



**RATLARDA DOKSORUBİSİN İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTEDE OKSİDATİF STRES, İNFLAMASYON
APOPTOZİS VE DNA HASARI ÜZERİNE NARİNGİNİN
PROTEKTİF ETKİLERİ**

Pelin DURUKAN AZMAN

Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dursunali ÇINAR**

Doktora Tezi-2022

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DOKSORUBİSİN İLE İNDÜKLENEN
HEPATOTOKSİSİTEDE OKSİDATİF STRES,
İNFLAMASYON
APOPTOZİS VE DNA HASARI ÜZERİNE NARİNGİNİN
PROTEKTİF ETKİLERİ**

Pelin DURUKAN AZMAN

Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dursunali ÇINAR

ERZURUM
2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	III
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
TABLolar DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ.....	15
2. GENEL BİLGİLER.....	18
2.1. Kanserin Tanımı ve Tarihçesi	18
2.2. Kanser Epidemiyolojisi.....	19
2.3. Kanser Etiyolojisi	19
2.4. Kanser Tedavisi	21
2.5. Antineoplastik İlaçların Sınıflandırılması.....	21
2.5.1. Alkilleyici ajanlar	22
2.5.2. Antimetabolitler	22
2.5.3. Topoizomeras İnhibitörleri	23
2.5.4. Antimikrotübül Ajanlar.....	23
2.5.5. Antibiyotikler.....	24
2.5.6. Antrasiklinler	24
2.6. Dokсорubisin.....	24
2.6.1. Dokсорubisinin Kimyasal Yapısı	25
2.6.2. Dokсорubisin Farmakokinetiği	26
2.6.3. Dokсорubisin Tedavisi	27

2.6.4. Doksorubisinin Etki Mekanizması.....	27
2.6.5. Doksorubisin Toksisitesi.....	29
2.7. Böbreklerde Toksisite	31
2.8. Kalpte Toksisite	32
2.9. Karaciğer ve Karaciğer Toksisitesi.....	33
2.9.1. Karaciğer.....	33
2.9.2. Karaciğer Fizyolojisi.....	37
2.9.3. Karaciğerde Toksisite	38
2.10. Oksidatif Stres.....	41
2.11. İnflamasyon	43
2.12. Apoptozis.....	46
2.13. DNA Hasarı	49
2.14. Naringin	50
3. MATERYAL VE METOT.....	54
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	54
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	54
3.3. Deney Gruplarında Doksorubisin ve Naringin Uygulaması.....	55
3.4. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması	55
3.5. Biyokimyasal Analizler	56
3.6. Histopatolojik İncelemeler.....	58
3.7. İmmunohistokimyasal İncelemeler.....	58
3.8. İmmunofloresans İncelemeler.....	58
3.9. İstatistiksel Analiz.....	59
4. BULGULAR.....	61

4.1. Ratların Canlı ve Karaciğer Ağırlıkları Üzerine Doksorubisin ve Naringinin Etkileri	61
4.2. Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Karaciğer Enzimleri Üzerine Naringinin Etkileri	61
4.3. MDA ve GSH Seviyeleri ile SOD, GPx ve KAT Aktiviteleri Üzerine Doksorubisin ve Naringinin Etkileri	62
4.4. Doksorubisin ile İndüklenen Hepatik İnflamasyonda Naringinin Etkileri	67
4.5. Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede PPAR- γ , COX-2 ve eNOS Seviyeleri Üzerine Naringinin Etkileri	74
4.6. Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Kaspaz-3 Seviyesi Üzerine Naringinin Etkileri	77
4.7. Histopatolojik Bulgular.....	78
4.8. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	79
4.9. İmmunfloresan Bulgular	81
5. TARTIŞMA.....	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	91
KAYNAKLAR	93
EKLER	107
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	107
EK-2 ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	108
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	109

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Dursunali ÇINAR'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım

Tez kapsamı boyunca bize öncülük eden Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ'ye (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), tezin her alanında yardımlarını esirgemeyen her konuda bize öncülük eden Doç. Dr. Emin ŞENGÜL'e (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), patolojik bulgular ve bulguların değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a ve bu çalışmayı TDK-2020-8737 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Pelin DURUKAN AZMAN

ÖZET

Ratlarda Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Oksidatif Stres, İnflamasyon, Apoptozis ve DNA Hasarı Üzerine Naringinin Protektif Etkileri

Amaç: Antikanser ilaçlar yaygın olarak kullanılırken, bazı yan etkileride yanında getirmektedir. En fazla yan etkiye neden olan antikanser ilaçlardan biriside doksorubisin (DOX)'dir. DOX başta karaciğer olmak üzere birçok doku ve organda hasara neden olmaktadır. DOX'un karaciğerde meydana getirdiği hasar birçok ajanla tedavi edilmeye çalışılmıştır. Bizim çalışmamızın amacı ise DOX ile indüklenen karaciğer hasarında Naringin (NA) flavanoidinin protektif etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada toplam 50 adet Spaque Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Toplam 5 deney grubu oluşturuldu. Kontrol, DOX, DOX+NA50, DOX+NA100 ve NA100 olarak ayarlanan deney gruplarına 10 gün boyunca uygulama yapıldı. Toksikasyon gruplarına deneyin 8. günü 40 mg/kg tek doz DOX intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı. NA gruplarına 50 mg/kg ve 100 mg/kg olmak üzere 2 farklı doz Naringin 10 gün boyunca intragastik (i.g) olarak uygulandı. 11. gün deney sonlandırıldı ve ratların karaciğer ve serum örnekleri alındı.

Bulgular: Serum örneklerinde AST, ALT, ALP ve LDH düzeyleri DOX uygulanan gruplarda arttı. DOX uygulanan ratların karaciğer dokusunda antioksidan düzeyi azalırken, inflamatuvar markırların seviyesinin arttığı belirlendi. NA50+DOX uygulanan grubun karaciğerinde tedavi uygulamasına bağlı olarak protektif etkili olan Nrf-2-HO-1 yolağının aktifleştiği ve NA100+DOX grubunda en yüksek düzeye ulaştığı belirlendi. DOX uygulanan grupta ise apoptozisin belirteci olan PI3K-AKT yolağının uyarıldığı belirlendi. Yine apoptosizle ilgili olarak BAX düzeyinin arttığı ve anti-apoptotik bir markır olan Bcl-2 düzeyinin azaldığı saptandı. DNA hasarının belirteci olan 8-OHdG düzeyinin ise DOX uygulanan grupta arttığı gözlemlendi. Özellikle yüksek doz Naringin uygulamasının DOX'un meydana getirdiği hasarı önleyerek koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Sonuç: DOX uygulanan grupta karaciğer hasarının meydana geldiği, NA uygulamasının ise anti-oksidatif, anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik özellikleri ile karaciğer üzerinde koruyucu etki gösterdiği elde edilen verilerle saptandı.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, hepatotoksisite, inflamasyon, naringin, oksidatif stres

ABSTRACT

Protective Effects of Naringin on Oxidative Stress, Inflammation Apoptosis and DNA Damage in Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity in Rats

Aim: While anticancer drugs are widely used, they also bring some side effects. One of the anticancer drugs that cause the most side effects is Doxorubicin (DOX). DOX causes damage to many tissues and organs, especially the liver. The damage caused by DOX in the liver has been tried to be treated with many agents. The aim of our study is to investigate the protective effects of Naringin (NA) flavonoid in DOX-induced liver injury.

Material and method: A total of 50 Spaque Dawley male rats were used in this study. A total of 5 experimental groups were formed. The experimental groups set as control, DOX, DOX+NA50, DOX+NA100 and NA100 were treated for 10 days. Toxication groups were administered 40 mg/kg single dose of DOX intraperitenol (i.p) on the 8th day of the experiment. Two different doses of Naringin, 50 mg/kg and 100 mg/kg, were administered to the NA groups intragastically (i.g.) for 10 days. On the 11th day, the experiment was terminated and liver and serum samples of the rats were taken.

Results: AST, ALT, ALP and LDH levels in serum samples increased in DOX administered groups. It was determined that while the level of antioxidants in the liver tissue of DOX administered rats decreased, the level of inflammatory markers increased. It was determined that the Nrf-2-HO-1 pathway, which has a protective effect in the liver of the NA50+DOX administered group, was activated and reached the highest level in the NA100+DOX group, depending on the treatment. It was determined that the PI3K-AKT pathway, which is a marker of apoptosis, was stimulated in the DOX group. Again, it was determined that BAX level increased in relation to apoptosis and the level of Bcl-2, an anti-apoptotic marker, decreased. It was observed that the level of 8-OHdG, which is a marker of DNA damage, increased in the DOX administered group. It was determined that especially high-dose Naringin application had a protective effect by preventing the damage caused by DOX.

Conclusion: It was determined by the data obtained that liver damage occurred in the DOX administered group, and that NA administration had a protective effect on the liver with its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic properties.

Key Words: Doxorubicin, hepatotoxicity, inflammation, naringin, oxidative stress

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

4CL	:	4-kumarat CoA-ligaz
8-OHdG	:	8-hidroksideoksiguanosin
AIF	:	Apoptoz inhibe edici faktör
ALP	:	Alkalen fosfataz
ALT	:	Alanin transaminaz
AST	:	Aspartat aminotransferaz
ATP	:	Adenozin trifosfat
Bad	:	Bcl-2 ile ilişkili hücre ölümü agonisti
Bak	:	Bcl-2 antagonist öldürücü 1
Bax	:	Bcl-2 ilişkili x proteini
Bcl-2	:	B hücreli lenfoma/ lösemi-2
Bcl-xL	:	B hücreli lenfoma-xL
Bcl-Xs	:	B hücreli lenfoma-Xs
Bid	:	BH3 etkileşimli ölüm agonisti
Bim	:	Bcl-2 etkileşimli hücre ölümü aracısı
C4H	:	Sinamat 4-hidroksilaz
Ca²⁺	:	Kalsiyum iyonu
CHI	:	Kalkon izomeraz
CHS	:	Kalkon sentaz
COX	:	Siklooksijenaz
COX-2	:	Siklooksijenaz-2
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DOX	:	Doksorubisin

eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
GPx	:	Glutasyon peroksidaz
GSH	:	Glutasyon
H₂O₂	:	Hidrojen peroksit
HO-1	:	Hemoksijenaz-1
IFN-γ	:	İnterferon gama
IκB	:	κ B İnhibitörü
IL-10	:	İnterlökin-10
IL-1β	:	İnterlökin-1beta
IL-4	:	İnterlökin-4
IL-6	:	İnterlökin-6
IV	:	İntravenöz
i.g	:	İntra-gastrik
i.p.	:	İntra-peritoneal
iNOS	:	İndüklenebilir nitrit oksit sentaz
KAT	:	Katalaz
LPS	:	Lipopolisakkarid
Mcl-1	:	Myeloid lösemi hücre farklılaşma proteini
MDA	:	Malondialdehit
NA	:	Naringin
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz
NF-κB	:	Nükleer faktör kapa
NK	:	Natural killer
nNOS	:	Nöronal nitrik oksit sentaz

NO	:	Nitrik oksit
NOS	:	Nitrit oksit sentaz
Noxa	:	Forbol-12-miristat-13-asetat kaynaklı protein 1
Nrf-2	:	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
p-AKT	:	Protein kinaz B
PAL	:	Fenilalanin amonyak-liyaz
PI3K	:	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PPAR-γ	:	Peroksizom proliferatör-aktif reseptör gama
Puma	:	p53 upregüle apoptoz modülatörü
RNA	:	Ribonükleik asit
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
SIRT-1	:	Sirtuin-1
SOD	:	Superoksit dismutaz
Th1	:	T helper 1
Th2	:	T helper 2
TNF	:	Tümör nekroz faktör
TNF-α	:	Tümör Nekroz Faktör- α
UF7GT	:	Difosfogluflavanon 7-O-glukotransferaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. DOX'un kimyasal yapısı	26
Şekil 2.2. Klasik karaciğer lobülünün histolojik yapısı.....	35
Şekil 2.3. Karaciğer dokusuna ait hücreler ve hepatik sinüzoidlerin yerleşimi	35
Şekil 2.4. Karaciğer asinüsü ve karaciğer dokusunda zonlaşma	36
Şekil.2.5. DOX kaynaklı hepatotoksisitenin mekanizmaları.....	41
Şekil 2.6. NA'nın kimyasal yapısı.....	51
Şekil 2.7. NA biyosentezi	52
Şekil 4.1. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede MDA seviyesi üzerine NA'nın etkisi..	63
Şekil 4.2. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede SOD aktivitesi üzerine NA'nın etkisi	63
Şekil 4.3. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede GPx aktivitesi üzerine NA'nın etkisi	64
Şekil 4.4. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede GSH seviyesi üzerine NA'nın etkisi	65
Şekil 4.5. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede KAT aktivitesi üzerine NA'nın etkisi	66
Şekil 4.6. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede TNF- α seviyesi üzerine NA'nın etkisi	67
Şekil 4.7. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IL-1 β seviyesi üzerine NA'nın etkisi	68
Şekil 4.8. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IL-6 seviyesi üzerine NA'nın etkisi...	69

Şekil 4.9. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IL-4 seviyesi üzerine NA'nın etkisi...	70
Şekil 4.10. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IL-10 seviyesi üzerine NA'nın etkisi	71
Şekil 4.10. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede NF-κB seviyesi üzerine NA'nın etkisi	72
Şekil 4.11. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IFN-γ seviyesi üzerine NA'nın etkisi	73
Şekil 4.12. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede PPAR-γ seviyesi üzerine NA'nın etkisi	74
Şekil 4.13. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede COX-2 seviyesi üzerine NA'nın etkisi	75
Şekil 4.14. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede eNOS seviyesi üzerine NA'nın etkisi	76
Şekil 4.15. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede Kaspaz-3 Düzeyi üzerine NA'nın etkisi	77
Şekil 4.16. Karaciğer dokusu, hepatositlerde dejenerasyon (ok) ve nekroz (ok başı), H&E, 8-OHdG, Bcl-2 ve BAX immunpozitiflikleri (ok başı), IHC-P, Bar:40µm.	80
Şekil 4.17. Karaciğer dokusu, Nrf2 immunpozitiflikleri (FITC) ve HO-1 immunpozitiflikleri (Texas Red), IF, Bar:50µm.	82
Şekil 4.18. Karaciğer dokusu, PI3 Kinase immunpozitiflikleri (FITC) ve p-AKT immunpozitiflikleri (Texas Red), IF, Bar:50µm.	83

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deneyisel çalışmada kullanılan kimyasal ajanlar.	54
Tablo 3.2. Deney grupları ve gruplarda kullanılan deney hayvanı sayıları.	55
Tablo 4.1. Deneyisel gruplarda ratların başlangıç canlı ağırlıkları, final canlı ağırlıkları ve karaciğer ağırlıkları üzerine DOX ve NA etkileri.....	61
Tablo 4.2. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede karaciğer enzim düzeyleri üzerine NA'nın etkileri	62
Tablo 4.3. Karaciğer dokularında histopatolojik bulgular ve skorlanması	78
Tablo 4.4. Karaciğer dokularında immunohistokimyasal bulgular ve istatistiksel analiz verileri	79
Tablo 4.5. Karaciğer dokularında immunfloresan bulgular ve istatistiksel analiz verileri	81

