedir (Okamura et al., 1992; Ayhanci ve ark., 2010; Abraham and Rabi, 2009). Bizim çalışmamızda ise CP' nin 50, 100 ve 150 mg/kg' lık dozları kullanılarak hayvanlar CP uygulamasından 72 saat sonra sakrifiye edilmiş, biyokimyasal ve histolojik bulgular değerlendirilmiştir.

Deneysel çalışmamızın histolojik bulguları 50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen gruplarda doza bağlı olarak artan histolojik bozulmalar, hücre stoplazmalarında boyanma özelliklerinde değişimler, çekirdeklerinde daha koyu renk ve büzülmeler, kas hücrelerinin arasında kanamalar, küçük iltihabi hücre odakları, kas liflerinde birbirinden ayrılmalar olduğunu göstermiştir. Tarek ve ark., (2010) 'nın CP (200 mg/kg) verilen sıçanlarda yaptıkları çalışmanın histolojik bulguları; miyokarda hemorajik odakların, miyokardiyal lifler bozulma ve hiyalinleşme olduğunu gösterilmiştir. Çalışmamızın histolojik bulguları araştırmacılar tarafından ileri sürülen bulgularla uyumludur.

Kalp kası hasarının spesifik bir göstergesi olan **CK-MB** düzeyinin sadece 50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen deney gruplarında doz artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Bu durum kalp dokusunun CP varlığında gördüğü hasarın doza bağımlı olduğunu göstermektedir. CP ile birlikte verilen 5 ve 10 mg/kg Car'ün CK-MB düzeyini kontrol düzeyine yaklaştırarak iyileşme yaptığı belirlenmiştir. Jan (2011)' ın yaptığı klinik çalışmada kemoterapi sonucu CKMB' nin arttığı ve bu artışın kardiyak hasarın belirleyicisi olduğunun bildirilmesi deneysel çalışmamızla uyumludur. Yine sıçanlarda yapılan deneysel bir çalışmada yüksek doz CP (200 mg/kg) verilen sıçanların kalp dokusunda oksidatif stres yanında CK-MB' nin arttığı ve miyokardiyal disfonksiyonun olduğu gösterilmiştir (Yousif, 2010).

Oksidatif stresin başlıca belirteci olan lipid peroksidasyonunun (**MDA**) düzeyi sadece 50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen gruplarda 150 CP grubu en fazla olmak üzere oldukça önemli oranda arttığı saptanmıştır. CP ile birlikte verilen Car' ün 5 ve 10 mg/kg dozları MDA düzeyi açısından karşılaştırıldığında ise 100+10 mg/kg CP+Car verilen deney grubu hariç diğer tüm gruplarda ileri derecede önemli bir azalma görülerek kontrol düzeyine yaklaştırmıştır. Çalışmamız Pascual ve ark., (1998)' nin yaptıkları çalışma ile uyumlu bir şekilde CP dozuna bağlı olarak artan MDA düzeyinin hücre hasarı ve oksidatif stresi şiddetlendirdiğini göstermektedir. Celik ve ark., (2013)

sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada methotrexate ile birlikte Car kullanılan gruplarda sadece methotrexate kullanılan gruplara göre MDA düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir.

Kardiyomiyositleri SOR' lara karşı koruyan ve hücre hasarının neden olduğu oksidatif strese karşı savunmada kritik bir rol oynayan **GSH** sadece 50, 100 ve 150 mg/kg CP uygulanan deney gruplarında oldukça önemli bir azalma göstermiştir. CP ile birlikte verilen Car' ün her iki dozunun da GSH düzeyini artırarak kontrol düzeyine yaklaştırdığı görülmüştür. Sıçanlarla yapılan deneysel bir çalışmada yüksek doz CP (200mg/kg) verilen sıçanların kalp dokusunda GSH düzeyinin azaldığı, CKMB ve LDH düzeyinin arttığı ve miyokardiyal disfonksiyonun olduğu gösterilmiş olup çalışmamız ile uyumludur (Yousif, 2010).

Sadece 50, 100 ve 150 mg/kg CP verilen deney gruplarında serum **ALT**, **AST** ve **LDH** düzeylerinin doz artışına paralel olarak arttığı saptanmıştır (50 mg/kg CP' de ALT ve 50 ile 100 mg/kg CP' de LDH hariç). Elde ettiğimiz bulgular; artan CP dozuna bağlı olarak serum enzim düzeylerinin yükselmesi kalp dokusunda oluşan oksidatif hasarın doz artışına bağlı olduğu düşüncesini güçlendirmektedir. 5 ve 10 mg/kg Car' ün sadece CP verilen gruplarda görülen serum ALT, AST ve LDH düzeylerindeki artışı hemen hemen kontrol düzeyine getirdikleri belirlenmiştir. Bazı klinik ve deneysel çalışmalarda (Mythili et al., 2004; Fatani et al., 2010) yüksek doz CP (200mg/kg)'nin serum CK-MB, LDH, ALT ve AST düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir. Yine Zarei ve Shivanandappa, (2013) yaptıkları çalışmada CP ile muamele edilmiş farelerde serum ALT, AST, LDH, SOR ve lipid peroksidasyon düzeyinin arttığını, GSH ve AO enzim aktivitesinin düştüğünü rapor etmişlerdir. Yousif (2010) tarafından sıçanlarda yapılan çalışmada yüksek doz CP verilen grupların kalp dokusunda oksidatif stres yanında LDH' ın da arttığı ve miyokardiyal disfonksiyonun görüldüğü rapor edilmektedir. Yine Mohamed ve ark., (2014) sıçanlarda yaptıkları çalışmada CP' nin kalp dokusunda serum LDH ve CK-MB düzeyini artırdığını, akut kalp yetmezliği ve histopatolojik lezyoların görüldüğünü rapor etmişlerdir. Mythili ve ark., (2004) sıçanlarla yaptıkları çalışmada CP nedenli toksisitenin mitokondride istenmeyen bir oksidatif stres gösterdiğini ve bunun da mitokondrial disfonksiyona neden olduğunu rapor etmişlerdir.

50, 100 ve 150 mg/kg CP gruplarında **TOS** düzeyleri artarken **TAS** düzeyleri ise CP nedenli oksidatif stresi ve kardiyotoksisiteyi gösterecek şekilde azalmıştır. Buna paralel olarak **OSİ** düzeyi de yüksek bulunmuştur. 5 ve 10 mg/kg Car bu dozlardaki CP toksisitesini önemli oranda önlediği TOS düzeylerinin azalması ve TAS düzeyinin artmasıyla açıklanmaktadır. Benzer şekilde Celik ve ark., (2013)' nın sıçanlarda yaptıkları çalışmaya göre methotrexate ile birlikte Car kullanılan gruplarda sadece methotrexate kullanılan gruplara göre TAS oranının arttığını, TOS düzeyinin ise düştüğünü rapor etmişlerdir. Diğer taraftan Chen ve ark., (2012)' nın çalışmalarında CP verilen farelerde MDA düzeylerinin arttığını ve TAS düzeyinin düştüğünü rapor etmeleri deneysel çalışmamızdan elde edilen verileri doğrular niteliktedir. Yapılan bir başka çalışmada farelere verilen CP (100 mg/kg)'nin oksidatif strese neden olduğu, MDA ve NO düzeyini artırdığı, TAS düzeyini düşürdüğü rapor edilmiştir (Wei et al., 2012). Yine Tarek ve ark., (2010) sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında CP (200mg/kg)' nin neden olduğu kalp hasarını serumda artan oksidatif stres, NO ve MDA, azalan GSH ve TAS düzeylerine bağlamışlardır.

Çalışmamızda gözlenen doku hasarı CP metabolitleri tarafından membranın hasarlanması ile olabileceğini göstermektedir. Nitekim bu patolojik değişiklikler enzim aktivitelerinin değişmesiyle uyumludur. CP nedenli kardiyotoksistenin büyük oranda oksidatif ve nitrozatif stres nedenli mitokondriyal fonksiyon bozukluğu sonucu gelişen ATP azalmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. CP ile birlikte uyguladığımız Car' ün her iki dozunda da bu doku hasarı ve nekroz gibi anormal patolojik bulguları azalttığı ve kalp dokusunu oksidatif hasara karşı koruduğunu göstermektedir. Çalışmamızın bulguları CP nedenli doku hasarı, antioksidan ve membranı stabilize edici özellikleri olan Car ile korunabileceğini ve kemoterapide tedavi etkinliği kadar tedavi ilişkili yan etkilerin bilinmesi ve izlenmesinin de önem taşıdığını göstermiştir. Ancak bu konuda özellikle kullanılan doz yönünden daha kapsamlı çalışmalar yapılmalı ve ivivo yöntemler de denenmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abu, J., Batuwangala, M., Herbert, K., Symonds, P. (2005). Retinoic acid and retinoid receptors: potential chemopreventive and therapeutic role in cervical cancer. *Lancet Oncology*, 6(9), 712-720.
- Abraham P and Isaac B (2011) Ultrastructural Changes in the Rat Kidney After Single Dose of Cyclophosphamide-Possible Roles for Peroxisome Proliferation and Lysosomal Dysfunction in Cyclophosphamide-Induced Renal Damage. *Hum Exp Toxicol*. 2011; 30: 1924.
- Abraham, P. and Rabi, S., 2009, Nitrosative stress, protein tyrosine nitration, PARP activation and NAD depletion in the kidneys of rats after single dose of cyclophosphamide. *Clin Exp Nephrol*. DOI 10. 1007/s10157-009-0160.
- Aeschbach R, Loliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B, Aruoma OI, 1994. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, 32: 31–36.
- Afzal M, Afzal A, Jones A, Armstrong D (2002). A Rapid Method for the Quantification of GSH and GSSG in Biological Samples. *Methods in Molecular Biology* 186: 117-122.
- Akçasu, A., Banoğlu, N. ve Berkarda, Ş., 1992, Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitapevi, 822.
- Akgül, A., Ayar, A. 1993. Yerli baharatların antioksidan etkileri. *Doga-TR. J. of Agriculture and Forestry*. 17: 1061-1068.
- Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı, Konya:Mimoza Yayınları, 1995: 1-110.
- Akyol Hatice, Kemoterapinin temel ilkeleri. *Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Pediatrik Onkoloji Bilim Dalı. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı, 2004.*