1. GİRİŞ

Kanser, dünya popülasyonunda oldukça yaygın ve en ölümcül hastalıklardan biridir.¹ Bu ölümcül hastalıkların tedavileri için birçok terapötik amaçlı bileşikler üretilmiştir. Bu terapötik bileşiklerden birisi de Doksorubisin(DOX)'tur. DOX, antrasiklin grubu bileşikler sınıfına aittir ve lenfoma, lösemi, akciğer karsinomları, göğüs, yumurtalık ve tiroid gibi çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan kemotöröpatik bir ilaçtır.² Streptococcus peucetius suşundan ekstrakte edilen kırmızı renkli bir pigment olan daunorubisin, farelerde tümörlere karşı kullanılan bir antibiyotiktir. Bu streptokok türünden ayrıca DOX olarak da adlandırılan adriamisin üretilmiştir. DOX' in geniş bir terapötik indeks spektrumuna sahiptir.³ DOX, toz, sıvı ve lipozomal formda üretilmektedir.⁴ DOX'un kemoterapötik etkinliğinin yanı sıra, kardiyotoksisite, hepatotoksisite, nefrotoksisite, diyabetik kardiyomiyopati ve infertilite problemleri gibi yan etkilere neden olmasından dolayı yaygın olan kullanımına sınırlama getirilmiştir.⁵ DOX'un akut ve subakut dozlarda hepatotoksisiteyi indüklediği bildirilmektedir.⁶ Hepatotoksisiteye neden olan DOX ile ilgili moleküler mekanizmalar, esas olarak; ilacın karaciğerdeki metabolizması sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesinden kaynaklanır. Bu da oksidatif strese, düşük antioksidan enzim seviyelerine, apoptozise, inflamasyona ve mitokondriyal disfonksiyona yol açan dengesiz redoks potansiyeline neden olur.^{7,8} DOX tedavisinde, hepatik dokudaki hasara işaret eden Alanin Transaminaz (ALT) ve Aspartat Aminotransferaz (AST) seviyelerinin arttığı bildirilmiştir.⁹ DOX, karaciğerdeki metabolizması sırasında süperoksit ve peroksinitrit radikalleri üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle üretilen ROS, serum ALT ve AST gibi hepatik enzimlerin artmasına ve hepatik hasara yol açan lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu nedenle, bu enzimlerin düzeyi hepatotoksisite için biyobelirteç görevi görür.^{10,11} Artan ALT, AST ve Alkalen fosfataz (ALP), hücrel geçirgenlikte artışa işaret

eder ve bu da sitolojik bozukluklara yol açar. Bu enzimlerin artan miktarı karaciğer hasarını gösterir. Antioksidan enzimler, ROS üretimi yoluyla DOX kaynaklı oksidatif strese karşı bir savunma mekanizmasını harekete geçirir. DOX, güçlü ROS türlerinin oluşumu nedeniyle glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz(GPx) ve katalaz(KAT) gibi antioksidanların seviyesini düşürür ve böylece savunma mekanizmasının aktivitesini inhibe eder.^{10,12} DOX, intrinsik ya da ekstrinsik apoptotik moleküllerin ekspresyonunu önemli ölçüde arttırmıştır. DOX karaciğerde, Bax ve Fas gibi apoptotik moleküller yoluyla, kaspaz-3'ün ekspresyonunu ve oluşumunu indükleyerek hücrel hasara neden olmaktadır.¹³

Kemoterapide kanser hücrelerine karşı terapötik etkiyi artırmak ve normal hücreler üzerindeki toksik etkileri en aza indirmek çok önemlidir.¹⁴ Antikanser ilaçların organ ve dokular üzerindeki yan etkilerini minimum düzeyde tutmak amacıyla doğal etken maddeler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır.^{15,16} Bazı çalışmalarda, doğal antioksidan takviyesinin ROS üreten kemoterapi tedavilerinin toksik etkisini azaltabileceği bildirilmiştir.¹⁷ Antioksidan özellikleri olan flavonoidler, hidroksillenmiş fenolik maddelerdir ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı bitkiler tarafından üretilir.¹⁸ Biyoflavonoidler serbest radikal ve oksidatif strese karşı güçlü bir biyoaktif bileşen olarak kabul edilir.^{19,20} Hücrelerdeki antioksidan enzimleri aktive ederek veya ROS'un inhibisyonu yoluyla, flavonoidler hastalıklara karşı koruyucu özellik gösterirler.^{21,22} Bu doğal bileşiklerin alınmasının kanser gibi önemli hastalıkların gelişimini de engellendiği bilinmektedir.²³ Bunlardan biri olan Naringin (NA) (4', 5, 7-trihidroksi flavanon 7-ramnoglukozid) üzüm ve birçok turuncgil meyvesinin temel ve aktif flavanon glikozitidir.^{24,25} NA oral yoldan verildiğinde, β glukozidaz ve α -ramnosidaz gibi enzimler tarafından hidrolize edilerek bileşiğin ana metaboliti ve emilebilir formu olan naringenin elde edilir.^{26,27} NA, anti-oksidatif²⁸, anti-kanser²⁹, anti-ülser³⁰, anti-inflamatuar, anti-

apoptotik ve hipo-lipitemik gibi birçok aktif farmakolojik özelliğe sahiptir.³¹ NA, lipofilik yapıda olduğundan hücre zarına kolayca bağlanıp serbest radikallerin oluşumunu en aza indirger ve böylece hücre zarını korur.⁵ NA'nın hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda birçok doku üzerine protektif etkilerinin olduğu bildirilmektedir.^{24,32}

Yapmış olduğumuz çalışmada, ratlarda intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanan DOX'un karaciğerde toksik etkilerini ve oluşan toksik etkilere karşı NA'nın protektif etkilerini histopatolojik, immünohistokimyasal, immunfloresan ve biyokimyasal düzeylerde araştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanserin Tanımı ve Tarihçesi

Kanser, normal ve sağlıklı hücrelerin mutasyona uğraması veya değişmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu değişen hücrelerin kontrolsüz çoğalmasının neden olduğu kompleks gelişim gösteren multifaktöriyel bir hastalıktır. Gelişiminin temel nedeni, Deoksiribonükleik asit'in (DNA) doğru eşleşmesini önleyen DNA hasarıdır.³³ Kanser ve tümör kelimeleri eşanlamlı olarak kullanılsa da eşanlamlı aslında değildir. Tümör iyi huylu veya kötü huylu olabilir, ancak kanser terimi sadece kötü huylu tümörler için kullanılmaktadır.³⁴ 'Kanser kelimesinin kökeni Latince'den gelmektedir. Bu 'cancerum' kelimesinden türetilmiştir, gerçek anlamı tutunan yengeçtir. Tıbbın babası Hipokrat (MÖ 460-375), kanser terimini iyileşmeyen tümörleri ve ülserleri tanımlamak için kullanmıştır. Antik Roma'da Galen (MS 200), Hipokrat'a benzer bir şekilde kötü huylu tümörleri sınıflandırmıştır. Galen kanser için şişlik anlamına gelen 'oncos' terimini kullanmıştır.³⁵

Kanser, zamanın başlangıcından beri insan ve hayvan tarihinde geniş bir endişe kaynağı olmuştur. MÖ 50 milyon yıl öncesine ait dinazor fosillerinde bile kemik tümörlerinin kanıtlarına rastlanmıştır.³⁶ Kanserin geçmişine bakıldığında insanlık tarihi kadar eski olduğu açıktır. Tümörlerin ilk tanımları Mısır papirüsleri, Babil çivi yazısı ve yazıtları ve eski Hint yazıları dayanır. Edwin Smith papirüsünde sekiz vakada (MÖ 3000) meme kanseri ile ilgili bilgiler anlatılırken, yumuşak doku tümörleri ile deri, rahim, mide ve rektumdaki kanserler ilk kez Ebers papirüsünde (MÖ 1500) geçmektedir. Tümörler ve tümörün çıkarılıp uzaklaştırılması Babil tabletlerinde anlatılmaktadır.³⁷ 100'den fazla farklı kanser türü vardır. Kanser türleri genellikle kanserlerin meydana geldiği organ ya da dokular için adlandırılır. Lösemi, beyin ve diğer merkezi sinir sistemi kanserleri 0-14 yaş arası çocuklarda en sık tanı konulan kanser türleridir.³⁸ Meme ve tiroit kanseri 25-39

yaş arası en sık görülen kanser türleridir. Daha genç erişkinlerde en yaygın görülen kanserler kemik, meme, servikal, kolorektal, lösemi, lenfoma, melanom, sarkomlar, kemik, yumuşak doku sarkomları, testis ve tiroit kanserleri ve beyin ile diğer merkezi sinir sistemi tümörleridir.³⁹

2.2. Kanser Epidemiyolojisi

Kanser epidemiyolojisi kavramı 18. yüzyılda ortaya çıkmıştır. Bu kavram kanser vakalarının yaygınlığını ve oluşum nedenlerini inceleyen bir halk sağlığı alanıdır. Kanser beklenen yaşam süresinin artmasının önündeki en büyük engeldir ve ciddi bir ölüm nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün açıkladığı verilere göre 2020 yılında yaklaşık 10 milyon kişi kanserden hayatını kaybetmiştir. Aynı yıl içinde en sık ölüme neden olan kanser türleri akciğer (1.8 milyon ölüm), kolon ve rektum (935.000), karaciğer (830.000 ölüm), mide (769.000 ölüm) ve meme (685.000 ölüm)'dir.⁴⁰ Küresel Kanser Gözlemevi'nin 2020 yılı verilerine göre 19,3 milyon yeni kanser vakası ve 10 milyon kanser sebepli ölüm vakası tahmin edilmektedir. 2020 yılında en sık görülen kanser türleri meme kanseri (%11,7) olurken, bunu sırasıyla akciğer kanseri (%11,4), kolorektal (%10,0), prostat (%7,3) ve mide (%5-6) kanserleri izledi. 1,8 milyon kişinin kansere bağlı ölümlerinin %18'ini akciğer kanseri, %9,4'ünü kolorektal kanser, %8,3'ünü karaciğer kanseri, %7,7'sini mide kanseri ve %6,9'unu meme kanseri oluşturmaktadır. 2020'de oranlar bölgeler arasında büyük farklılıklar gösterse de erkeklerdeki kanser prevalansının (100.000'de 222) kadınlardan (100.000'de 186) %19 daha yüksek küresel yaygınlık oranına sahip olduğu bildirilmiştir.⁴¹

2.3. Kanser Etiyolojisi

Kanser dünyadaki en ciddi sağlık sorunları arasında yer alsa da insidansı ırka, topluma ve cinsiyete göre değişiklik göstermektedir. Sağlık bilim adamlarına göre eğer yeterli önlemler alınmazsa kanser 2030'da önde gelen ölüm nedeni olacaktır.⁴² Kanseri

önlemenin ilk adımı, nedenlerinin belirlenmesidir. Kansere neden olan maddeler kanserojen olarak adlandırılır. Kanseri oluşturmaya da 'karsinogenez' denir. Genetik hasar karsinogenezin temelini oluşturur. Bu tür hasara neden olan farklı faktörler vardır. Günümüzde kanserin tek bir faktörle değil, birden fazla faktörle meydana geldiği kabul edilmektedir ki bu da kanserin ortaya çıkma sebeplerinin farklı olduğu anlamına gelmektedir. Kanserin nedeni çok faktörlüdür. Diyet, fiziksel aktivite ve obezite karsinogenez ile ilgili önemli faktörlerdir. Tüketilen gıdalar; pişirme teknikleri, saklama koşulları ve gıda katkı maddeleri sebebiyle kanserojen etki gösterebilmektedir. Yeterli ve dengeli beslenmenin kanseri önlemede önemli etkisi olduğu bilinmektedir. Tüm kanser türlerinin %30-40'ının sadece yaşam tarzı ve beslenme alışkanlıkları değiştirilerek önlenilebileceği düşünülmektedir. Obezite, bozulmuş glukoz metabolizması, aşırı kırmızı et tüketimi, zayıf lif alımı, omega 6 ve omega 3 yağ asitleri alımındaki yetersizlikler, konsantre şekerler ağırlıklı diyetler ve rafine un ürünleri kanser riskinin artmasına katkıda bulunmaktadır.⁴³ Aşırı beslenme ve fiziksel aktivite eksikliği nedeniyle görülen obezite, dünyadaki kadınların üçte birinde ve erkeklerin beşte birinde görülen ciddi bir sorundur. Obezitenin bir sonucu olarak, biyolojik olarak aktif polipeptitleri ve adipokinler adı verilen düzenleyici proteinleri artıran inaktif yağ depolamasında artış meydana gelir. Obezitenin bir sonucu olarak, biyolojik açıdan aktif polipeptitleri ve adipokinler adı verilen düzenleyici proteinleri artıran inaktif yağ depolamasında bir artış meydana gelir. Bu artış kanserojen süreçte anjiyogenez sonucu hücre proliferasyonunu artırarak metastaza neden olur. Ayrıca obezite, seks steroid hormonlarının sentezini ve metabolizmasını değiştirerek kanserojen süreci etkilemektedir.^{44,45} Selenyum, vitamin B-12, folik asit, vitamin D, klorofil ve antioksidanlar, kanseri önleyen önemli bileşenlerdir. Askorbik asit oral kullanıldığında avantajlıdır fakat intravenöz(IV) olarak son derece faydalı olmaktadır.^{46,47} Kanseri oluşturmaya etkileyen bir diğer faktör ise yaşdır. Her yaşta

görülse de çoğu kanserin prevalansı yaşla birlikte, özellikle orta yaşta arttığından, kanser yaşa bağlı bir hastalık olarak kabul edilebilir. Kanser ölümlerinin yaşla birlikte arttığı ve ölümlerin en çok 45-64 yaş aralığında olduğu saptanmıştır.⁴⁷ Genel olarak, kanser insidansı 20 yaş altı grubunda 100.000'de 25 vaka, 45-49 yaş grubunda 100.000'de 350 vaka ve 60 yaş grubunda 100.000'de 1.000'den fazla vakaya kadar yaşla birlikte önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Ulusal Kanser Enstitüsü Programının en son istatistiklerine göre, kanser teşhisi konan kişilerin ortalama yaşı 66'dır. Bu da kanser vakalarının yarısının 60 yaşın altında, diğer yarısının ise 60 yaşın üzerindeki kişilerde ortaya çıktığını göstermektedir.⁴⁸ Cinsiyet, çoğu kanser türünün prevalansında, prognozunda ve mortalitesinde önemli bir role sahiptir.⁴⁹

2.4. Kanser Tedavisi

Kanser toplumlarda yaygın görülen ve farklı yöntemlerle tedavi edilmeye çalışılan ölümcül bir hastalıktır. Kanser tedavisi tümörün histolojik yapısına, metastaz varlığına ve hastalığın evresine göre belirlenmektedir. Kanser tedavisi temel olarak hastaları tedavi etmek, hastalığı kontrol altında tutmak veya palyatif olarak hastanın ömrünü uzatmak ve yaşam kalitesini yükseltmek amacıyla yapılmaktadır. Kemoterapi, radyasyon ve cerrahi en yaygın kanser tedavisi prosedürleri olsa da, hormon tedavisi ve biyolojik yöntemlerin kullanımı gibi ek tedaviler ya tedavi ile kombinasyon halinde ya da tek başına bir tedavi olarak uygulama alanına sahiptir. Her bir tedavi uygulamasının kendine özgü yararları ve zararları olduğundan kanser, kişiden kişiye değişen terapiler ile benzersiz bir hastalıktır.⁵⁰

2.5. Antineoplastik İlaçların Sınıflandırılması

Kanser ilaçları kanserli hücreleri farklı mekanizmalarla etkiler. Antikanser ilaçlar, kanser hücrelerini, hücre dışı matriksini, endotelini, bağışıklık sistemini veya konakçı hücrelerini çeşitli seviyelerde etkileyebilir. Bu etki genellikle hücre ölümünü indüklemek (sitotoksikite) ve daha az sıklıkla hücreyi öldürmeden büyümesini engellemek içindir. En

az görülen etki, kanserli hücrede farklılaşmanın uyarılmasıdır. Günümüzde cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi uygulamalarının kombinasyonu birçok kanser tedavisinde başarıyı artıran multidisipliner bir yaklaşımdır. Sistemik bir hastalık olarak kabul edilen kanserin tedavisinde sistemik yaklaşımlar önemli bir yer tutmaktadır. Kanserın sistemik tedavisinin temelde iki şekilde uygulanabilirliğı vardır. Bunlar, biri sitotoksik ilaçlar ve hormonları içeren kanser kemoterapisidir; diğeri ise immünoterapi yöntemleri ve anti-anjiyojenik ajanlarla biyolojik tedavidir.⁵¹