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ames B.N., Gold L.S.: Too Many Rodent Carcinogens. Proc. Natl. Acad Sci. 1997; 7772-7781.
- Ando M, Yokozawa T, Sawada J, Takaue Y, Togitani K, Kawahigashi N et al. Cardiac conduction abnormalities in patients with breast cancer undergoing high-dose chemotherapy and stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant 2000; 25: 185-9.
- Aycicek A, Erel O, Kocyigit A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. Pediatr Int 2005; 47: 635-639.
- Ayhanci, A., Uyar, R., Aral, E., Kabadere, S., Appak, S., 2008, Protective Effect of Zinc on Cyclophosphamide-Induced Hematotoxicity and Urotoxicity, Biol.Trace Elem.Res., 126:186-193.
- Ayhanci A, Gunes S, Sahinturk V, Appak S, Uyar R, Cengiz M, Altuner Y, Yaman S (2010) Seleno L-Methionine Acts on Cyclophosphamide-Induced Kidney Toxicity. Biol Trace Elem Res (2010) 136:171–179. DOI 10.1007/s12011-009-8535-2.
- Azirak, S., 2007, Thymol ve Carvacvarol'un in vivo genotoksik etkilerinin araştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Bairati, I., Meyer, F., Gélinas, M., Fortin, A., Nabid, A., Brochet, F., Mercier, J. P., Têtu, B., Harel, F., Mâsse, B., Vigneault, E., Vass, S., del Vecchio, P., Roy, J. (2005). A randomized trial of antioxidant vitamins to prevent second primary cancers in head and neck cancer patients. *Journal of the National Cancer Institute*, 97(7), 481-488.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Balakrishnan A., Khalid, S. Al-Numair, Abdullah. H. Al-Assaf, Chinnadurai, V. and Kodukkur, V.P., 2010, Protective Effect of Carvacrol on Oxidative Stress and Cellular DNA Damage Induced by UVB Irradiation in Human Peripheral Lymphocytes, *J. Biochem Molecular Toxicology*.
- Barja G. Endogenous oxidative stress: Relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Res Rev* 2002; 1: 397-411.
- Baser, K.H.C., 2008, Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils *Current Pharmaceutical Design*, 14000-000.
- Baser, K.H.C. 2001. Her derde deva bir bitki kekik. *Bilim ve Teknik*. Mayıs. 74-77.
- Baydar H, Sagdic O, Özkan G and Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, *Food Control*. 2004; 15, 169–172.
- Baykal Y, F. Kocabalkan. Serbest radikalleri ve hücre hasarı. *Sendrom*. 2000; 9: 31 36.
- Baytop, T., 1999, Türkiye’de bitkiler ile tedavi, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- Berger, M. M. (2005). Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2), 172-183.
- Berk, M., Ng, F., Dean. O., Dodd, S., Bush, A. I. (2008). Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends in Pharmacological Science*, 29(7), 346-351.
- Bernacki, R.J., Bansal, S.K. and Gurtoo, H.L., 1987, Combination of Mesna with Cyclophosphamide or Adriamycin in the Treatment of Mice with Tumors, *Cancer Research*, 47-799-802.
- Bhuvarahamurthy, V., Balasubramanian, N., Govindasamy, S. (1996). Effect of radiotherapy and chemoradiotherapy on circulating antioxidant system of human uterine cervical carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 158(1), 17-23.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Biganzoli L, Cufer T, Bruning P, Coleman RE, Duchateau L, Rapoport B et al. Doxorubicin -paclitaxel: a safe regimen in terms of cardiac toxicity in metastatic breast carcinoma patients. Results from a European Organization for Research and Treatment of Cancer multicenter trial. *Cancer* 2003; 97: 40-5.
- Block, K. I., Koch, A. C., Mead, M. N., Tothy, P. K., Newman, R. A., Gyllenhaal, C. (2007). Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 407-418.
- Blumberg J. Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. *J Nutr.* 2004, 134;3188S-3189S.
- Blumenthal, R. D., Lew, W., Reising, A., Soyne, D., Osorio, L., Ying, Z., Goldenberg, D. M. (2000). Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *International Journal of Cancer*, 86(2), 276-280.
- Bökesoy T. Arda, İclal Çakıcı, Mehmet Melli (Eds.), *Farmakoloji Ders Kitabı, Türk Farmakoloji Deneği*, 2000.
- Borek, C. (2004). Dietary Antioxidants and Human Cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 3(4), 333-341.
- Botsoglou, N.A., Grigoropoulou, S.H., Bostoglou, E., Govaris, A., Papegeorgiou, G. 2003 b. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*. 65: 1193-1200.
- Braverman AC, Antin JH, Plappert MT, et al. Cyclophosphamide cardiotoxicity in bone marrow transplantation: a prospective evaluation of new dosing regimens. *J Clin Oncol.* 1991;10:995–1000.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Brea-Calvo, G., Rodríguez-Hernández, A., Fernández-Ayala, D. J., Navas, P., Sánchez-Alcázar, J. A. (2006). Chemotherapy induces an increase in coenzyme Q10 levels in cancer cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(8), 1293-1302.
- Brock N, Pohl J, Stekar J, Scheef W. Studies on the urotoxicity of oxazaphosphorine cytostatics and its prevention--III. Profile of action of sodium 2-mercaptoethane sulfonate (mesna). *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1982 Dec;18(12):1377–1387.
- Broviac JW, Cole JJ, Scribner BH. A silicone rubber atrial catheter for prolonged parenteral alimentation. *Surg Gynecol Obstet* 1973; 136:602-606.
- Burda, S., Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 2774-2779.
- Burtis, C. A., Ashwood E. R., 2005, Klinik kimyada temel ilkeler, (Çev. D. Aslan), Palme yayıncılık, 352-356 s, 747-756.
- Buja LM, Ferrans VJ, Graw RG Jr: Cardiac pathologic findings in patients treated with bone marrow transplantation. *Human Pathol* 7:17, 1976.
- Carvalho AFU, Melo VMM, Craveiro AA, Machado MIL, Bantim MB and Rabelo EF. Larvicidal Activity of the Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro. 2003; 98, 4, 569–571.
- Cavalletti, E., Tofanetti, O., Zunino, F., (1986), Comparison of Reduced Glutathione with 2–Mercaptoethane Sulfonate to Prevent Cyclophosphamide Induced Urotoxicity, *Cancer letters*, 32: 1–6.
- Celik F, Gocmez C, Bozkurt M, Kaplan I, Kamasak K, Akil E, Dogan E, Guzel A, Uzar E. Neuroprotective effects of carvacrol and pomegranate against methotrexate-induced toxicity in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2013; 17: 2988-2993.
- Champe, R.A., Harvey R. A. and Ferrier D.R., 2007, Biyokimya, Nobel Tıp Kitapevleri LTD.ŞTİ., 248-249.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Chan D.W.Sell S.: Tumor Markers. _n: “Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2th Edition. Ed. Burtis C.A. and Ashwood E.R. W.B. Soundes Company, Philadelphia.: 1994; 897-927.
- Chen, H. and Tappel, A.L. 1996. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem.* 44(3); 854-858.
- Chen Qin, Zhang Song-zhao, Ying Hua-zhong, Dai Xiao-yan, Xiao-xian Li , Chen-huan Yub, Hai-chao Ye. Chemical characterization and immunostimulatory effects of a polysaccharide from *Polygoni Multiflori Radix Praeparata* in cyclophosphamide-induced anemic mice. *Carbohydrate Polymers* 88 (2012) 1476– 1482.
- Chu TF, Rupnick MA, Kerkela R, et al. Cardiotoxicity associatedwith tyrosine kinase inhibitor sunitinib. *Lancet* 2007; 370: 2011-9.
- Chris J. van Boxtel, Antineoplastik Ajanlar. İlaç yararları ve riskleri bölüm 10., 2. Baskı 2008.
- Christen, W. G., Gaziano, J. M., Hennekens, C. H. (2000). Design of Physicians’ Health Study II--a randomized trial of beta-carotene, vitamins E and C, andmultivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials. *Annals of Epidemiology*, 10(2), 125-134.
- Clemens, M. R., Waladkhani, A. R., Bublitz, K., Ehninger, G., Gey, K. F. (1997). Supplementation with antioxidants prior to bone marrow transplantation. *Wiener KlinischeWochenschrift*, 109(19), 771-776.
- Conklin, K. A. (2000). Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutrition and Cancer*, 37(1), 1-18.
- Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain, Volume5, Number5, 2005.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Crohns, M., Liippo, K., Erhola, M., Kankaanranta, H., Moilanen, E., Alho, H., Kellokumpu-Lehtinen, P. (2009). Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clinical Biochemistry*, 42(12), 1236-1245.
- D'Andrea, G. M. (2005). Use of antioxidants during chemotherapy and radiotherapy should be avoided. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 55(5), 319-321.
- Dechant KL, Brogden RN, Pilkington T (1991) Ifosfamide/mesna. A review of its antineoplastic activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy in cancer. *Drugs* 42: 428.
- DeFeudis FV, Papadopoulos V, Drieu K. *Ginkgo biloba* extracts and cancer: a research area in its infancy. *Fundam Clin Pharmacol* 2003; 17: 405-17.
- Del Maestro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol* 1980; 492:153-168.
- DeSemet VJ, 1993, Drug induced liver disease pathogenetic mechanisms and histopathological lesions, *Eur J Med*; 2:36-47.
- De Vincenzi M, Stamatii A, De Vincenzi A and Silano M. Constituents of Aromatic Plants: Carvacrol. *Fitoterapia*. 2004; 75, 801–804.
- Dilek, O.N., 2003, Serbest Radikaller ve Cerrahi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneği III. Ulusal Kongresi. Afyon, 23-30 Mart 2003:6.
- Dilek İ. 2010. Kemoterapide Toksikite Değerlendirmesi. XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi. TCSB Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara.
- Di Mascio, P. Murphy, M.E., Sies, H. 1991. Antioxidan defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53; 194-200.
- Diplock, A. 1998. Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Dollery, C., 1999, Cyclophosphamide In Dollery C, editör Therapeutic drugs, EdinburgChurchill Livingstone, 349-53.
- Dow E, Schulman H, Agura E. Cyclophosphamide cardiac injury mimicking acute myocardial infarction. *Bone Marrow Transplant.* 1993;12:169–172.
- Drisko, J. A., Chapman, J., Hunter, V. J.(2003). The use of antioxidant therapies during chemotherapy. *Gynecologic Oncology*, 88(3), 434-439.
- Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.* 2; 51-62.
- Durak, K., Bilgen, Ö.F., Kaleli, T., Tuncel, P., Özbek, R., and Turan, K., 1996, Antioxidant effect of alfa-tocopherol on fracture haematoma in rabbit, *J.Int. Med.Res*, 24:419-424.
- Dürken, M., Agbenu, J., Finckh, B., Hübner, C., Pichlmeier, U., Zeller, W., Winkler, K., Zander, A., Kohlschütter, A. (1995). Deteriorating free radical-trapping capacity and antioxidant status in plasma during bone marrow transplantation, *Bone Marrow Tranplantation*, 15, 757-762.
- Dürken, M., Herrnring, C., Finckh, B., Nagel, S., Nielsen, P., Fischer, R., Berger, H. M., Moison,R.M., Pichlmeier, U., Kohlschütter, B., Zander, A. R., Kohlschütter, A. (2000). Impaired plasma antioxidative defense and increased nontransferrin-bound iron during high-dose chemotherapy and radiochemotherapy preceding bone marrow transplantation, *Free Radical Biology and Medicine*,28(6), 887-894.
- Elliot, J.G. 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* 53(2); 46-48.
- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J Clinical Biochemistry* 2004; 37: 112– 9.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-1111.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Farber E.: Chemical Carcinogenesis, a Biologic Perspective. *Amer. J. Path.* 1982;2: 271-296.
- Fatani AG, Darweesh AQ, Rizwan L, Aleisa AM, Al-Shabanah OA, Sayed-Ahmed MM. Carnitine deficiency aggravates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Chemotherapy; Chemotherapy.* 2010;56(1):71-81.
- Fisher-Wellman K, Bell HK, Bloomer RJ. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2:43-51.
- Floyd JD, Nguyen DT, Lobins RL, Bashir Q, Doll DC, Perry MC. Cardiotoxicity of cancer therapy. *J Clin Oncol* 2005; 23:7685-96.
- Foote, C.S. 1985. Chemistry of reactive oxygen species. In “ Chemical Changes in Food During Processing”, T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:17-32. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Fritz, G., Kaina, B., 2006, Rho GTPases: Promising cellular targets for novel anticancer Drugs, *Curr Cancer Drug Tar*; 6:561-71.
- Furuta, K., Kakita, A., Takahashi, T., Tomiya, T., Fujiwara, K., 2000, Experimental study on liver regeneration after simlutenous partial hepatectomy and pancreatectomy, *Hepatology Research*; 17,223-236.
- Gate, L., Tew, K.D.: Glutathione S-transferases as emerging targets, *Expert Opin. Ther. Targets*, 5(4), 477-489 (2001).
- Ghiselli, A., M. Serafini, F. Natella, et al. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status. Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:11, 1106-14.
- Goldberg MA, Antin JH, Guinan EC, Rappeport JM. Cyclophosphamide cardiotoxicity: an analysis of dosing as a risk factor. *Blood* 1986; 68: 1114-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Gupta A, Bhatt ML, Misra MK. Lipid peroxidation and antioxidant status in head and neck squamous cell carcinoma patients. *Oxid Med Cell Longev* 2009; 2:68-72.