2.5.1. Alkilleyici ajanlar

Alkile edici ajanlar en sık kullanılan antikanser ilaçlardır ve kombinayon kemoterapisinin büyük bir bölümünü oluştururlar. Alkile edici ajanlar, hücrenel proteinlere ve DNA'ya bağlanan oldukça reaktif moleküllerdir. DNA zincirlerinin çapraz bağlanması, çoğu alkilleyici ajan için temel etki mekanizmasıdır. Sisplatin, klorambusil, karboplatin, oksaliplatin, siklofosfamid, mekloreタミン ve melfalan kemoterapide yaygın olarak kullanılan alkilleyici ajanlardır. Bazı alkilleyici ajanlar, kemik iliğı baskılanması (lökopeni, anemi ve trombositopeni dâhil), mide bulantısı ve kusma gibi klinik toksisitelerle ilişkilendirilmiştir.⁵²

2.5.2. Antimetabolitler

Antimetabolitler, yapısal olarak doğal substratlara benzeyen antikanser ajan grubundadır. Antimetabolitler, DNA'nın sentezi için gerekli olan pirimidin ve pürinleri taklit ederek veya bunlara müdahale ederek ve daha sonra DNA sentezini inhibe ederek etki gösterir. Antimetabolitler, DNA replikasyonu sırasında hücre döngüsünün S fazındaki hücreleri etkilemektedir. Metotreksat, 5-florourasil, kapesitabin, floksuridin, gemesitabin, sitarabin, desitabin ve vidaza bu gruptaki en önemli ilaçlardan birkaçıdır. Antimetabolitler, önemli yan etkilere neden olma potansiyeline sahiptir. Çoğalan tüm

hücreleri etkileyerek immünsupresyon, kusma, mide bulantısı, ülseratif stomatit, diyare, hemorajik enterit ve bağırsak hasarına neden olabilmektedirler.^{48,52}

2.5.3. Topoizomeraz İnhibitörleri

Topoizomeraz inhibitörleri, DNA yapı değişikliklerini düzenleyen topoizomeraz enzimlerini (topoizomeraz I ve II) bloke ederek etki gösteren kemoterapötik ilaçlardır. Topoizomeraz I ve II, hücre bölünmesi ve DNA replikasyonu için gerekli olan ve memeli hücrelerinin çekirdeğinde bulunan doğal enzimlerdir. Topoizomeraz inhibitörleri, apoptotik hücre ölümüne ve DNA tek iplikçik kırılmalarına ve çift iplikçik kırılmalarına neden olan hücre döngüsünün ligasyon aşamasını inhibe eder. Topoizomeraz I inhibitörleri arasında topotekan, irinotekan ve kamptotesin bulunurken, topoizomeraz II inhibitörleri arasında DOX, etoposid ve epirubisin bulunur. Topoizomeraz aktivitesi, kanser hücrelerinde ve hızla bölünen hücrelerde çok güçlüdür. Topoizomeraz inhibitörlerinin nötropeni, anemi, trombositopeni gibi hematolojik etkiler ile ishal ve bulantı gibi gastrointestinal sistem belirtileri en sık görülen yan etkileridir.^{53,54}

2.5.4. Antimikrotübül Ajanlar

Antimikrotübül ilaçlar, mikrotübülleri stabilize ederek ve ardından hücre bölünmesini azaltarak etki eder. Mikrotübüller, mitotik faz sırasında mitotik iğciğin gelişimi de dâhil olmak üzere çok sayıda hücre fonksiyonunda yer alır. Antimikrotübül ajanlar, hücre çoğalmasını engelleyen bitkilerden elde edilen antimitotik kimyasallardır. Bu ajanlar, hücre içinde mitotik bölünmeyi sağlayan iplikçiklerin yapısındaki tubulin proteinini polimerize ederek hareket ederek onları kararsız hale getirir ve sonuçta mitozu durdurur. Asemptomatik sinüs bradikardisi ve birinci derece atriyoventriküler blok en sık görülen yan etkileridir.⁵⁴

2.5.5. Antibiyotikler

Pro-apoptotik, anti-proliferatif ve anti epitelyal mezenkimal geçiş özelliklerine sahip antibiyotikler kanser tedavisinde kullanılmıştır. Araştırma bulgularına göre, antibiyotikler kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyebilir, kanser ilerlemesini önleyebilir ve ayrıca kanser hücrelerinin metastazını engelleyebilmektedir. Bu amaçlarla kanser tedavisinde başarılı olmak için yaygın olarak kullanılırlar. Antikanser antibiyotikler, antikanser özelliklere sahip mikroorganizmaların oluşturduğu maddelerdir. Çoğunlukla peptit ve antrakınon yapıdadırlar ve malign kanserlerin proliferasyonu, hızlı gelişimi ve metastazı üzerinde çok güçlü inhibitör etkiye sahiptirler.⁵⁵

2.5.6. Antrasiklinler

Antrasiklinler dünyada en yaygın kullanılan ve etkili antineoplastik ajan grubunu oluşturduğu iyi bilinmektedir. 1960'larda, antrasiklin antibiyotikler ilk olarak *Streptomyces peucetius* ve *Streptomyces caesi*us mantarlarından izole edilerek klinik onkolojide kullanılmıştır.⁵⁶ Antrasiklin antibiyotiklerinin bileşimi, antrasiklinona bağlıdır. Antitümör özelliğı olan antibiyotiklerde etki iki şekilde olmaktadır. İlk olarak, DNA sentezinin inhibisyonu ve DNA'da interkalasyonu ikincisi, topoizomerez I ve II enzimlerinin inhibisyonu yoluylaadır. DNA'yı kopyalamak için gerekli olan topoizomerez I ve II'yi inhibe ederek DNA'nın sarmalının açılmasıyla etkileşime girerler. Antrasiklinler, mitomisin, bleomisin, aktinomisin, guanorisin ve endiyne en çok kullanılan antikanser antibiyotiklerdir. Antrasiklinleride içeren antikanser antibiyotikler arasında epirubisin, mitoksantron, daunorubisin ve DOX bulunur.⁵⁵

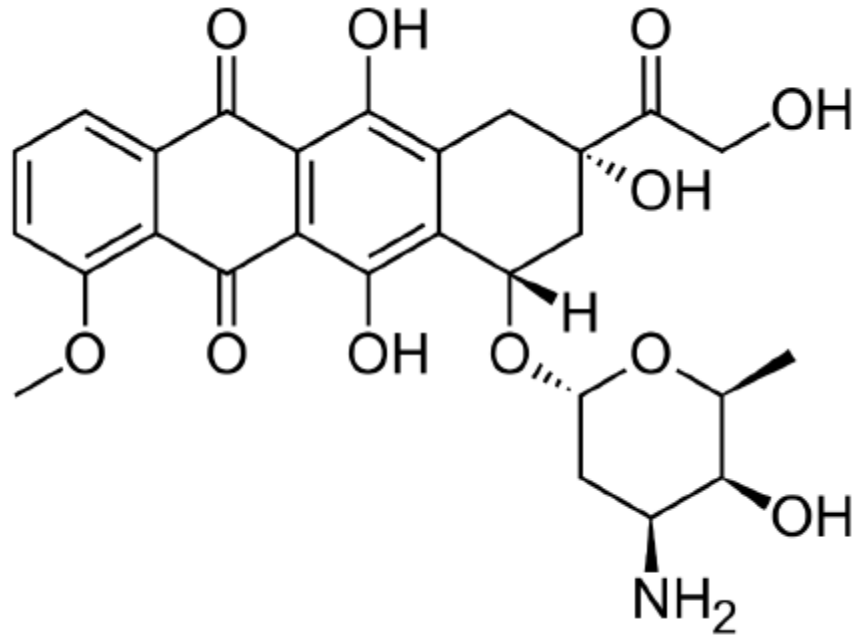
2.6. Doksorubisin

1950'li yıllarda kanser tedavisi toprakta yaşayan mikroorganizmalardan araştırılmaya başlanmıştır. Farelerde anti-tümör etkiye sahip olduğu tespit edilen parlak

kırmızı bir pigment üreten yeni bir suş olan *Streptomyces peucetius* izole edilmiştir. Bu bakteriden Daunorubisin adı verilen yeni antibiyotik üretilerek, lenfoma ve akut lösemide olumlu tedavi sonuçları elde edilmiştir.³ DOX, 1967'de İtalya'da (Farmitalia Araştırma Laboratuvarları) *Streptomyces peucetius*'tan elde edilen bir mutant suştan izole edilmiştir.⁵⁷ DOX, kanser kemoterapisinde kullanılan antrasiklin türevi bir antibiyotiktir. 1967-1969 yıllarında tedavide antrasiklin grubunun en yaygın kullanılan üyesidir.⁵⁸ Bir antibiyotik olan DOX, akut lösemi, lenfomalar, mide, meme ve yumurtalık kanserleri, Kaposi sarkomu ve kemik tümörleri gibi geniş bir kanser spektrumunun tedavisinde kullanılır.⁵⁹

2.6.1. Doksorubisinin Kimyasal Yapısı

DOX, kromoforik bir trisiklik halka ve buna bağlı iki özdeş pentapeptit halkadan oluşan antrasiklin yapılı bir antibiyotiktir. Antrasiklin molekülü tetrasiklik çekirdek ve amino şekerden (daunosin) oluşur. Tetrasiklik çekirdek ilaca kırmızı rengini verir. Grubun tüm üyeleri tetrasiklik halkaya bitişik kinon ve hidrokinon gruplarına sahiptir. DOX, daunorubisin molekülündeki 14 numaralı karbona hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşur.⁶⁰ Amino-şeker grubunun amino grubu, DOX'un suya afinitesi farklı olabilen, çeşitli maddelerle bağlanmasına izin veren en reaktif grubudur. DOX bu özelliği sayesinde farklı hücre yapılarında farklı miktarlarda birikim gösterebilmektedir.⁶¹ DOX'un moleküler formülü $C_{27}H_{29}NO_{11}$ 'dür. DOX'un kimyasal yapısı Şekil 2.1.'de gösterildiği gibidir.⁶²



Şekil 2.1. DOX'un kimyasal yapısı

2.6.2. Doksorubisin Farmakokinetiği

DOX, gastrointestinal sistemden iyi emilemediğinden genellikle IV olarak uygulanır. Ana metabolik özellikleri, bir keton grubunun bir hidroksil grubuna indirgenmesidir. Esas olarak karaciğerde metabolize edilir. IV uygulamadan sonra hızla parçalanır. Bu parçalanma sonucunda doksorubisinol ve daunorubisinol oluşur. DOX'un ana metaboliti, belirli bir antitümör aktivitesine sahip olan aldoketo redüktazlar tarafından üretilen 13-OH-doksorubisinol'dür. DOX beyin dışındaki dokular tarafından hızla alınır. Karaciğerde hızla metabolize olmasına rağmen vücutta uzun süre kalır ve dokulara bağlanıp oradan yavaşça salındığından etkisi uzun sürer ve büyük bir çoğunluğu safra yoluyla vücuttan atılır. Karaciğer metastazı veya primer tümör veya başka bir nedenle karaciğer fonksiyonlarının bozulduğu durumlarda eliminasyonu yavaşlayarak vücuttaki doz azalmaz ve birikir. DOX, alkol türevi, aglikon halkası ve diğer türevler gibi daha az aktif veya aktif olmayan çeşitli ürünlere dönüştürülerek elimine edilir. Böbrekten de atılmaktadır. Karaciğerden biyotransformasyon sonrası safra yolu ile atılır. Atılan madde

doksorubisinol ve daunorubisinoldür. Karaciğerde önce redüksiyon meydana gelir. DOX'un yarı ömrü 12-18 saattir. DOX'un plazma proteinlerine bağlanması yaklaşık %75'tir. Ancak kan-beyin bariyerini geçemez. Toplam plazma klirensi yaklaşık olarak 30 l/sa/m²'dir.^{63,64}

2.6.3. Doksorubisin Tedavisi

DOX çocuk ve erişkin hastalarda en sık kullanılan kemoteröpatik ajanlardan biridir. Ayrıca transüretal rezeksiyondan sonra (koruyucu tedavi) ve terapötik amaçlarla intravezikal olarak uygulandığında yüzeysel mesane tümörleri için endikedir. DOX, akut lenfoblastik lösemiler, yumuşak doku sarkomları, mide kanseri, hodgkin lenfoma, nöroblastom, yumurtalık kanserleri, tiroid kanseri, rahim sarkomları, kemik sarkomu gibi birçok neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. DOX'un geniş spektrumlu antineoplastik etkisinden dolayı hematolojik malignitelerde ve solid tümörlerde de yaygın olarak kullanılmaktadır.⁶⁵

2.6.4. Doksorubisinin Etki Mekanizması

Antrasiklin grubu antikanser ajanların tümörler ve organlar üzerindeki sitotoksik ve sitostatik etkileri dört ana mekanizma ile açıklanmıştır:

1. DNA'ya kompleks oluşturarak bağlanma: DNA'ya girer ve DNA topoizomera II-DNA-antrasiklin kompleksini oluşturur. DNA replikasyonunu veribonükleik asit (RNA) transkripsiyonunu ile sentezini inhibe eder. Aynı zamanda DNA zincirinin kırılmasına da neden olur.

2. RNA ve DNA polimerazların inhibisyonu: RNA transkripsiyonunu ve DNA replikasyonunu bozarak DNA ve RNA polimerazların fonksiyonlarını inhibe eder.

3. Hücre zarına etkileri: Hücre zarına bağlanarak zar fonksiyonunu bozar.

4. DNA'nın zarar görmesine neden olan serbest radikallerin üretimine neden olur ve oksidatif hasara sebep olarak DNA sentezini daha da azaltır.^{58,66}

DOX'un etki mekanizması karmaşık yapısı nedeniyle tam olarak anlaşılmamakla birlikte DNA'da interkalasyona sebep olmaktadır. DOX'un interkalasyon yoluyla hem DNA replikasyonunu hem de RNA transkripsiyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir.^{67,68}

Topoizomeraz II, DNA'nın karıştığı antikanser ilaç aileleri için ortak bir hedeftir. Topoizomeraz II, adenosin trifosfata (ATP) bağımlı olarak çalışır. Temel biyolojik işlevi, DNA zincirlerinin açılması ve replikasyon çatalının oluşumudur. Bu nedenle, DNA replikasyonunda önemli bir işlevi vardır. Kromozomal replikasyonu takiben birbirine kenetlenmiş DNA moleküllerinin ayrılmasını sağlarlar. Ökaryotik ve prokaryotik hücrelerin DNA replikasyonu için gereklidir. Topoizomeraz I, DNA'nın bir sarmalını gevşetir, keser ve ardından kesik sarmalı yeniden bağlar. Topoizomeraz I enzimleri hidroliz için ATP'ye ihtiyaç duymazlar. Topoizomeraz II enzimleri DNA'nın çift sarmallarını kırar ve bağlantı sayısını değiştirerek DNA'ya iki süper dairesel dönüş ekler. Sitotoksik konsantrasyonlarda uygulanan DOX, DNA'yı ve enzimin karmaşıklığını stabilize eder. Transkripsiyon sırasında DNA'nın sarmal yapısını açan Topoizomeraz II enziminin ilerlemesi engeller. Fakat daha yüksek DOX konsantrasyonları topoizomeraz II aktivitesini inhibe eder, ancak DOX DNA'dan uzaklaştığında, topoizomeraz II inhibisyonu tersine çevrilir. Hücreler bölünmeye başladığında, DNA'da topoizomeraz II seviyeleri yükselir. Bu enzimi düşük sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonları ve yüksek ilaç konsantrasyonları inhibe eder. Tüm bu faktörler temelde DOX'un sitotoksitesini düzenlemektedir.⁶⁹ Topoizomeraz I ve II ile etkileşime giren ilaçlar gelecekte kanser tedavileri için umut vericidir. Ancak bu ajanların kendileri normal hücrelerde genotoksik etkileri sonucu mutasyona ve kansere neden olabilmektedir.⁷⁰

DOX ayrıca polimeraz enziminin aktivitesini inhibe edebilir ve serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarını etkileyebilir. DOX, hücre döngüsüne özgü bir ilaç değildir. DOX'un moleküler yapısına bağlı olarak antikanser mekanizması, kinon

yapısı ile ilişkilidir. Antrasiklinlerin kinon bileşeni, sitokrom P450 redüktaz, ksantin oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotit hidrit dehidrogenaz gibi enzimler mevcut olduğu zaman, aşırı ROS üretilen redoks reaksiyonlarına girebilirler. Kinonun yarı kinona dönüşümü sırasında serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller oksijenle birleştiğinde hidroksil radikalleri, süperoksitler ve peroksitler oluşur. Ayrıca hücrel demir, redoks işlemlerini katalize eder ve ROS üretir. Detoksifiye edilemeyen aşırı ROS, lipid peroksidasyonuna, oksidatif strese ve apoptozise yol açan DNA hasarına neden olmaktadır.⁷¹

2.6.5. Doksorubisin Toksisitesi

DOX, antitümör aktiviteye sahip antibiyotikler arasında en etkili antineoplastik ilaçlardandır. Doza bağımlı akut ve kronik toksik yan etkilere neden olur. Antrasiklin ilaçların önemli yan etkileri sitotoksisite ve kardiyotoksisitedir.⁷² DOX uygulamaları, hepatotoksisite ve nefropati gibi yan etkilerle sonuçlanabilmektedir.^{73,74} Çeşitli hastalarda çoklu organ toksikasyonuna neden olma potansiyeline sahiptir.⁷² Risk faktörlerini belirlemek, daha az toksik türevler geliştirmek ve toksisiteyi daha erken tespit etmek için çalışmalar yapılmış olsa da, DOX'un neden olduğu sitotoksisiteyi önlemek için en iyi yaklaşım konusunda henüz bir fikir birliği yoktur.⁷⁵

DOX, önerilen maksimum kümülatif doz olan 450-500 mg/m² vücut yüzey alanı ile, çeşitli solid tümörlerin ve hematolojik malignitelerin tedavisinde kırk yılı aşkın bir süredir yaygın şekilde kullanılmaktadır.⁷⁶ DOX'un kardiyotoksik kümülatif dozu 550 mg/m²'dir.⁷⁷ DOX kaynaklı toksisiteden sorumlu mekanizmalar iyi anlaşılmamakla birlikte, kanıtlar DOX toksisitesinin birincil sebebinin oksidatif stres olduğunu göstermektedir.⁷⁸ DOX'un kemoterapötik ajanlar arasında iyi bir etkinliğe sahip olmasına rağmen hastalarda klinik kullanımı, uygulanan toplam doz 550 mg/m² vücut yüzey alanını aştığında, sağlıklı, kanserli olmayan dokulara geri dönüşümsüz sitotoksisite riskinin ciddi

oranda artması sonucuyla genellikle kesilmesi tavsiye edilir.⁷⁹ DOX kemoterapisi genellikle hastalara üç farklı yolla/yollarla uygulanır; en yaygın olarak sistemik amaçlı IV infüzyonla⁸⁰ yumurtalık kanseri ve peritoneal karsinomatozu tedavi etmek için karın boşluğunu hedef alınarak i.p. enjeksiyonla⁸¹ ve rezeke edilemeyen uzuv tümörlerinde, yumuşak doku sarkom ve melanomlarında organ perfüzyonu olarak uygulanabilmektedir.⁸² Uygulama yolundan bağımsız olarak DOX, hızla bölünen hücreleri hedeflenmesin bir sonucu olarak sağlıklı dokularda ciddi toksikasyona neden olabilmektedir. Bu gibi sitotoksik etkiler antineoplastik ajanın kullanım alanına ciddi sınırlamalar getirmiştir. Çoğu çalışmada DOX'un kalp kası, iskelet kası, karaciğer ve böbrek dâhil olmak üzere çok çeşitli dokular üzerinde toksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir.⁸³

Akut kusma, mide bulantısı, gastrointestinal bozukluklar, saç dökülmesi ve nörolojik rahatsızlıklar gibi semptomlar belirgin yan etkilerdir.⁸⁴ DOX, kanser tedavisi için alındığında gecikmiş kardiyomiyopatiye neden olabilen önemli bir ekzojen ROS üreticisidir.⁸⁵ ROS, organ hasarı ile ilişkili olan DOX tedavisinin bir sonucu olarak oksidatif stres sürecinde oluşur. DOX kaynaklı ROS oluşumunun apoptotik olayları tetiklediği kabul görmektedir.⁸⁶ DOX'un ROS üretebilmesinin birkaç yolu vardır. İlk olarak, DOX kinon yapısındaki bir elektron indirgenmesi, bir Semikinon serbest radikal ara ürününün oluşumuna yol açar. Semikinon parçasının eşlenmemiş elektronu, süperoksit radikalleri oluşturmak için oksijene verilebilir.⁸⁷ İkincisi, şeker kalıntısının parçalanması yoluyla DOX metabolizması ve doksorubisinol üretmek için karbonil grubunun indirgenmesi, aynı zamanda redoks döngüsü ve artan serbest demir seviyeleri yoluyla ROS oluşumuna neden olur.⁸⁸ Üçüncüsü, DOX, demir veya diğer metal iyonları ile doğrudan etkileşim yoluyla ROS üretebilir. Spesifik olarak DOX, serbest radikaller üretmek için oksijen veya hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyona girebilen demir ile bir

kompleks oluşturabilir.^{89,90} Süperoksit ve ayrışma ürünleri, lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve sağlıklı dokuda hasara neden olabilir. Birden fazla potansiyel ROS kaynağı mevcut olsa da, kanıtlar mitokondrilerin DOX uygulamasını takiben önemli bir oksidan üretim kaynağı olduğunu göstermektedir.⁹¹ Spesifik olarak, DOX'un mitokondri iç zarında eksprese edilen bir fosfolipit olan kardiyolipin için yüksek afinitesi nedeniyle mitokondride biriktiği iyi bilinmektedir.^{91,92} Yüksek serbest radikal üretimi, mitokondride, bir bütün olarak ele alındığında, mitokondriyal fonksiyonu büyük ölçüde azaltabilir ve hücre ölümüyle sonuçlanabilecek birkaç olaylar zincirine yol açabilir.⁹¹ DOX kaynaklı ROS aşırı üretimine mitokondriyal nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz (NADPH) oksidaz aktivitesi aracılık etmektedir.⁸⁵ Bazı çalışmalarda oksidatif stresin DOX kaynaklı sistemik hasar nedeniyle önemli olduğu gösterilmiştir.⁹³ DOX, sağlıklı hücreleri de fazlaca etkileyerek bağışıklığa aracılık eden hücrelerinin sayısı azaltarak bağışıklık sistemi zayıflatır. Mikrobiyal enfeksiyonlara daha yatkın, savunmasız ve daha uzun iyileşme sürecine sebep olabilmektedir. Bu yan etkilerin şiddeti ve sıklığında DOX dozu ve hastanın kemik iliği rejenerasyon kapasitesi önemli bir yere sahiptir.^{84,94}

2.7. Böbreklerde Toksisite

DOX ve metabolitlerinin yaklaşık %40-50'si safra yoluyla atılır, vücuttan atılımında böbrekler de rol oynamaktadır.⁹⁵ Metabolize DOX böbreklerde birikir, uygulanan DOX'un yaklaşık %4-8'i birkaç gün içinde idrar yoluyla yavaşça atılır.⁹⁶ Hastalarda böbrek fonksiyonunun yakından izlenmesi gerektiği ilk olarak 1977'de DOX tedavisinin böbrek yetmezliği ile ilişkili olduğunu gösteren bir vakada bildirilmiştir.⁹⁷ DOX, kanser hastalarında çeşitli nedenlerle nefropatiye neden olabilir.⁹⁸ DOX kaynaklı nefropati, DOX'un mitokondriyal fonksiyonları etkilediğinde gelişir. Lipid peroksidasyonu sonrasında antioksidan bileşikler ve E vitamini seviyeleri azalırken

süperoksitler, trigliseritler ve sitrat sentaz seviyeleri yükselir. Gelişen nefrotoksisite, hipertansiyon, steroid direnci ve proteinüri, böbrek yetmezliğine ilerleyebilen glomerülleri etkileyen semptomlara sebep olabilmektedir.⁸⁴ Böbrek tübüllerinde potasyum, fosfat ve ürik asit birikiminin yanı sıra glomerüllerde fibrin trombüsü birikmesine ve idame diyaliz ihtiyacına sebep olabilmektedir.^{98,99} Hasta popülasyonundaki bulgulara ek olarak, birçok kimyasal ajanlarla birlikte DOX'un deney hayvanlarında ilaç uygulamasını takiben hızlıca (günler içinde) böbrek yetmezliğine neden olduğu iyi bilinmektedir.^{95,100,101} Bazı çalışmalar, DOX'un glomerul hasarı sonucu böbreklerde doğrudan toksisiteye yol açarak, toksisitenin tubulointerstisyel inflamasyon ve fibroz, podosit hasarı ve yüksek serum kreatini, düşük kreatinin klirensi, düşük serum albümini, dislipitemi ve proteinüri ile sonuçlandığı bildirilmektedir.¹⁰²

2.8. Kalpte Toksisite

Kardiyotoksisite DOX kaynaklı toksisitenin en ciddi şeklidir. DOX'un neden olduğu kardiyotoksisitenin inflamasyon, apoptoz ve oksidatif stres ile ilişkili olduğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır.¹⁰³ DOX kaynaklı kardiyotoksisite, antioksidan sistemdeki azalmanın yanı sıra oksidatif stresteeki artıştan kaynaklanır. Hastalar akut ve kronik olarak farklı şekillerde etkilenirler. DOX, kardiyomiyositlerde yapısal değişikliklere yol açarak büyümelerine neden olur.¹⁰⁴ DOX'un akut etkileri uygulamadan sonra dakikalar ila günler içinde gelişebilir ve hipotansiyon, sol ventrikül yetmezliği, taşikardi ve çeşitli aritmiler sonucu göğüs ağrısı şeklinde kendini gösterir.⁹⁴ Bu ani değişikliklerin mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır, ancak genellikle geçicidir ve hastalarda geri dönüşümlüdür. DOX'un akut etkilerinin kalpte geri dönüşümlü miyokard ödemi sonucu olduğu varsayılmaktadır.¹⁰⁵ DOX uygulamasından sonra kronik kardiyovasküler etkilerin insidansı bu sebeple düşüktür. DOX'un kronik etkileri, genellikle konjestif kalp yetmezliğine yol açan sinsi kardiyomiyopatileri içerir. Kalpte

hasara yol açan ajanlar hastalarda kalp yetmezliği, birçok organın sağlığını etkileyebilecek sistemik komplikasyonlara neden olabilmektedir.¹⁰⁶ Ayrıca, kimyasal ajanlar kaynaklı konjestif kalp yetmezliği gelişimi, hastalarda yaklaşık %50 mortalite ile son derece tehlikelidir.⁷⁹

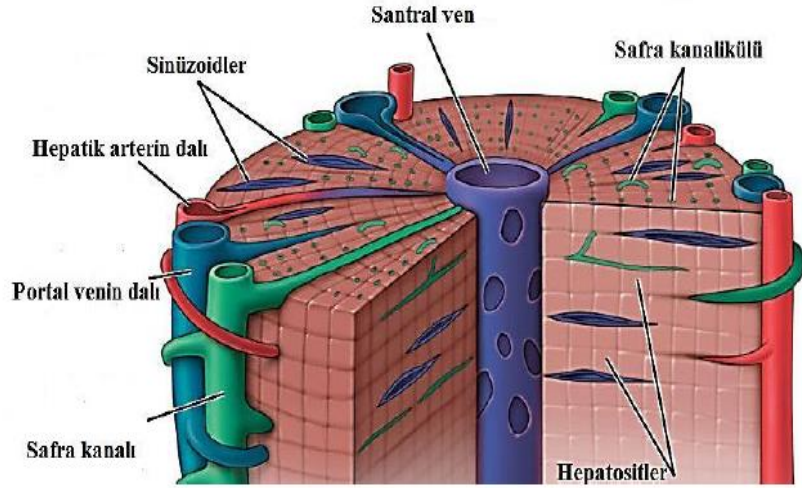
2.9. Karaciğer ve Karaciğer Toksisitesi

2.9.1. Karaciğer

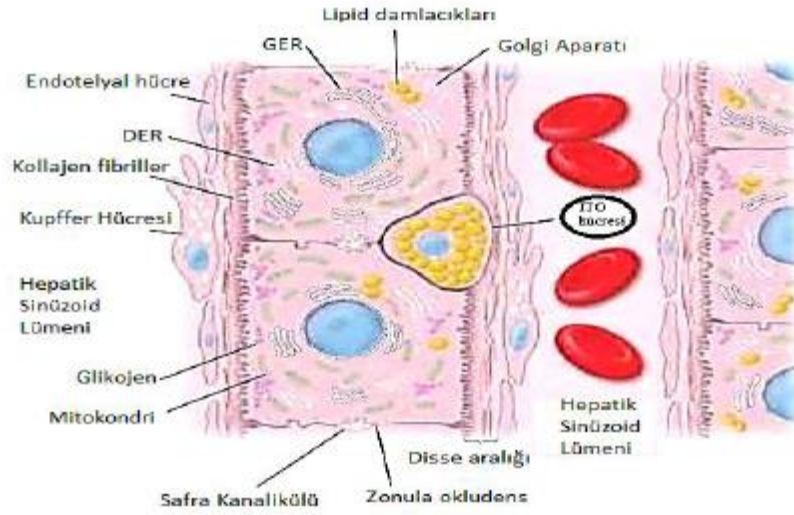
Karaciğer karın boşluğunun sağ üst bölümünde yer alan büyük bir parankimal organdır.¹⁰⁷ Erişkinlerde ortalama 1200-1500 gr arasında bir ağırlığa sahiptir ve vücut ağırlığının yaklaşık % 2'sini oluşturmaktadır. Karaciğerin üzeri kuvvetli fibröz bağ dokusu olan glisson kapsülü adı verilen bir zar ile örtülüdür.^{108,109} Bu yapı, karaciğerin şeklini koruduğu gibi karaciğer dokusunu lob ve lobüllere ayırır. Karaciğerin visseral ve diyafragmatik olmak üzere iki yüzü vardır. Diyafragmatik yüzü, üstte diyafragma aracılığı ile sağdan sola; sağ plevra ve sağ akciğer, perikard ve kalp, sol plevra ve sol akciğer ile komşudur. Visseral yüz sağdan sola; kolonun hepatik fleksurası, transvers kolonun sağ yarısı, safra kesesi, duodenum, solda mide ve özofagusla komşuluk gösterir.¹⁰⁸

Karaciğerin yapısal elemanları parankim, stroma, sinüzoidler (sinüzoidal kapiller) ve perisinüzoidal aralıklar (Disse aralıkları)'dır. Stroma, bağ dokusu yapısında olan ve glisson kapsülü ile paralellik gösteren bir yapıdır. Kan damarları, lenf damarları, sinirler ve safra kanalları bu yapı içerisinde ilerler. Sinüzoidler (sinüzoidal kapiller) hepatosit plakları arasındaki vasküler kanallardır.^{110,111} Sinüzoidler kesintili pencereci endotel hücreleri ve etrafında gevşek bir bazal laminadan oluşan retiküler liflerle çevrelenmiştir.^{112,113} Endotel hücreleri arasında karaciğerin makrofajları olarak bilinen Kupffer hücreleri yer almaktadır. Sinüzoidlerin sahip olduğu kesintili ve pencereci kapiller plazmanın sinüzoidler çevresinde yer alan perisinüzoidal aralık olan Disse

aralığına geçişinde önemli role sahiptir.¹¹³ Karaciğer dokusunun % 80'lik kısmını karaciğer parankimi oluşturur.¹¹² Karaciğer parankimini santral ven etrafına ışınsal olarak yerleşmiş karaciğer epitel hücreleri olan hepatositler oluşturmaktadır. Hepatositlerin sırayla yanyana dizilmesiyle hepatosit plakları oluşmaktadır.^{112,114} Klasik karaciğer lobülünün histolojik yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.¹¹⁵ Karaciğer sinüzoidleri arasında art arda dizilmiş hücre tabakaları şeklinde bulunan hepatositler genellikle merkezde bulunan tek çekirdeğe sahiptirler. Bazı hepatositler ise iki ya da daha fazla sayıda çekirdek içerebilirler.^{112,113} Hepatositler safra kanalikülleri içerisine safra tuzları, safra asitleri, yağ asitleri, elektrolitler, fosfolipitler, kolesterol ve bilirubinin karışımından oluşan safranın salgılanmasından sorumludurlar.¹¹³ Perisinüzoidal aralıklar (disse aralıkları) ise sinünüzoidleri döşeyen endotel hücre tabakasını ve hepatositleri birbirinden ayıran içleri sıvı dolu dar boşluklardır. Plazmanın içerisine aktığı bu boşluklar sinüzoidler ve hepatositler arasında madde alışverişinde rol almaktadırlar.^{110,112} Disse aralığında bulunan ito hücreleri, büyüme faktörleri, ekstraselüler matriks proteinleri ve çeşitli sitokinlerin salgılanmasında görevli görevlidirler ve sitoplazmalarında bulunan yağ damlacıklarında A vitamininin depolanmasında görev alırlar.¹¹² Karaciğer dokusuna ait hücreler ve hepatik sinüzoidlerin yerleşimi Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.¹¹⁶