Gutteridge, J. M. C. (1994). Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, 91, 133-140, 1994.

Halliwell B., Gutteridge M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-14.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: University Press.

Halliwell, B., 1991, Reactive oxygen species in living systems source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*:91: 14-22.

Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *Am J Clin. Nutr* 1993; 57:715-725.

Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health: Experimental strategies for optimisation of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radical Res* 1996; 25:57-74.

Halliwell B. and Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press, 1999.

Handerson B.E., Ross R.K., Pike M.C.: Toward the Primary Prevention of Cancer. *Science*. 1991; 24:1131-1138.

Heller J, Sogni P, Barriere E, Tazi KA, Chauvelot-Moachon L, Guimont MC, Bories PN, Poirel O, Moreau R, Lebrec D. Effect of lipopolysaccharide on TNF-alpha production, hepatic NOS-2 activity, and hepatic toxicity in rats with cirrhosis. *J Hepatol* 2000; 33:376-381.

Henry, J.B., 2001, *Clinical Diagnosis and Management By Laboratory Methods*, W.B. Saunders Company, 20th.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Hill MF, Palace VP, Kaur K, Kumar D, Khaper N, Singal PK. Reduction in oxidative stress and modulation of heart failure subsequent to myocardial infarction in rats. *Exp Clin Cardiol* 2005; 10:146-53.

Holland J, Frei III E, Bast R, et al. *Cancer medicine*. Lea and Febiger, Philadelphia, London, 1993;2339-45.

Hunnisett, A., Davies, S., McLaren-Howard, J., Gravett, P., Finn, M., Gueret-Wardle, D. (1995). Lipoperoxides as an index of free radical activity in bone marrow transplant recipients. Preliminary observations. *Biological Trace Elements Research*, 47(1-3), 125-132.

Intensive Care Med 1999; 25: 1209.

Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B.A., Kurkcuoglu, M. and Baser, K.H.C., 2005, Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test, *Food Chemistry*, 93, 551-556.

Jaakkola, K., Lähteenmäki, P., Laakso, J., Harju, E., Tykkä, H., Mahlberg, K. (1992). Treatment with antioxidant and other nutrients in combination with chemotherapy and irradiation in patients with small-cell lung cancer. *Anticancer Research*, 12(3), 599-606.

Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2002; 65: 166-176.

Jaffe AS, Davidenko J. Diagnosis of acute myocardial ischemia and infarction. Crawford MH, DiMarco JP (eds): *Cardiology*. 1st edition. Mosby International Ltd. England, 2003.