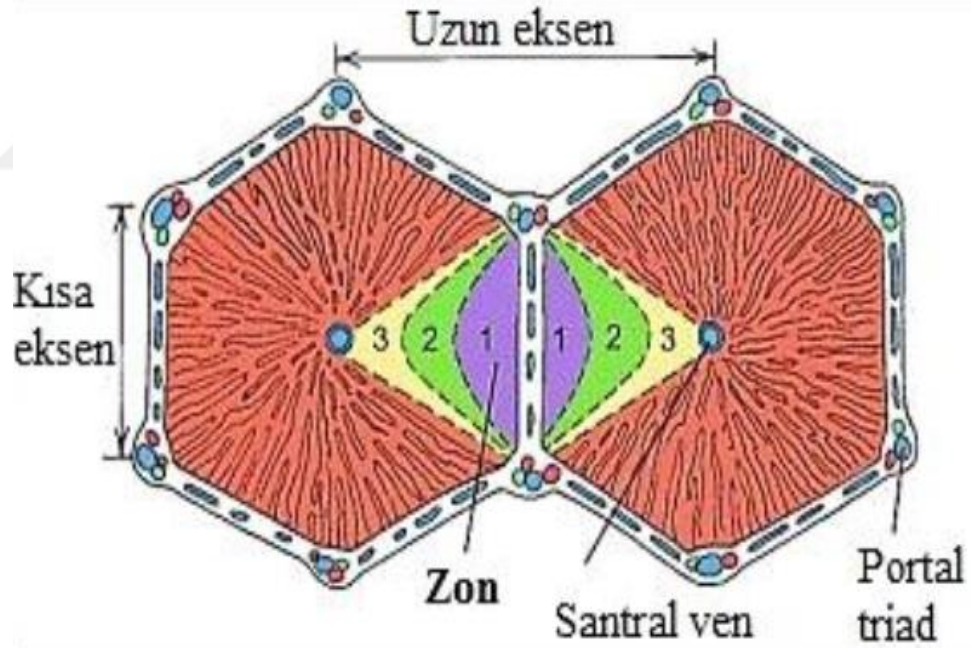
Şekil 2.2. Klasik karaciğer lobülünün histolojik yapısı



Şekil 2.3. Karaciğer dokusuna ait hücreler ve hepatik sinüzoidlerin yerleşimi

Karaciğer dokusu karaciğer asinüsü, klasik lobül (hepatik lobül) ve portal lobül olmak üzere üç lobül şeklinde incelenmektedir. Klasik lobül yapısı karaciğere giriş yapan portal ven ve hepatik arterin getirdiği kanın periferden merkeze ilerlerken izlediği yolu temel almaktadır. Daha çok karaciğerin sahip olduğu endokrin fonksiyonlar öne çıkar. Klasik lobülün yapısında hepatosit plakları sinüzoidler ile birbirinden ayrılmıştır ve lobülün merkezinde santral ven olarak adlandırılan bir venül yer almaktadır. Portal lobül yapısı karaciğerin sahip olduğu safra salgılama gibi ekzokrin işlevi ön plandadır. Portal

lobül yapısını oluşturan üçgen şeklinin dış kenarlarını bir portal vene en yakın konumda olan üç adet santral ven oluşturur. Safra akımı kan akımına ters yönde olacak şekilde hepatositlerden portal alana doğru geçer.¹¹⁴ Karaciğer asinüsü iki portal alana en yakın konumdaki santral venlere uzanan hepatositlerin oluşturduğu oval yapıdır. Hepatositler bu lobül yapısında üç zon halinde düzenlenirler. Hepatik arteriyole en yakın konumdaki hepatositleri içeren bölge Zon 1 olarak adlandırılır. Bu zon hepatik arteriole olan yakınlığından dolayı besin ve oksijen açısından en zengin kanın ulaştığı alandır. Santral venin yakınında yer alan hepatositlerin oluşturduğu alan Zon 3 olarak adlandırılır. Bu zondaki hepatositler yağ metabolizmasında ve ilaçların biyotransformasyonunda görev alır. Zon 3 ve Zon 1 arasında kalan alan ise sınırları tam belirli olmayan Zon 2 olarak adlandırılır.¹¹³ Şekil 2.4 te karaciğerde yer alan asinüsler ve zonlaşma gösterilmiştir.¹¹⁶



Şekil 2.4. Karaciğer asinüsü ve karaciğer dokusunda zonlaşma

Karaciğerin tüm işlevlerini üstlenmiş bir lobulus, karaciğer için bir fonksiyon birimi niteliğindedir.^{117,118}

Karaciğer portal ven ve hepatik arter olmak üzere ikili bir damar sistemine sahiptir.¹⁰⁸ Portal ven besin açısından zengin oksijenden yoksun kanı taşıyarak karaciğer

kan desteğinin %75'lik kısmını oluşturur ve kanı gastrointestinal sistemdeki organlar ile dalak ve pankreastan karaciğere taşır.¹¹⁹ Hepatik arter ise karaciğer kan desteğinin %25'lik kısmını oluşturan abdominal aortta yer alan çölyak arterden dallanır ve oksijen yönünden zengin kanı karaciğerlere iletir. Bu damarlar kanı, daha sonra karaciğer lobülleri içine dallanarak karaciğer sinüzoidlerine taşırlar.^{19,112} Kılcal damarlardan sonra oksijen açısından fakirleşmiş kan, alt ana toplardamara hepatik venler yolu ile drene edilir.¹²⁰ Porta hepatiste ayrıca karaciğerin sağ ve sol lobundan gelerek birleşen safra kanallarının oluşturduğu ana hepatik safra kanalı bulunmaktadır.¹⁰⁸

2.9.2. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğerin, vücudun hemen bütün sistemleriyle ilişkisi bulunan ve son derece karmaşık ve endokrin, ekzokrin ve metabolik olmak üzere vücut için oldukça önemli işlevleri bulunmaktadır. Karaciğerin karbonhidratların depolanması ve metabolizmalarının kontrolü, safra yapımı, keton birleşiklerinin yapımı plazma proteinlerinin sentezi, çeşitli ilaç ve zehirlerin detoksifikasyonu, üre yapımı ve bazı hormonların inaktivasyonu, yağ metabolizması, Kupffer hücreleri sayesinde bağışıklıkta yer alması gibi çeşitli fonksiyonları bulunmaktadır. Karaciğerin bu önemli fonksiyonları başlıca 3 grupta toplanabilir. Bunlar;

- 1.Kanın depolanması ve filtrasyonu ile ilgili vasküler fonksiyonlar.
- 2.Sindirim sistemiyle ilgili olarak safra yapımı ve sekresyonu fonksiyonları.
- 3.Tüm vücut dokularıyla ilgili olarak metabolik fonksiyonları.¹²¹

Plazma proteinlerinin büyük çoğunluğu da karaciğerde sentezlenmektedir, Karaciğer tarafından sentezlenen plazma proteinleri; albümin, fibrinojen ve globülinlerdir. Albümin plazma kolloid ozmotik basıncını koruyarak plazma ve doku sıvısı arasındaki dengeden sorumludur. Fibrinojen kanın pıhtılaşma mekanizmasında rol oynar. Globülinler ise plazmanın kolloid ozmotik basıncını dengelerler.¹¹⁴

Karaciğer aminoasitlerin glikoza dönüşüm süreci olan glikoneogenez aracılığıyla glikozun glikojen formuna dönüşümü sonucu elde edilen glikojenin glikolitik yollarla parçalanmasında rol almaktadır.^{113,114} Duedonumda yağların hidrolizi ve emilimi için safra üretimi gereklidir.¹¹⁴ Safra, emilim özelliğine ek olarak yağda çözülebilen atıkların vücuttan atılımında da rol oynar ve karaciğerde yapılmaktadır.¹¹³ Çeşitli organlarca yakıt olarak kullanılan keton cisimcikleri de yine karaciğer tarafından üretilmektedir. Proteinlerin ve nükleik asitlerin yıkımıyla açığa çıkan amonyum iyonları karaciğerde üretilen ure tarafından kullanılmaktadır. Karaciğerde üretilen ure karaciğer hücreleri tarafından difüzyon aracılığıyla vücut sıvılarına aktararak rumino hepatik azot dolaşımına sokulmakta tek midelilerde ise böbreklerden atılmaktadır.¹²² Karaciğer glikojen, trigliserit, A vitamini ve diğer yağda çözünen vitaminlerin depolanmasında da görevlidir.

Aynı zamanda karaciğer kan yoluyla karaciğere ulaşan ilaçlar ve toksinleri detoksifiye etme özelliğine sahiptir. Bu amaçla kan yoluyla gelen yabancı maddelerin Kupffer hücrelerince yakalanıp fagosite edilmesiyle gelişen fiziksel saldırı ilerleyen evrelerde biyokimyasal olarak devam eder. Yaşlanmış eritrositlerin ortadan kaldırılmasında da rol almaktadır.¹¹⁴

2.9.3. Karaciğerde Toksisite

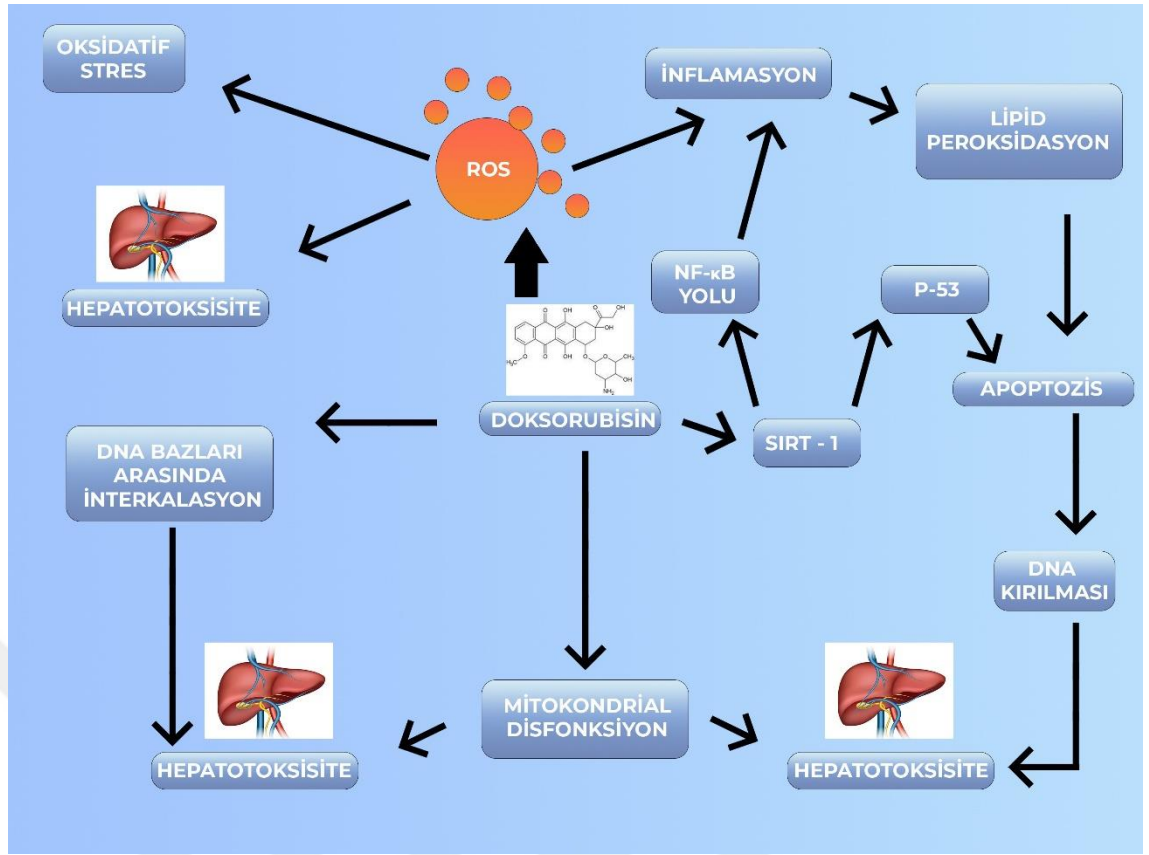
Karaciğer, DOX'un metabolizmasında ve eliminasyonunda önemli bir rol oynar. DOX birçok doku tarafından alınsa da, metabolizma ve eliminasyondan önce biriktiğinden karaciğer tarafından daha hızlı alındığı görülmektedir.^{123,124} Vücuda alınan DOX'un yaklaşık % 50'si vücuttan atılmadan önce değiştirilmemiş olsa da, çeşitli şekillerde parçalanır. DOX'un çoğu, karaciğerde iki elektronlu bir indirgeme ile doksorubisinole metabolize edilir; bu sürece esas olarak hepatik indirgeyici enzim karbonil redüktaz 1 olarak sağlar.^{2,125,126} Ek olarak DOX, bir yarı kinon serbest radikali oluşturmak üzere NADPH aracılığıyla sitokrom P-450 redüktaz tarafından bir elektron

indirgenmesine tabi tutulabilir.² Son olarak, reaktif DOX metabolitlerinin detoksifikasyonu, deoksiglikonlar oluşturmak için hepatik mikrozomal redüktazlar aracılığıyla gerçekleşebilir.^{124,127}

Yüksek dozlardaki DOX tedavi gören bireylerin yaklaşık %40'ında bir tür karaciğer hasarı meydana getirdiği bildirilmiştir.^{128,129} DOX alan hastalarda karaciğer hasarı, yüksek aminotransferaz seviyeleri, hiperbilirubinemi ve hepatik vasküler hasar şeklinde kendini göstermiştir.¹³⁰ DOX hepatotoksitesinin kemirgenlerde karaciğer hasarı, hepatosit dejenerasyonu, parankimal nekroz, biliyer kanalın proliferasyonu, santral vende tromboz ve karaciğer fibrozu şeklinde kendini gösterir.^{131,132} Doğrudan DOX kaynaklı hepatotoksositeye ek olarak, önceden karaciğer hastalığı olanlarda yüksek konsantrasyonun sonucu olarak oluşabilecek toksisite açısından daha büyük bir risk altındadır. Dolaşımdan hepatik ekstraksiyon hızı, hepatik kan akımı, hepatosit kütlesi ve hepatik fonksiyon tarafından belirlenir.¹²⁴ Genel olarak, karaciğer hastalığı, hepatosit disfonksiyonu ve gecikmiş atılım ve DOX'un yüksek plazma konsantrasyonları ile ilişkilidir, bu da sistemik toksisitenin artmasına ve karaciğer fonksiyonunun bozulmasına neden olur. Bilirubin seviyeleri baz alınarak değerlendirilen anormal karaciğer fonksiyonu olan hastalarda hasarın ciddiyetine bağlı olarak daha da azaltılmış DOX dozları almaları tavsiye edilir.¹²⁹ Karaciğer yüksek konsantrasyonlarda DOX'u metabolize ederek yüksek miktarda ROS üretir. DOX, karaciğerdeki metabolizması sırasında süperoksit ve peroksinitrit radikalleri üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle üretilen ROS, serum ALT ve AST gibi hepatik enzimlerin artmasına ve hepatik hasara neden olan lipid peroksidasyonuna neden olur. Bu enzimlerin düzeyi hepatotoksosite için biyobelirteç görevi görür.^{10,11} Artan ALT, AST ve ALP, hücresel geçirgenlikte artışa işaret eder ve bu da sitolojik bozukluklara yol açar. Bu enzimlerin artan miktarı karaciğer hasarını gösterir.^{10,12} Piruvat'ın laktata dönüştürülmesi, Laktat dehidrogenaz (LDH)

enzimi tarafından katalize edilir. LDH'ının salınması, DOX uygulamalarından sonra hücre hasarının önemli bir belirteci olarak ölçülmüştür.¹³³ Sonuç olarak, ROS, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, E vitamini seviyelerinde azalma ve azalmış GSH' ve oksidatif süreçlerde dengesizlik dâhil olmak üzere fazla miktarda hasara sebep olur.¹³⁴

Şekil 2.5. de DOX kaynaklı hepatotoksisitenin moleküler mekanizmaları temsil etmektedir. DOX metabolizması sırasında üretilen serbest radikaller, oksidatif stres, proinflamatuvar faktörler ve proapoptotik aktivasyonu ile sonuçlanır. İnflamatuvar sinyal, SIRT1'in DOX tarafından inhibisyonu yoluyla nükleer faktör kabba (NF- κ B) yolu üzerinde aktive edilir. ROS tarafından indüklenen inflamatuvar sinyal ve oksidatif stres, apoptoza yol açar. Öte yandan, üretilen ROS, serumda karaciğer hasarının bir göstergesi olarak hizmet eden yüksek seviyelerde karaciğer enzim biyobelirteçlerine yol açar. Sirtuin-1 (SIRT-1), nikodinamid adenin dinükleotit bağlı deasetilaz, DOX tarafından doğrudan inhibe edilir, bu nedenle p53 asetilasyon sürecine girer ve apoptotik yolun aktivasyonu ile sonuçlanır.¹³⁵



Şekil.2.5. DOX kaynaklı hepatotoksisitenin mekanizmaları

2.10. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidan sistem lehine bozulması, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal/ROS açığa çıkması sonucu organizmada hücrel hasar meydana gelmesidir. Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizmaları (antioksidan mekanizmalar) yetersiz kaldığında, hücrelerde oksidatif hasar gelişerek hücrel fonksiyonlarda önemli aksaklıklar meydana gelebilmektedir. Pek çok hastalığın patogeneğinde kritik bir öneme sahip olduğundan hastalığın şiddetini ve seyrini değiştirmektedir. Bu mekanizma, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, sepsis, dejeneratif nörolojik hastalıklar, infertilite, böbrek yetmezliği, kas ve karaciğer hastalıkları gibi birçok hastalığın etiyolojisinden sorumlu tutulmaktadır.¹³⁶⁻¹³⁸ Oksidatif stres sürecinde ROS kritik öneme sahiptir. ROS'lar hücrel cevap ve uyarı mekanizmalarında görev alırken, serbest radikaller sayısız

enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyon için gereklidir. Serbest radikaller vücutta dengede olduğu miktarı aştığında, yakın çevrelerindeki lipit, protein ve nükleik asitler gibi makromoleküllerle etkileşime girerek dengeli hale gelmektedir. Ancak bu esnada hücre yapı ve organallerinde bozukluklara neden olabilir.¹³⁹ ROS'lar, mutasyonlara ya da kansere neden olacak şekilde nükleik asit fonksiyonunun bozulmasında, geri dönüşümsüz DNA hasarı oluşmasında, enzim aktivitelerinde değişikliklere, proteinlere zarar vererek organizmada çok sayıda hasara neden olmaktadır.^{140,141} ROS temelde oksidasyon yeteneğine sahip sağlıklı hücre metabolizmasının türevleri olarak bilinmektedir. Birçok sinyal yolunda ikincil haberciler olarak hareket etmektedir. ROS düşük miktarlarda hücre metabolizma için çok önemlidir, fakat yüksek miktarlarda hücre için aşırı oksidatif stres yaratabilir ve ölümcül olabilir. Bu nedenle hücreler, ROS seviyelerini, varlığını sürdürmesini etkilemeyecekleri ölçüde dengede tutmak için çeşitli mekanizmalara sahiptir.^{141,142} Antioksidan enzimler serbest radikalleri indirgeyerek oluşacak hasarı önlemede rol oynar.¹⁴³ Bunlar serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek aktivitelerini azaltır veya serbest radikalleri kendilerine bağlayarak etki gösterirler.¹⁴⁴ ROS'un azaltılmasında rol oynayan en önemli enzimatik antioksidanlar SOD, GPx ve KAT'dır.^{140,145,146} NADPH, elektronlarını glutatyon redüktaz aktivitesi için vererek hücrelerdeki GSH düzeylerinin korunmasına katkı sağlar.¹⁴⁷ ROS'lar özellikle hücre membranındaki doymamış yağ asitlerine etki ederek lipit peroksidasyonunu oluşturmaktadırlar. Lipit peroksidasyonu serbest radikaller tarafından başlatılan membran yapısındaki yağ asitleri zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlayarak membrandaki lipit yapısını değiştiren kimyasal bir zincir reaksiyonudur.^{141,142} Üç ve üçten fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla lipit peroksidasyonun en önemli göstergelerinden malondialdehit (MDA) oluşur.¹⁴⁸ MDA deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey

bileşenlerinin kümeleşmesi gibi zar özelliklerinde değişimlere yol açmaktadır.¹⁴⁹ Lipit peroksidasyona karşı oluşan korunma mekanizmasında GPx ve KAT birincil antioksidan enzimler olarak bilinirler.¹⁵⁰ GPx aracılığıyla lipit hidroperoksitlerin ve hidrojen peroksitin indirgenmesi sağlanır.^{150,151} KAT ise başta karaciğerde ve eritrositlerde olmak üzere bütün organlarda bulunan ve SOD aracılığı ile oluşan hidrojen peroksitin oksijen ve suya parçalanmasında GPx ile birlikte etkiyen önemli bir enzimdir. Oksidatif strese bağlı olaylarda GPx ve KAT aktivitelerinde değişimlerin olduğu bildirilmektedir.¹⁵²

GSH enzimatik olmayan antioksidan özellikte olan oksidatif hasara ve serbest radikallere karşı etkinlik gösterip direkt reaksiyona girerek serbest radikallerin toksisitelerini azaltmaktadır. GSH, hücrelerde aminoasit transportunda, DNA ve protein sentezinde önemli fonksiyonlara sahiptir.¹⁵³

2.11. İnflamasyon

İnflamasyon, canlı dokunun her türlü canlı, cansız yabancı etkene veya içsel/dışsal doku hasarına verdiği sellüler (hücresel), humoral ve vasküler bir seri yanıttır. Vücut inflamatuvar yanıtla, ölü dokuları ve hücreleri hasar oluşan alandan uzaklaştırır. Zarar gören dokuyu onarmanın yanında bunun nedenini ortadan kaldırması için çeşitli savunma mekanizmaları gelişmektedir.¹⁵⁴ Lökositler, inflamasyonun başlıca hücresel araçlarıdır. İnflamasyon histolojik olarak, dolaşımdaki lökositlerin vasküler sistemden dışarıya taşınmasına bağlı olarak etkilenen dokuda birikmesi ile karakterizedir. Lökosit bu süreçte aktif olarak bulunur ve sitokinler ile vasküler endotel tarafından kontrol edilmektedir.¹⁵⁵ İnflamasyonda monositin ve granülositin inflamasyon bölgesine aşırı miktarda göçü neticesinde bölgedeki doku hücreler şişmektedir. Bu olaylar dizisinde histamin, bradikinin, serotonin, prostaglandinler, pıhtılaşma sisteminin ve kompleman sisteminin reaksiyon ürünleri, T hücrelerinden salınan lenfokinler gibi maddeler yer alır. Bu maddelerin büyük çoğunluğu, kuvvetli bir şekilde makrofaj sistemini aktifleştirerek

hızlıca hasar gören dokuyu parçalar. Bazı zamanlarda bu sistem sonucunda makrofajlar normal canlı doku hücrelerine de zarar verebilmektedir.¹⁵⁶ Sitokinler inflamasyon dengesinde çok önemli yere sahip proteinlerdir. Antijenlere ve patojenlere karşı immün sistemin oluşturduğu ve immün yanıtın düzenlenmesine de görev alan önemli immünmodulatorlerdir. Sitokinler T ve B lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri gibi immün cevabın düzenlenmesinde görev alan hücrelerden salınabildiği gibi, non-immün hücrelerden de salınmaktadır.¹⁵⁷

İnterlökin-1beta (IL-1 β), çeşitli hastalıkların patogeneğinde proinflatuar etkisi olan, vücudun genel tüm dokularında inflamatuvar cevabın indüklenmesini sağlayan çok güçlü bir sitokin üyesidir. Dokuda bol miktarda bulunan IL-1 β mononükleer hücrelerde ve fibroblastlarda, lenfosit, makrofaj ve nötrofillerde sentezlenmektedir.¹⁵⁸ IL-1 β , iltihabi durumlarında, ağrı varlığında ve otoimmün hastalıklarda önemli bir rolü olan proinflatuar sitokin olarak bilinmektedir.¹⁵⁹

Tümör nekroz faktör- α (TNF- α), polipeptit yapıya sahip kaşektin olarak adlandırılan sitokin ailesi üyesidir.¹⁶⁰ Temel olarak lipit metabolizmasında görev alır. Aynı zamanda insülin direncinde koagülasyon gibi birçok görevi bulunmaktadır. Tümör hücrelerini etkilemekle birlikte immün cevap oluşumunda prohormon olarak membranla bütünleşmiş halde bulunmaktadır. TNF- α makrofaj ve lenfosit gibi savunma hücrelerinde sentezlenmektedir.¹⁶¹ TNF- α ve IL-1 β gibi lipopolisakkarit (LPS) tarafından indüklenen proinflatuar sitokinlerin, inflamatuvar hastalıkların sürecinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Bu nedenle de bu inflamatuvar mediyatörlere müdahale etmek pek çok inflamatuvar hastalığın tedavisinde önemli bir hedef olarak görülmektedir.¹⁶²

İnterferonlar, immün sistem düzenleyici fonksiyonlara sahip sitokin ailesi üyesindendir. İnterferon gamma (IFN- γ) alloantijenler, makrofajları aktive edici faktör olarak ta bilinen sitokin ailesinin bir üyesi olan proteindir. IFN- γ , az miktarı sitoksik

lenfositler ve Natural killer (NK) hücreleri tarafından, daha fazla miktarı ise Th1(T-helper1) hücreleri tarafından sentezlenerek, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinde önemli görevleri mevcuttur. IFN- γ sinyali, doğal bağışıklık hücrelerini aktive etme işlevine ek olarak, T hücresi gelişiminde de rol oynamaktadır.¹⁶³

İnterlökin-6 (IL-6) T hücrelerin farklılaşması ve aktivasyonu üzerine etkilidir. IL-6 en çok bilinen en önemli sistemik etkisi C-reaktif protein başta olmak üzere akut faz proteinlerine olan etkisidir. IL-6 hepatositlerin stimülasyonu yoluyla akut faz proteinlerinin sentezini sağlamaktadır.¹⁶⁴ IL-6'ın hücre siklusunun devamı ve apoptoz inhibisyonunda yeri olduğu bilinmektedir. Otoimmün hastalıklar ile kanser gibi hastalıkların patogeneğinde IL-6 üretiminde bozuklukların da etkisi mevcuttur.¹⁶⁵

Nükleer faktör- κ B (NF- κ B), çeşitli hücre fonksiyonlarını düzenleyen çok sayıda geni kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür.¹⁶⁶ NF- κ B proteini κ B İnhibitör (IkB) proteini ile bağlanmış, sitoplazma içerisinde inaktif şekilde bulunmaktadır. Gelen bir uyarı halinde, IkB kinaz proteini IkB molekülünün fosforile edilmesini ve NF- κ B proteininin, IkB proteininden ayrılıp sitoplazmadan çekirdeğe taşınmasını sağlamaktadır. NF- κ B başta inflamasyon olmak üzere, apoptozis ve hücre proliferasyonunda önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür.¹⁶⁷

İnterlökin 4 (IL-4), T-helper 2 (Th2) sitokinlerinin prototipik bir üyesidir ve güçlü antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini ve etkisini azaltır.^{168,169}

İnterlökin 10(IL-10), Th2 hücreleri tarafından üretilen ve Th1'in aktive etmiş olduğu pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eden sitokindir.¹⁷⁰ IL-10'un kendisi proinflamatuvar yanıtları baskılayarak inflamasyonun neden olduğu doku hasarını önleyebilir.¹⁷¹

Peroksizom proliferatörü sayesinde aktif duruma gelen reseptör peroksizom proliferatör-aktif reseptör gama (PPAR- γ), nükleer hormon reseptörü süper ailesine ait olan, ligandla aktive olan bir transkripsiyonel faktör olarak bilinir. PPAR- γ 'nın, bağışıklık tepkileri, redoks dengesi, yağ asidi oksidasyonu, glikoz homeostazisi, gibi çeşitli sinyal ağlarında birçok genin ekspresyonunu veya aktivitesini etkilediği bilinmektedir.¹⁷²

İnterferonlar, antiproliferatif etki gösterdiği bilinmektedir. Bu ailenin üyesi olan IFN- γ öncelikle Th1 hücreler tarafından sentezlenmekle birlikte daha az oranda NK hücrelerince de üretilebilir. Doğal ve kazanılmış bağışıklıkta rolleri vardır.^{173,174} IFN- γ , tümör oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir, tümörlere karşı konak cevabı artırır ve tümör hücrelerinin immün saldırıdan kaçmayı kolaylaştıran yanıtları düzenlemektedir.¹⁷⁴ Sürekli olarak yüksek seviyede IFN γ üretimi, önemli antitümör etki gösterir.¹⁷⁶

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından L-arginin'den üretilir. NOS'un iki fonksiyonel sınıfa ayrılabilen üç farklı izoformu vardır. Bir grup endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ve nöronal nitrik oksit sentaz'ı içeren oluşturu sınıf, diğer grup ise indüklenebilir nitrik oksit sentaz(iNOS) adı verilen indüklenebilir formdan oluşur.¹⁷⁷ NOS izoformlarının insan tümör hücre hatlarında ve solid tümör dokularında mevcut olduğu bildirilmiştir. eNOS, kalsiyum (Ca^{2+}) bağımlı bir enzimdir ve ilk olarak vasküler endotel hücrelerinde bulunmuştur. eNOS'un kan basıncı, trombosit agregasyonu, lökosit aderansı ve vasküler düz kas hücre mitogenezi ve anjiyogenezi regüle ettiği gösterilmiştir.¹⁷⁸

2.12. Apoptozis

Apoptozis ya da programlanmış hücre ölümü, önemli bir doku homeostasisi olan ve normal organ involüsyonu, immün yanıt ve embriyogenez dâhil olmak üzere birçok biyolojik süreçlere katılan fizyolojik hücre ölümünün organize edilerek düzenlenmesi

şeklidir. Apoptozis, nekrotik hücre ölümlerinden farklı olarak morfolojik nükleer değişimlerle nitelendirilebilir. Apoptoz, hücrenin büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, DNA'nın parçalanması, zarın kabarması ve makrofajlar tarafından hızla fagositoza uğrayan apoptotik maddelerin oluşumu ile aktif, yüksek seviyede programlanarak düzenlenmektedir. Apoptozis kontrolün kaybının hastalık patogenezinin temelini oluşturabileceğinin bilinmesi, apoptoz planlanması veya indüksiyon alanlarında çok fazla araştırmayı teşvik etmiştir. Hücrel apoptoz, ekstrinsik ve intrinsik mekanizmalar tarafından tetiklenen karmaşık bir süreçtir. Ekstrinsik yol, ligandların bağlanması üzerine bir ölüm reseptörünün aktive edilmesi, proteinlerin karışması ve bir dizi protein-protein etkileşimleri aracılığıyla sinyalleşmesini içermektedir. İntrinsik yol mitokondriyi ve proapoptotik faktörlerin sitozole salınarak kaspazlarının aktivasyonunu içeren kompleks bir süreçtir.¹⁷⁹