Jan M. Horacek. Biomarkers of Cardiac Injury in Detection of Cardiotoxicity Induced by Chemotherapeutic Agents. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy)* 2011, vol. 80, p. 103-117 ISSN 0372-7025.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Janero DR, Hreniuk D, Sharif HM. Hydrogen peroxide- induced oxidative stress to the mammalian heartmuscle cell (cardiomyocyte): lethal peroxidative membrane injury. *J Cell Physiol* 1991; 149:347-64.
- Janssen, A.M., Bosman, C.M., Kruidenier, L., 1999, Superoxide dismutases in the human colorectal cancer sequence. *J. Cancer.Res.Clin.Oncol.*;125:327-35.
- Javanmardi J., Stushnoff C., Lcke E., Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Acimum Accessions. *Food Chemistry*.83:547-550.
- Jonas, C. R., Puckett, A. B., Jones, D. P., Griffith, D. P., Szeszycki, E. E., Bergman, G.F., Furr, C. E., Tyre, C., Carlson, J. L., Galloway, J. R., Blumberg, J. B., Ziegler, T. R. (2000). Plasma antioxidant status after high-dose chemotherapy: a randomized trialof parenteral nutrition in bone marrow transplantation patients, *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 181-189.
- Jonsson JR, Edwards-Smith CJ, Catania SC, et al. Expression of cytokines and factors modulating apoptosis by human sinusoidal leucoctyes. *J Hepatol* 2000;32:392-398.
- Katzung BG. *Basic & Clinical Pharmacology*. 8th Ed. Appleton & Lange, Stamford, 2001.
- Kayaalp O. İmmün sistem bozuklukları ve immünomodülatör ilaçlar. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11.Baskı Sayfa:344-353 Ankara 2005.
- Kayaalp, S.O. (Ed.), 12. baskı, 2009. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*.
- Kawabata, T.T., Chapman, M.Y., Kim, D.H., Stevens, W.D. and Holsapple, M.P., (1990), Mechanism of in vitro Immunosuppression by Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites and 4-Hydroxycyclophosphamide, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 40: No. 5, pp. 927 – 935.
- Kehre J P, Smith J V. Free radicals in biology: Sources, reactivites and roles in etiology of human diseases; İn Frei B(ed): *Natural Antioxidants İn Human Health and Disease*. San Diego: Academic Pres, 1994:25-62.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Khakoo AY, Yeh ET. Management of cardiovascular disease in patients with cancer and cardiac complications of cancer therapy. *Nat Clin Pract Oncol* 2008;5: 655-67.
- Kızılcı, S., (1999), Kemoterapi Alan Kanserli Hastalar ve Yakınlarının Yaşam Kalitesini Etkileyen Faktörler, *C.Ü.Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 3(2).
- Kim Sung-Hwan, Lee In-Chul, Hyung-Seon Baek, In-Sik Shin, Changjong Moon, Chun-Sik Bae, Sung-Ho Kim, Jong-Choon Kim , Hyoung-Chin Kim. Mechanism for the protective effect of diallyl disulfide against cyclophosphamide acute urotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology* 64 (2014) 110–118.
- Kintzel PE. Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety* 2001; 24:19-38.
- Kirtikar KR, Basu BD. Indian medicinal plants. Vol 2, 2nd ed. Dehradun, India: Bishen Singh Mahendra Pal Singh; 1975. p. 842–844.
- Knight, J.A., 1995, Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin.Lab.Sci.*; 25(2):111-21.
- Koltuksuz U., Özen S., Uz E., Aydınç M., Karaman A., Gültek A., Akyol Ö., Gürsoy M.H. ve Aydın E. 1999. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats, *Journal of Pediatric Surgery*, 34(10): 1458-1462.
- Kökoglu E. Serbest radikal reaksiyonlarının kanserdeki rolü. *Klinik gelişim* 1998; 11: 358– 364.
- Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milos M. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, *Food Chemistry*. 2004; 85, 633–640.
- Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L.: Neoplasia Ln: Robbins SI (ed), *Basic Pathology*, WB Saunders – Philadelphia. 1995; 171-216.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kumar, K.B.H., Kuttan, R., (2004), Chemoprotective Activity of an Extract of *Phyllanthus Amarus* Against Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice, *Phytomedicine*, 12: 494-500.
- Kupari M, Volin L, Suokas A, et al. Cardiac involvement in bone marrow transplantation: electrocardiographic changes, arrhythmias, heart failure and autopsy findings. *Bone Marrow Transplant*. 1990;5:91-98.
- Kurkjian DC ve Ozer H. Management of adverse effects of treatment. In:Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). *Cancer*, Philadelphia 2008, 8th edition, Chapter 63, p 2617-2638.
- Ladas, E. J., Jacobson, J. S., Kennedy, D. D., Teel, K., Fleischauer, A., Kelly, K. M., (2004), Antioxidants and cancer therapy: a systematic review, *Journal of Clinical Oncology*, 22(3), 517-528.
- Langemann, H., Torhorst, J., Kabiersch, A., Krenger, W., Honegger, C. G. (1989). Quantitative determination of water- and lipid-soluble antioxidants in neoplastic and nonneoplastic human breast tissue. *International Journal of Cancer*, 43(6), 1169-1173.
- Larson, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*. 27(4); 969-978.
- Lavelli, V., Peri, C. and Rizzola, A. 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48(5); 1442-1448.
- Lee GR, Foerster J, Lukens J, Pareskeras F, Greer JP, Rodgers GM. *Wintrobe's Clinical Hematology*, Tenth ed. Williams-Wilkins Com. Baltimore 1999.
- Lee TH, Goldma L: Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. Recommendations based on a quantitative analysis. *Ann Int Med* 1986; 105:221.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

Lerza R. Studies on Hemotoxicity of Cyclophosphamide, Doxorubicin and Cis-Diamminodichloroplatinum Combined with Sodium-2-Mercaptoethane Sulfonate, *Tumori*. 1998; 74: 333-337.

Liebler, D.C. 1993, The role of metabolism in the antioxidant function of vitamin E. *Crit. Rev. Toxicol.*23: 147-169.

Lin J. Q. (2002). Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 22(6), 530-532.

Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*. 1993; 362: 709-715.

Lindsay, R.C. 1996. Food Additives. In "Food Chemistry", O.R. Fennema (Ed), pp: 767-823. Marcel Dekker, New York.

Lippincott's Illustrated Reviews, S. Zengeroğlu, A. Murat Zengeroğlu (Çeviri), Güneş Kitabevi, 2. Baskı, 1996.

Loo G. Redox-sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation. *J Nutr Biochem*. 2003;14: 64-73.

Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Molecular Aspects of Medicine*: 30, 42-59, 2009.