Düşük seviyelerde ROS hücre sinyalizasyonuna katılırken, yüksek ROS konsantrasyonları proteinlerin, lipidlerin ve DNA'nın oksidasyonu sebebiyle zararlıdır. Bununla birlikte kalıcı ROS üretimi, hücrel antioksidan savunma sistemlerini etkileyerek apoptoz ile sonuçlanır. ROS, mitokondriyal ve ölüm reseptörü aracılığıyla apoptosisi başlatabilir. ROS'un mitokondriyal proapoptotik proteinlerin yeniden salınmasını ve kaspaz-3'ün aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir.¹⁸⁰ ROS sinyalinin sitokin kaynaklı apoptoza aracılık ettiği gösterilmiştir. Tümör nekroz faktör(TNF), makrofajlar tarafından üretilen proinflamatuvar bir sitokindir, apoptozda ve nörodejeneratif bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde en çok çalışılan sitokindir. TNF'in reseptörüne bağlanması, ROS'un aracılık ettiği bilinen NF-KB sinyalleşme yolunu aktive eder. Bu sinyal yolları daha sonra alt birimlerdeki proteinleri ve molekülleri aktifleştirerek kaspazları harekete geçirmektedir. Hem oksidatif strese

hem de inflamasyonda bu durum geri dönülmez apoptozis sürecinin başlatılmasına sebep olacaktır.¹⁸¹

Bcl-2 protein ailesinin üyeleri (Bcl-2, Bax, Bak), apoptotik hücre kaybının önemli düzenleyicilerindendir.¹⁸² Bir hücrenin apoptoza eğilimi olması Bcl-2 ailesi genlerinin heterodimer veya homodimer formuna bağlıdır. Bcl-2 ailesi birbirine zıt proapoptotik ve antiapoptotik üyelerden oluşur. Hücrede proapoptotik proteinler daha fazla ise hücre apoptoza eğilimlidir. Antiapoptotik proteinler daha fazla ise hücre apoptoza daha az eğilimlidir.¹⁸³ Proapoptotik üyeler Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa'dır. Bu proteinler hücrede sitozolde yer alırlar. Sitokrom-c ve apoptoz inhibe edici faktör (AIF) salınımını artırıp apoptozu indükler. Antiapoptotik üyeler ise Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1'dir. Bu proteinler de mitokondri dış membranında, çekirdek zarında ve endoplazmik retikülümde yer alırlar. Por oluşumunu sağlayıp iyon geçişi düzenlerler. Özellikle hücrede Ca^{2+} oranını kontrol ederler. Ayrıca kaspazların öncü formlarıyla AIF ve sitokrom-c salınımını durdurarak apoptozu inhibe ederler.¹⁸³⁻¹⁸⁵ Çalışmalar, DOX'un Bcl-2/Bax oranını azalttığını, kardiyomiyositlerin apoptozu tetiklediğini göstermiştir.^{186,187}

Apoptosizin başlatılmasında en kritik rolü kaspaz ailesi oynamaktadır.^{188,189} Kaspazlar, sistein proteazlardır ve aspartik asitten sonraki peptid bağı kırarlar. Hücrede inaktiftirler, ancak proteolitik olarak birbirlerini aktiveleştirirler. 100 farklı hedefteki proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspazlar, başlatıcı kaspazlar (Kaspaz 2,8,9,10), efektör kaspazlar (Kaspaz 3,6,7) ve inflamatuvar kaspazlar (Kaspaz 1,4,5,11,12,13,14) olarak 3 gruptan oluşmaktadırlar. DNA replikasyonu için gerekli enzimleri inaktive ederler. Hücre iskeleti proteinlerini keserek hücre zarının tomurcuklanmasına neden olurlar.^{183,185}

Siklooksijenaz (COX), prostaglandinleri üreten araşidonik asit kaskadındaki hız sınırlayıcı enzimdir.¹⁹⁰ COX'in iki izoformu vardır. Siklooksijenaz-1 (COX-1), hemen

hemen tüm dokularda yapısal olarak ifade edilir ve homeostazın sürdürülmesinde rol oynar. Aksine, Siklooksijenaz-2(COX-2), mitojenler, büyüme faktörleri ve sitokin dâhil olmak üzere inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak indüklenir. Artan kanıtlar, COX-2 düzeylerinin karaciğer, kolon, prostat, safra kesesi, akciğer, deri ve jinekolojik kanser gibi çeşitli malignitelerde yükseldiğini göstermiştir. Bilinen çalışmalar, rahim ağzı kanserinde aşırı eksprese edilen COX-2'nin lenf nodülü metastazı ve radyasyon tedavisi ve kemoterapiye direnç ile ilişkili olduğunu göstermiştir.¹⁹¹

2.13. DNA Hasarı

DNA sürekli olarak çevresel faktörlerin etkisi altındadır. Gen materyalinin endojen ve eksojen kaynaklı etkilerle genetik materyalin yapısında meydana gelen her türlü değişiklikler DNA hasarı ismini alır. Bu yüzden DNA sürekli bir tehdit altındadır. Hücresel yaşam döngüsünde meydana gelen mutasyonlar kanser, erken yaşlanma, bağışıklık sistem baskılanması ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. İyonize radyasyon, yüksek oksijen yoğunluğu, radikal zincir reaksiyonuna uğrayan kimyasallar DNA'da hasara neden olabilmektedir. Özellikle ROS'lar DNA hasarına neden olurlar.¹⁹⁰ ROS kaynaklı 20 çeşitten fazla bazın hasarı sonucu DNA hasarı şekillenmektedir. Bu bazların en önemlisi 8-hidroksideoksiguanosin(8-OHdG), oldukça duyarlı ve oksidatif stres artışı ile paralel olarak artan ve yarılanma ömrü de oldukça kısa olan oksidatif DNA hasarı parametresidir.^{192,193} ROS'lar DNA içerisinde guanini hedef alır.^{194,195} Guanin bazı DNA bazları içerisinde yapı bakımından zayıf ve oksidasyona eğilimli baz tipidir. 8-OHdG, DNA yapısında hidroksil radikeli ile reaksiyona girerek DNA ürün radikali olan 8-OHdG'e okside olmaktadır. DNA replike olurken baz değişimleri aşamasında mutasyon olasılığını arttırmaktadır.^{192,193} Bu yüzden DNA'da ortaya çıkan hasarın belirlenmesinde en çok çalışılan yöntemlerden biri olmuştur. Çeşitli kimyasal maddelerin de 8-OHdG seviyelerinde artışa neden olduğu bilinmektedir. Etil alkol, asbest ve sigara

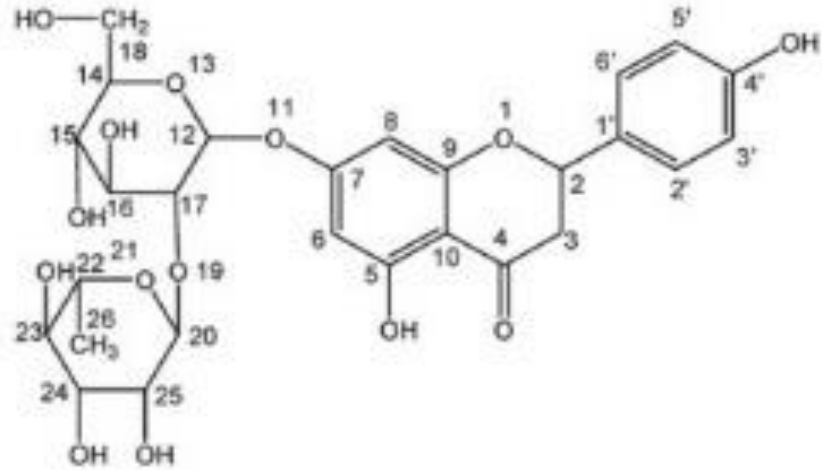
gibi maddelerinde deneysel olarak uygulanması 8-OHdG düzeyinde artışa neden olmaktadır.¹⁹⁵ DNA'daki oksidatif hasarı belirlemede 8-OHdG ölçümü önemlidir. 8-OHdG insan ve hayvanlarda serum, idrar ve dokularda tespit edilebilir.¹⁹⁶ Yaşa bağlı olarak böbrek, karaciğer ve barsak dokularında, yaşla birlikte artan dejeneratif hasar ve organ fonksiyonlarında ki azalmalar sonucu 8- OHdG düzeyinde artış görülebilmektedir. Oksijen tüketiminin en yüksek olduğu dokularda 8-OHdG düzeyi oldukça yüksektir. Deney hayvanlarında C-E vitamini, beta karoten ve selenyum gibi antioksidanların girişlerde 8-OHdG düzeylerinde azalma görülmüştür.¹⁹⁷

2.14. Naringin

NA (4',5,7-trihidroksi flavon 7-ramnoglukozid), üzüm ve birçok turuncgil meyvesinin temel ve aktif flavanon glikozitidir.^{24,25} Flavonoidler, turuncgiller başta olmak üzere meyvelerde, yağlı tohumlarda, sebzelerde, çaylarda, kahvelerde yaygın olarak bulunmaktadır. Flavonoidler, bir benzo- γ -piron yapısına sahip büyük bir polifenolik bileşiklerdir ve fenilpropanoid yolu ile sentezlenmektedirler. Flavonoidlerin kimyasal yapısı heterosiklik bir piran halkası ile bağlanmış iki benzen halkasından oluşmaktadır. Polifenol bileşiklerin sekonder metabolitleri olup oksidasyon düzeylerine göre flavonlar, flavanonlar, flavonoller, izoflavonoidler, neoflavonoidler, antosiyanidinler ve kalkonlar gibi alt sınıflara ayrılmaktadırlar. Flavonoidlerin çeşitli sınıfları oksidasyon seviyesi ve piran halkasının ikame modeli açısından farklılık gösterirken, bir sınıf içindeki tek tek bileşikler iki benzen halkalarının ikame modeli açısından farklılık göstermektedir. Temel flavonoid yapısı aglikondur. Benzen halkası ile kondenze olmuş altı üyeli halka, ya bir a-piron (flavonoller ve flavanonlar) ya da onun dihidro türevidir (flavonoller ve flavanonlar). Benzenoidin konumu, flavonoid sınıfını flavonoidlere (2-konum) ve izoflavonoidlere (3-konum) ayırmaktadır.¹⁹⁸ Flavonoidler genellikle 3, 5, 7, 2, 3', 4' ve 5' pozisyonlarında hidroksillenmektedirler. Glikozitler

oluştduğunda, glikozidik bağ normalde 3 veya 7 pozisyonlarında bulunmakta ve karbonhidrat L-ramnoz, D-glukoz, ramnoz, galaktoz veya arabinoz olmaktadır. Flavonoidlerin sahip oldukları antioksidan aktivitelerinin hidroksil gruplarının sayısı ile ilişkilidir. Flavonoidlerin antiinflamatuvar aktivitesi, serbest radikallerin temizlenmesi ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu ile ilişkilidir.¹⁹⁹

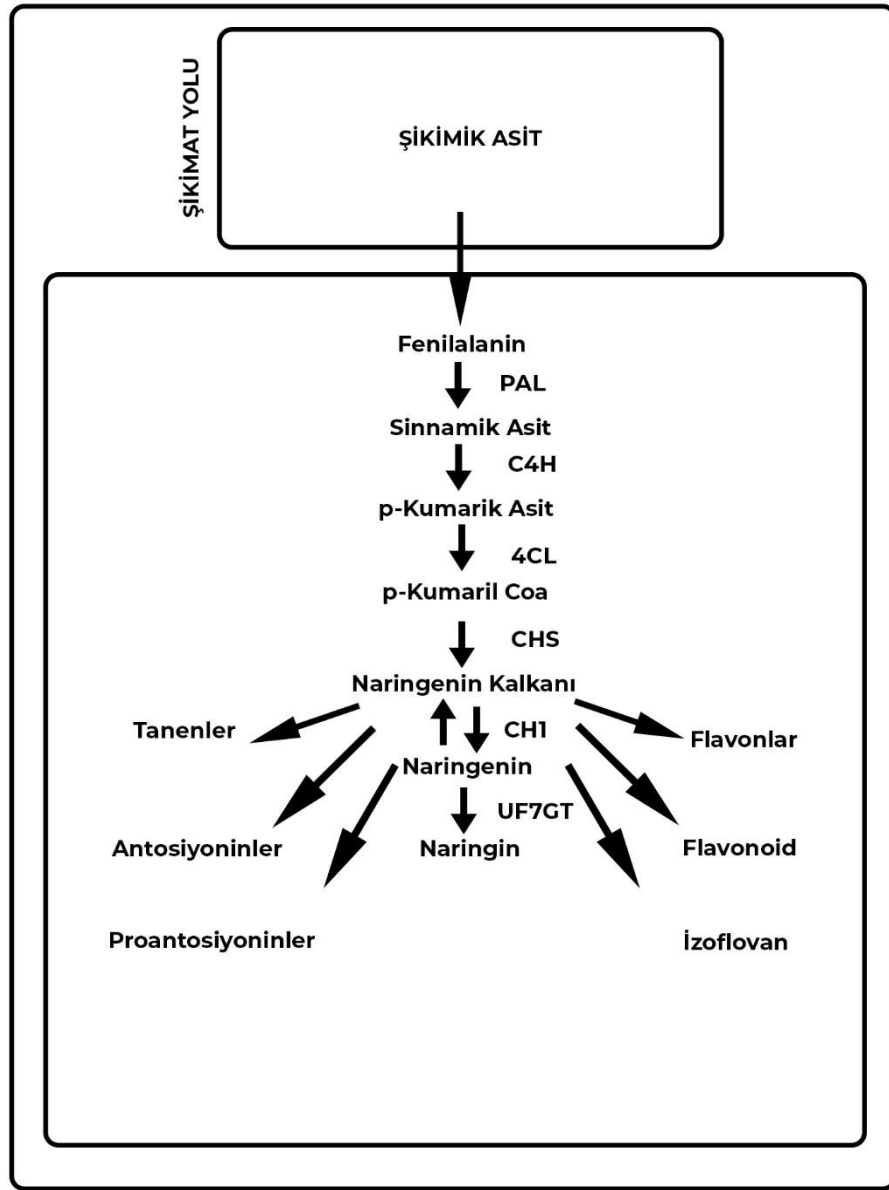
NA, moleküler formülü $C_{27}H_{23}O_{14}$ ve moleküler ağırlığı 580,54 g/mol'dür. NA yaklaşık olarak % 90'lık kısmı meyvenin albedosunda ve dilimlerinin zarında yer almaktadır. Erime noktası $166^{\circ}C$ 'dir ve su ile alkolde çözünmektedir. Bağırsak mikroflorası, NA'yı aglikon naringenine ayırarak bağırsaktan emilimine olanak sağlamaktadır.²⁰⁰ NA'nın kimyasal yapısı Şekil 2.5.'de sunulmuştur.²⁰¹



Şekil 2.6. NA'nın kimyasal yapısı

Fenilpropanoid yolu ile NA'nın biyosentezi, şikimat yolunun son ürünü olan fenilalaninle başlamaktadır. İlk olarak fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) aracılığı ile fenilalaninin sinamik asite dönüşmektedir. Sonrasında sinamik asidin p-kumarata dönüşümünü katalizleyen sinamat 4-hidroksilaz (C4H) ile p-kumarat oluşumudur. Daha sonra 4-kumarat CoA-ligaz (4CL) yoluyla p-kumarat, p-kumaroil CoA'ya metabolize olmaktadır. Kalkon sentaz (CHS) ve kalkon izomeraz (CHI) enzimleri,

fenilpropanoidlerin flavonoid biyosentezine bölünmesini katalize etmektedir. P-kumaroil CoA sentezine giden yol fenilpropanoid yoldur. Kalkon sentaz (CHS) ve kalkon izomeraz (CHI) enzimleri, fenilpropanoidlerin flavonoid biyosentezine bölünmesini katalize etmektedir. Ayrıca, üridin difosfoglukoseflavanon 7-O-glukotransferaz (UF7GT) aracılı kataliz, çeşitli metabolitlerden oluşan bir grup oluşturur. Fenlpropiyonat yolu sonrası naringenin, izoflavonoidler, proantosiyanidinler, stilbenler, flavonoller ve antosiyaninler şeklinde dönüşmektedir. Şekil 2.7.'de NA biyosentezi gösterilmiştir.²⁰²