Ludeman SM. The chemistry of the metabolites of cyclophosphamide. *Curr Pharm Des*. 1999 Aug;5(8):627-43.

Luft R. The development of mitochondrial medicine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3731-3738.

Machida Y, Kubota T, Kawamura N, Funakoshi H, Ide T, Utsumi H. Overexpression of tumor necrosis factor-alpha increases production of hydroxyl radical in murine myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284:H449-55.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Magyar, J., Szentandrassy, N., Banyasz, T., Fulop, L., Varro, A., Nanasi, Peter P., 2004, Effects of terpenoid phenol derivatives on calcium current in canine and Human ventricular cardiomyocytes, *Eur J Pharmacol*, 487:29-36.
- Mates, J.M., Sanchez-Jimenez, F., 1999, Antioxidant enzymes and their implications in Pathophysiologic processes. *Front Biosci*.4:339-345.
- Manson M.M., Gecher A., Hudson E.A. and et al.: Blocking and Suppressing Mechanisms of Chemoprevention by Dietary Constituents. *Toxicology Letters*. 2000; 112-113: 449-505.
- Masella R, Benedetto RD, Vari R, Filesi C, Giovannini C: Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry* 16:577-586, 2005.
- Mastelic J, Jerkovic I, Blazevic I, Poljak-Blazi M, Borovic S, Ivancic-Bace I, Smrecki V, Zarkovic N, Brcic-Kostic K, Vikic-Topic D, Muller N, 2008. Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 3989–3996.
- Masuda, H., Chancellor, M.B., Kihara, K. And Yoshimura, N., 2006, 15-deoxy-delta12, 14-prostaglandin J2 attenuates development of cyclophosphamide-induced Cystitis in rats, *Urology*, 67:435.
- McEvoy GK, editor, Bethesda, Maryland: AHFS 2004 Drug Information. American Society of Health-System. Pharmacists, 2004: 929-952).
- Meagher EA, Fitzgerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radic Biol Med*. 2000, 28(12);1745-1750.
- Meister LA, Meadows AT. Late effects of childhood cancer therapy. *Curr Probl Pediatr* 1993; 23,102-131.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg. 2004, 15(1-2); 91-96.
- Meydani, M. 2001. Antioxidants and cognitive function. ILSI. Nutrition Reviews., 59(8); S75-S82.
- Miller, D.D. 1996. Minerals. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 617-649. Marcel Dekker, New York.
- Mills BA, Roberts RW. Cyclophosphamide-induced cardiomyopathy: a report of two cases and review of. 1979 Jun;43(6):2223–2226.
- Mills, E. E., (1988). The modifying effect of beta-carotene on radiation and chemotherapyinduced oral mucositis. *British Journal of Cancer*, 57(4):416-417.
- Mimotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004;56:185-229.
- Morandi P, Ruffini PA, Benvenuto GM, La Vecchia L, Mezzena G, Raimondi R. Serum cardiac troponin I levels and ECG/Echo monitoring in breast cancer patients undergoing high-dose (7g/m²) cyclophosphamide. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 277-82.
- Muralikrishnan, G., Amalan Stanley, V., Pillai, K., 2001. Dual role of vitamin C on lipid profile and combined application of cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil treatment in fibrosarcoma-bearing rats. *Cancer Lett.* 169, 115–120.
- Myers C. The role of iron in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Semin Oncol* 1998; 25: 10-14.
- Mythili Y, Sudharsan PT, Selvakumar E, Varalakshmi P. Protective effect of DL-alpha-lipoic acid on cyclophosphamide induced oxidative cardiac injury. *Chem Biol Interact* 2004; 151:13 -9.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Mythili Y, Periyasamy TS, Varatharajan S, Palaninathan Varalakshmi. Protective effect of DL- α -lipoic acid on cyclophosphamide induced hyperlipidemic cardiomyopathy. *European Journal of Pharmacology* 543 (2006) 92–96.
- Nakazawa H, Genka J, Fujishima M: Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Japan J Physiol* 1996; 46:15-32.
- Narin F, Demir F, Akgün H, Baykan A, Koçer D, Üzüm K. Doksorubisin İle Oluşturulmuş Deneysel Kardiyotoksisite Ve Kardiyotoksisite Üzerine L-Triptofan Etkisi erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya, Kayseri erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri, Kayseri, 2004.
- Nawar, W.W. 1996. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.
- Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N: Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 338: 668–676, 2005.
- Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31:1287–1312.
- Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytic Biochem* 1979; 95:351-58.
- Okada F. Inflammation and free radicals in tumor development and progression. *Redox Rep*. 2002;7: 357–68.
- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., and Deemer, E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem*. 50(11); 3122-3128.
- Özgüneş, H., Tuncer, S. (1993). İnflamatuar eklem hastalıkları ve oksijen radikalleri. *Yeni Tıp Dergisi*, 10(3), 47-50.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Özkocaman V. Ekrtramedüller toksisite: Değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler. THD Hematolojide Destek Tedaviler ve İnfeksiyonlar Kursu, 2010, sayfa 22-32.
- Pascual C, Karzai W, Meier-Helmann A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, Reinhart K. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med* 1998;26:705-9.
- Pekkarinan, S.S., Heinonen I.M., Hopia, A.I. 1999. Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+) – catechin as antioxidants in methyl linoleate. *J. Sci. Food Agric.* 79: 499 506.
- Perini P, Calabrese M, Rinaldi L, and Gallo P (2007) The safety profile of cyclophosphamide in multiple sclerosis therapy. *Expert Opin Drug Saf* 6:183-190.
- Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:57-69.
- Pool, B.L., Bos, R.P., Niemeyer, U., Theuws, J.L.G., Schmahl, D., 1988, In vitro/ In vivo Effect of Mesna on the Genotoxicity and Toxicity of Cyclophosphamide A Study Aimed at Clarifying the Mechanism of Mesna's Anticarsinogenic Activity, *Toxicology letters*, 41:49-56.
- Portakal O, Ozkaya O, Erden Inal M, Bozan B, Kosan M, Sayek I. Coenzyme Q10 concentrations and antioxidant status in tissues of breast cancer patients. *Clin Biochem.* 2000; 33: 279–284.
- Porter NA, (1984) : Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 105: 273-283.
- Prasad, K. N., Kumar, A, Kochupillai, V., Cole W. C. (1999). High doses of multiple antioxidant vitamins: essential ingredients in improving the efficacy of standard cancer therapy. *American College of Nutrition Journal*, 18(1), 13-25.
- Prasad, K. N., Cole, W. C., Kumar, B., Che Prasad, K. (2002). Pros and cons of antioxidant use during radiation therapy. *Cancer Treatment Reviews*, 28(2),79-91.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, Husain SA. Lipid peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2000; 59: 163–170.
- Ribeiro RA, Souza Fiho MVP, Santos CC. Involvement of nitric oxide and tumor necrosis factor in the pathogenesis of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *International Cancer Congress, Italy, 1998. Proceedings, 227–231.*
- Rice-Avans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, P.G., Bramley, P.M., Pridham, J.B. 1995. the relative antioxidant activities of plant-derived polyphenol flavonoids. *Free Radical Research.* 22 (4): 375-383.
- Sakaguchi S, Furusawa S. Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in liver during endotoxemia. *Immunol Med Microbiol* 2006;47:167-77.
- Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1173-85.
- Sangeetha, P., Das, U. N., Koratkar, R., Suryaprabha, P. (1990). Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *FreeRadical Biology and Medicine*, 8(1), 15-19.
- Santos GW, Sensenbrenner LL, Burke PJ, Colvin M, Owens AH, Jr, Bias WB, Slavin RE. Marrow transplantation in man following cyclophosphamide. *Transplant Proc.* 1971 Mar;3(1):400–404.
- Sastre J, Pallardo FV, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 1-8.
- Schimmel, K.J., Richel, D.J., Van den Brink, R.B., Guchelaar, H.J., 2004. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs. *Cancer Treat. Rev.* 30, 181–191.
- Sedlak, J., Lindsay, R.H., 1968, Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal. Biochem.*, 25:192-205.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Seifried, H. E., McDonald, S. S., Anderson, D. E., Greenwald, P., Milner, J. A. (2003). The antioxidant conundrum in cancer. *Cancer Research*, 63(15), 4295-4298.
- Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I., Milner, J. A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 18(9), 567-579.
- Selvakumar E, Prahalathan C, Mythili Y, Varalakshmi P. Protective effect of DL alpha-lipoic acid in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis. *Reprod Toxicol* 2004; 19:163-7.
- Seven, A., Candan, G., 1996, Antioxidan Defense Systems. *Cerrahpaşa J. Med.*, 27:41-50.
- Shanholtz C, Acute life-threatening toxicity of cancer treatment. *Crit Care Clin.* 17(3):483-502 2001.
- Shaunak, S., Munro, J.M., Weinbren, K., 1988, Cyclophosphamide induced liver necrosis: a Possible interaction with azathioprine. *Q. J. Med, New Series* 252: 309-317.
- Siems W.G., Van Kuijk E.J. and Maas R. 1994. Uric acid and glutathion levels during short term whole body cold exposure. *Free Rad. Biol. Med.*, 16(3): 299-305.
- Simone, C. B., Simone, N. L., Simone, V., Simone, C. B. (2007). Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(1), 22-28.
- Simone, C. B., Simone, N. L., Simone, V., Simone, C. B. (2007). Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, Part 2. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(2), 40-47.
- Singal PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. *FASEB J.* 1997; 11:931-936.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Singal PK, Deally CM, Weinberg LE. Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. *J Mol Cell Cardiol* 1987;19:817-828.
- Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A.R., Simonic, M., Knez, Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.
- Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344: 783-92.
- Slater T. F : Overview of Methods Used for Detecting Lipid Peroxidation Methods in *Enzymology* 1984; 105:283-293.
- Slattery JI, Sanders JE, Buckner CD, Schaffer RL. Graft-Rejection and Toxicity Following Bone Marrow Transplantation in Relation to Busulfan Pharmacokinetics, *Bone Marrow Transplant*. 1995; 16 (1): 31-42.
- Slordal L, Spigset O. Heart failure induced by non-cardiac drugs. *Drug Saf* 2006; 29: 567-86.
- Southorn PA. Free radicals in medicine. 1. Chemical nature and biological reactions. *Mayo Clin. Proc* 1988; 53:381-389.
- Sökmen A, Güllüce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, Sökmen M, Sahin F. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*, *Food Control*. 2004;15, 627-634.
- Stallings, V. A. (2008). Childhood cancer and vitamins: prevention and treatment. *Pediatric Blood and Cancer*. 50(2 Suppl), 442-444.
- Stammati A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi HL and Wright A. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays, *Food and Chemical Toxicology*. 1999; 37, 813-823.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Surh Y. J: Molecular Mechanisms of Chemopreventive Effects of Selected Dietary and Medicinal Phenolic Substances. *Mutation Res.* 1999; 428: 305-327.
- Szabo, C., 1996, The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury, *Shock*, 6:79.
- Şekeroğlu MR, Şahin H, Dülger H, Algün E: The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem.* 33: 669-674, 2000.
- Takami H, Matsuda H, Tagawa K. Energy metabolism and cell injury in ischemic heart. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 1990; 35:1809-15.
- Takeoka GR, Dao LT. Antioxidant constituent of almond [*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.] hulls. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 496-501.
- Tarek M.K. Motawi, Nermin A.H. Sadik, Ayat Refaat. *Food and Chemical Toxicology.* Cytoprotective effects of DL-alpha-lipoic acid or squalene on cyclophosphamide induced oxidative injury: An experimental study on rat myocardium, testicles and urinary bladder. Volume 48, Issues 8–9, August–September 2010, Pages 2326–2336.
- Teke H Üsküdar, Alparslan Birdane*, Zafer Gülbaş. Eskiflehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, *Kardiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye. *Anadolu Kardiyol Derg* 396 2008; 8: 394-8.
- Todorova V, Vanderpool D, Blossom S, Nwokedi E, Hennings L, Mrak R. Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. *Nutrition* 2009;25:812-7
- Toyokuni S, Okamoto K, Yodoi J, Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer. *FEBS Lett.* 1995; 358: 1-3.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Tran-Thi Nhu-Trang, Herve Casabianca, Marie-Florence Grenier-Loustalot, 2006, Deuterium/hydrogen ratio analysis of thymol, carvacrol, α -terpinene and p-cymene in thyme, savory and oregano essential oils by gas chromatography–pyrolysis–isotope ratio mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1132 (2006) 219–227.
- Tripathi, D. N., & Jena, G. B. (2009). Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: A study in mice. *Chemico-Biological Interactions*, 180, 398–406.
- Tsaknis J, Lalas S, Tychopoulos V, Hole M, Smith G. Rapid high-performance liquid chromatographic method of determining malondialdehyde for evaluation of rancidity in edible oils. *The Analyst* 1998; 123: 325-327.
- Türker, F.A., Kayaalp, S.O., “Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar”, Kayaalp, S.O. (Eds), *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Ankara, Feryal Matbaacılık, (2002), s. 380-415.
- Türker A, Dizdar Ö. Mised, meslek içi eğitim dergisi, *Kemoterapötikler*, 2005, 11-12.
- Uchida S, Suziki K, Akiyama S, Miyamoto M, Juji T and Fujiwara M. Suppressive Effect of Cyclophosphamide on the Progression of Lethal Graft– Versus–Host Disease in Mice: A Therapeutic Model of Fatal Post–Transfusion GVHD., *Ther. Immunol.* 1994; 1 (6): 313–318.
- Ulus NN, Sahilli M, Avcı A, Canbolat O, Ozansoy G, Ari N, Bali M, Stefek M, Stolc S, Gajdosik A, Karasu C. Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochem Res.* 2003 Jun; 28 6: 815-23.
- Uyar R, Bayçu C, Gürer F, Erol K, Cingi Mİ, Özdemir M ve Alban RS. Metotreksat’ ın Kemik İliğindeki Toksisitesini Verapamil İle Önlenmesi, *Anadolu Tıp Dergisi.* 1990; Cilt: 12, S: 2, 27–39.

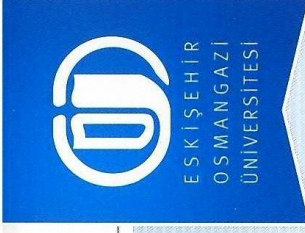
- Uysal M. Serbest radikaller, lipit peroksidleri organizmada prooksidanantioksidan dengeyi etkileyen kosullar. Klinik gelism.1998; 11: 336–341.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M TD, Mazur M, telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem cell Biol. 2007, 39;44-84.
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions: 160, 1-40, 2006.
- Vardar, U.G., Candan, F., Somken, A., Daferere, D., Polissiou, M., Somken, M., Donmez, E., Tepe, B., 2003, Antimicrobial and antioxidant activity of the Essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. Et Mey. Var. *Pectinatus* (Lamiaceae) J. Agric.Food Chem. 51:63-67.
- Victor VM, Rocha M, De la Fuente M. Immune cells: free radicals and antioxidant in sepsis. Int Immunopharmacol 2004;4:327-47.
- Virag L, Szabo E, Gergely P, Szabo C. Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. Toxicol Lett 2003 11;140- 141:113-24.
- Yagi K 1984: Assay for blood plasma or serum, Methods Enzymol **105**: 328-331.
- Yagi K : Lipid Peroxides and Human Diseases. Chem. and Phy of Lipids 1987; 45:337-351.
- Yahalom J, Portlock CS. Cardiac Toxicity. In:Devita VT, Hellman TS and Rosenberg's SA (Eds). Cancer, Philadelphia 2008, 8th edition, Chapter 63, p 2678-2688.
- Yalçın, A.S., 1998, Antioksidanlar, Klinik Gelişim, 11:334-342.
- Yang, Q., Cheng, L., 2005. Molecular regulation of lipotoxicity in the heart. Drug Discov. Today: Dis. Mech. 2, 101–107.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH and Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems, *Food Chemistry*. 1999; 64, 59–66.
- Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: diagnosis, pathogenesis, and management. *Circulation* 2004; 109: 3122-31.
- Young I. S., Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186.
- Yousif A. Asiri Probuocol Attenuates Cyclophosphamide-induced Oxidative Apoptosis, p53 and Bax Signal Expression in Rat Cardiac Tissues. *Oxid Med Cell Longev*. 2010 Sep-Oct; 3(5): 308–316.
- Yu BP. Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994; 74:139-162.
- Yuan L, Kaplowitz N. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*: 30, 29-41, 2009.
- Yuspa S.H., Poirier M.C.: Chemical Carcinogenesis: from Animal Models to Molecular Models in One Decade. *Adv. Cancer Res*. 1988; 50: 25-70.
- Zadák, Z., Hyspler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D., Stetina, R. (2009). Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiological Research*, 58 (Suppl 1), 13-17.
- Zarei M, T. Shivanandappa. Amelioration of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by the root extract of *Decalepis hamiltonii* in mice. *Food and Chemical Toxicology* 57 (2013) 179–184.
- Weijl, N. I., Cleton, F. J., Osanto, S. (1997). Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 23(4), 209-240.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Weinstein DM, Mihm MJ, Bauer JA: Cardiac peroxynitrite formation and left ventricular dysfunction following doxorubicin treatment in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;294:396-401.
- Wei Xiaojie, Su Fei, Su Xiaoyan, Hu Tingjun, Hu Songhua. Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg3 on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice. *Fitoterapia* 83 (2012) 636–642.
- Werlen G, Belin D, Conne B, Roche E, Lew DP, Prentki M. Intracellular Ca²⁺ and the regulation of early response gene expression in HL-60 myeloid leukemia cells. *J Biol Chem.* 1993; 268: 16596–16601.
- White, A. C., Sousa, A. M., Blumberg, J., Ryan, H. F., Fanburg, B. L., Kayyali, U. S. (2006). Plasma antioxidants in subjects before hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 38(7), 513-520.
- Wildburger, R., Mrakovcic L., Stroser M., Andrisic L., Borovic Sunjic S., Zarkovic K., Zarkovic, N. (2009). Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence: Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 29(1), 189-193.
- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004; 44: 275–295.
- Wolf, S., Barton, D., Kottschade, L., Grothey, A., Loprinzi, C. (2008). Chemotherapy induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. *European Journal of Cancer*, 44(11), 1507-1515.
- Worow V.R., Winyard P.G., Morris C.J., Blake D.R.: Free radicals in inflammation second messengers of tissue destructions. *British Medical Bulletin* 1993;49(3):506-522.
- Wu, A.H., & Bowers, G. N, Jr. (1982). Evaluation and comparison of immunoinhibition and immunoprecipitation methods for differentiating MB and BB from macro forms of creatine kinase isoenzymes in patients and healthy individuals. *Clinical Chemistry*, 28, 2017–2021.



HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Belge No: 08 - 10

Sayın Songül ÇETİK

20 Eylül - 01 Ekim 2010 tarihleri arasında düzenlenen
"Deney Hayvanları Kullanımı İle İlgili Eğitim Programı" teorik ve pratik
uygulamalarına katılarak başarıyla tamamlamıştır.

Prof. Dr. Kevser EROL
Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Fazıl TEKİN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Rektörü



ÖZGEÇMİŞ

Songül ÇETİK Mart 1986 Mardin doğumludur. İlköğretim ve liseyi Mardin’ de okumuş, üniversite eğitimine 2005 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi FEF Biyoloji Bölümünde devam etmiştir. 2009 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü’ nde Yüksek lisans eğitimine başlamıştır. Doktora eğitimini 2014 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Üniversitesinde başarıyla tamamlamıştır. Akademik hayatına 2012 yılında Mardin Artuklu Üniversitesi’nde Öğretim Gör. olarak başlamış ve halen aynı kurumda çalışmaya devam etmektedir.