Şekil 2.7. NA biyosentezi

NA, bağırsak bakteriyel naringinaz enzimi tarafından hidrolize edilerek iki ara ürün olan naringenin (4',5,7- trihidroksiflavonon) ve ramnoz'u oluşturmaktadır. Naringenin bağırsak yolu tarafından hızlı ve kolayca emilmekte ve yine dolaşımda hızla biyolojik olarak kullanılabilir hale gelmektedir. Hızlı emilimi sayesinde NA'nın farmakolojik olarak en etkin formudur.²⁰³ NA oral alımından sonra, periferik kan ve idrarda naringenin konsantrasyonları önemli miktarda bulunmuştur.²⁰⁴

NA birçok hastalığın profilaksisinde ve tedavisinde kullanılmaktadır.^{204,205} NA'nın antiinflamatuvar, antioksidan, antikanserojen, nöroprotektif, antitiroid etki olmak üzere olumlu etkileri pek çok in vivo ve in vitro çalışma ile kanıtlanmıştır.²⁰⁶

Son araştırmalar, NA'nın artan diyet tüketiminin meme kanseri ve akciğer kanserleri gibi belirli kanser riskinin azaltılması ile ilişkisinin olduğunu göstermiştir.²⁰⁷ Ayrıca, in vivo ve in vitro çalışmalardan elde edilen bulgulara göre NA'nın kolon kanseri hücrelerini, idrar kesesi kanseri hücrelerini, insan meme kanseri hücrelerini ve insan rahim ağzı kanseri hücrelerini baskıladığını göstermiştir.^{208,209} NA'nın tümör büyümesi inhibisyonu ve apoptoz indüksiyonu üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar yapılmıştır.²⁰⁹

NA, makrofajlarda LPS ile indüklenen iNOS ekspresyonunu ve NO'yi inhibe etmiştir.²¹⁰ NA'nın, rat modelinde oksidatif stresi ve inflamasyonu modüle ederek nörodejenerasyonu hafiflettiği de ortaya konmuştur.²¹¹ Kronik bronşit kobay modelinde, NA'nın bronkoalveolar lavaj sıvısındaki IL-8 aktivitesini azaltarak ve akciğer dokusunda SOD aktivitesini ve bronkoalveolar lavaj sıvısındaki lipoksin A4 seviyesini artırarak antiinflamatuvar ve antioksidan etkiler gösterdiği bildirilmiştir.²¹² Araştırmacılar, NA'nın, IL-1 β , IL-6, TNF- α , COX-2 ve NF- κ B gen ve protein ekspresyonunu aşağı regüle ederek antiinflamatuvar etki sergilediğini ifade etmişlerdir.²¹³

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın tüm deneysel uygulamaları ve aşamaları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (ATADEM) ile Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Patoloji Anabilim Dalı ve Veteriner Fakültesi Veteriner Teşhis ve Analiz laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 16.04.2020 tarih ve 75296309-050.01.04-E.2000106287 sayılı yazısında belirtilen Etik Kurul Raporunun 52 no'lu kararı ile onaylandı.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Doktora tez çalışması kapsamında ticari olarak alınan kimyasal maddeler ve çözücüler analitik saflıkta olup Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deneysel çalışmada kullanılan kimyasal ajanlar.

Kimyasal İsmi	Marka
Dokсорubisin	Saba
Naringin	Acros

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada, ratlarda tek doz DOX (40mg/kg, i.p)²¹⁴ ile indüklenen hepatotoksisite modelinde çalışıldı ve belirlenen gruplara NA'nın iki farklı dozunun (50 ve 100 mg/kg, intragastrik (i.g.), 10 gün)²¹⁵ uygulamasının olası koruyucu etkileri araştırıldı. Araştırmamızda ortalama 250-300 g ağırlığında 12 haftalık yetişkin Sprague Dawley cinsi erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları ATADEM'den temin edildi. Ratlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 25°C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilerek ad-libitum olarak beslenildi. Yeterli doku örneklerinin sağlanabilmesi için her bir grupta

10 erkek ratın bulunduğu 5 deney grubu oluşturuldu ve deney grupları aşağıdaki gibidir.

Tablo 3.2. Deney grupları ve gruplarda kullanılan deney hayvanı sayıları.

Grup sayısı	Grup isimleri	Hayvan Sayıları
Grup 1	Kontrol	10
Grup 2	DOX	10
Grup 3	NA50+DOX	10
Grup 4	NA100+DOX	10
Grup 5	NA100	10

3.3. Deney Gruplarında Doksorubisin ve Naringin Uygulaması

Grup 1'e 10 gün boyunca i.g. 1 ml distile su, Grup 2'ye 10 gün boyunca intragastrik 1 ml distile su verildi ve uygulamanın 8. günü tek doz i.p. DOX (40 mg/kg) enjekte edildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca 50 ve 100 mg/kg dozlarında i.g. NA uygulandı ve bu gruplara NA uygulamasının 8. günü i.p. DOX (40 mg/kg) enjekte edildi. Grup 5'e ise 10 gün boyunca 100 mg/kg dozunda i.g. NA uygulaması yapıldı. Deneysel uygulamalar sonunda ratların canlı ağırlık tartımlarından sonra ketamin-ksilazin anestezisi altında intrakardiyak kan örnekleri ile servikal dislokasyonu takiben karaciğer dokuları alındı. Karaciğer dokuları tartıldıktan sonra karaciğer dokularının bir bölümü histopatolojik, immunhistokimyasal ve immunfloresan incelemeler için serum fizyolojik ile yıkamayı takiben hemen formaldehit içine alındı. Karaciğer dokularının kalan bölümü ise serum fizyolojik ile yıkamayı takiben hemen sıvı azota atılarak donduruldu. Sonrasında bu dokular, biyokimyasal analiz çalışmalarına kadar -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.4. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması

Ratlardan alınan kan örnekleri jelli tüplere aktarılarak +4°C'de soğutmalı

santrifüjde 3500-4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri eppendorf tüplerine aktarıldı ve analizler yapılana kadar -80 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Serum örneklerinde ALP, ALT, AST ve LDH parametrelerinin analizleri Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Teşhis ve Analiz Laboratuvarı'nda otoanalizörde (RanDOX Monaco-United Kingdom) analiz edilerek değerlendirildi.

3.5. Biyokimyasal Analizler

-80°C' de muhafaza edilen karaciğer dokularından 100 mg örnek alınarak kapaklı tüplere alındı ve Fosfat tampon (PBS) ile 1/20 oranında sulandırılarak Magna Lyser (Roche) homojenizatör ile 90 saniye 6000 devirde homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi tamamlandıktan sonra homojenatlar 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatantlar eppendorf tüplerine alındı ve daha sonra biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

Karaciğer dokusu süpernatantlarında oksidan ve antioksidan belirteçleri (MDA, SOD, GSH, GPx, KAT), inflamasyon (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-4, IL-10, IFN- γ , COX-2, eNOS, NF-kB, PPAR γ) ve apoptozis (Kaspaz-3) markırları spesifik çift antikor sandiviç rat uyumlu ticari Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kitleri (Sunred Biological Tecnology, Shangai, China) ile üretici firmanın protokolüne göre analiz edildi. Pleytlerin okumaları BioTek ELISA reader'da EPOCH II programında 450nm'de yapıldı. Sonuçlar değerlendirilerek gruplar arasında farklar tespit edildi. Yapılan ELISA çalışmasının protokolü;

Çalışmaya başlamadan önce ELISA kitleri +2/8°C sıcaklıkta muafaza edildi ve çalışmaya başlamadan önce 30 dk boyunca oda ısısında bekletildi. Sonra standartlar hazırlandı.

Standartların hazırlanması: Standartlar beş ayrı eppendorf tüpte yapıldı.

Standart 5: 120 µl orjinal standart + 120 µl standart diluent

Standart 4: 120 µl standart 5'ten alınır + 120 µl standart diluent

Standart 3: 120 µl standart 4'ten alınır + 120 µl standart diluent

Standart 2: 120 µl standart 3'ten alınır + 120 µl standart diluent

Standart 1: 120 µl standart 2'den alınır + 120 µl standart diluent eklenerek spesifik monoklonal antibadi ile kaplı pleyt kuyucuklarına standartlar 50 µl sırasıyla eklendi.

- Pleytteki bir test kuyucuk blank olarak seçildi. Blank kuyucuğuna örnek, HRP ve her parametrenin antikoru (IL-10 antikoru vb.) eklenmez sadece kromojen A-B ve stop solüsyonu eklenir.

- Kitte bulunan Streptavidin-HRP, 50 µl pleytte tüm test kuyucuklarına eklendi. Standartlar zaten biotin içerdiğinden dolayı HRP standart kuyucuklarına eklenmez.

- Tüm test kuyucuklarına örnekler 40 µl ve biotin antibody 10 µl eklendikten sonra seal membran ile playt kapatılarak 37 °C'de 60 dk inkübe edildi.

- 30x konsantre olan yıkama solüsyonu 30 kat sulandırılarak hazırlandı.

- Bir saat sonunda membran yavaşça kaldırıldı ve playt ters çevrilerek döküldü üzerine yıkama solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi.

- Mikroplate washer ile yıkama yapıldıktan sonra kromojen A ve B sırasıyla tüm test kuyucuklarına 50 µl eklendi ve 37 C'de 10 dk karanlıkta inkübe edildi.

- Süre sonunda tüm test kuyucuklarına stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu.

Pleyt BioTek ELISA okuyucu cihazında EPOCH II programında 450nm dalga boyunda okuması yapıldı. Elde edilen sonuçların standart eğri doğrusal regresyon denkleminde hesaplandı ve her örneğin konsantrasyonları hesaplanarak gruplar arasında değerlendirmeler yapıldı.

3.6. Histopatolojik İncelemeler

Değerlendirme sonunda alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edilip, rutin doku takip işlemleri sonunda parafin bloklara gömüldü. Her bloktan 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınıp histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi (Olympus BX 51, JAPONYA). Kesitler histopatolojik özelliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.7. İmmunohistokimyasal İncelemeler

İmmunoperoksidaz inceleme için adezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan doku kesitleri deparafinize ve dehidre edildi. Ardından % 3'lük H_2O_2 'de 10 dk tutularak endojen peroksidaz inaktive edildi. Daha sonra dokular %1'lik antijen retrieval (sitrat buffer (pH+6.1) 100X) solüsyonunda kaynatıldı ve oda ısısında soğumaya bırakıldı. Dokularda nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için kesitler protein blok ile 5 dk inkübasyona bırakıldı. Ardından dokulara primer antikor (8-OHdG Kat No: sc-66036, Sulandırma Oranı: 1/100, US; BAX Kat No: sc-7480, Sulandırma Oranı: 1/100, US; Bcl-2 Kat No: sc-7382, Sulandırma Oranı: 1/100, US) damlatılıp kullanım talimatlarına uygun inkübe edildi. Dokularda kromojen olarak 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kromojeni kullanıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (Zeiss AXIO ALMANYA) ile incelendi.

3.8. İmmunfloresans İncelemeler

İmmunoperoksidaz inceleme için adezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan doku kesitleri, deparafinize ve dehidre edildi. Ardından % 3'lük H_2O_2 'de 10 dk tutularak endojen peroksidaz inaktive edildi. Daha sonra dokular %1'lik antijen retrieval (sitrat buffer (pH+6.1) 100X) solüsyonunda kaynatıldı ve oda ısısında soğumaya bırakıldı. Dokularda nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için kesitler protein blok ile 5 dk

inkübasyona bırakıldı. Ardından dokulara primer antikor (Nrf2 Kat No: ab89443, Sulandırma Oranı: 1/100, UK; Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) Kat No: ab225720, Sulandırma Oranı: 1/100, UK) damlatılıp kullanım talimatlarına uygun inkübe edildi. Sekonder işaretleyici olarak immunfloresans sekonder antikor kullanılıp (FITC Cat No: ab6785 Dilüent Oranı: 1/1000) karanlık ortamda 45 dk. bekletildi. Ardından dokulara ikinci primer antikor (HO1 Kat No: ab189491, Sulandırma Oranı: 1/100, UK; Protein kinaz B (p-AKT) Kat No: ab8805, Sulandırma Oranı: 1/100, UK) damlatılıp kullanım talimatlarına uygun inkübe edildi. Sekonder işaretleyici olarak immunfloresans sekonder antikor kullanılıp (Texas Red Cat No: ab6719 Dilüent Oranı: 1/1000 UK) karanlık ortamda 45 dk bekletildi. Daha sonra kesitlere mounting medium'lu DAPI (Kat no: D1306 Sulandırma Oranı: 1/200 UK) damlatılıp 5 dk karanlık ortamda bekletildikten sonra kesitler lamel ile kapatıldı. Boyanan kesitler floresans ataçmanlı mikroskopta incelendi (Zeiss AXIO ALMANYA).

3.9. İstatistiksel Analiz

Histopatolojik incelemelerde istatistiksel analiz için SPSS 13.0 programı kullanıldı ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edilerek veriler değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırımda Duncan testi kullanıldı. Grup etkileşiminin saptanmasında non parametrik Kruskal-Wallis testi, gruplar arasındaki farklılıkları belirlenmesi için Mann Whitney U testi kullanıldı.

İmmunohistokimyasal ve immunfloresan boyamalar sonucu elde edilen şekillerden pozitif boyanmaların yoğunluğunu belirlemek amacıyla; her şekilden 5 adet rastgele alan seçildi ve ZEISS Zen Imaging Software programında değerlendirmeleri yapıldı. Veriler, alan %'si için ortalama ve standart sapma ($\text{ortalama} \pm \text{SD}$) cinsinden istatistiksel olarak tanımlandı. Pozitiflik veren immünoreaktif hücreleri ve immünopozitif boyanmış alanları sağlıklı kontrollerle karşılaştırmak için one-way ANOVA ve ardından

Tukey testi yapıldı. Test sonucunda $p<0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi ve veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunuldu.

Bu araştırma sonunda elde edilen kantitatif değerler GraphPad Prism 8.0.1 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Tukey testi uygulanarak değerlendirildi. Alfa değeri $p<0.05$ ise anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Ratların Canlı ve Karaciğer Ağırlıkları Üzerine Doksorubisin ve Naringinin Etkileri

DOX ile indüklenen karaciğer hasarı modelinde elde edilen başlangıç canlı ağırlıkları, final canlı ağırlıkları ve karaciğer ağırlıkları değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel bakımdan farkın olmadığı belirlendi ($p>0.05$).

Tablo 4.1. Deneysel gruplarda ratların başlangıç canlı ağırlıkları, final canlı ağırlıkları ve karaciğer ağırlıkları üzerine DOX ve NA etkileri

	Kontrol	DOX	NA50+DOX	NA100+DOX	NA100
Başlangıç Canlı Ağırlık (gr)	277±14,9 ^a	272±15,99 ^a	276±17,85 ^a	277±13,46 ^a	277±9,93 ^a
Final Canlı Ağırlık (gr)	295±22,4 ^a	288±16,60 ^a	289±8,8 ^a	286±19,40 ^a	301±14,27 ^a
Karaciğer Ağırlıkları (gr)	12,03±1,4 ^a	10,85±1,1 ^a	11,15±0,6 ^a	11,83±0,8 ^a	11,99±1,4 ^a

Aynı sütundaki gruplar arasında farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel anlamda farklılıklar bulunmaktadır ($p>0.05$).

4.2. Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Karaciğer Enzimleri Üzerine Naringinin Etkileri

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi DOX ve NA50+DOX gruplarından elde edilen serum ALP, AST, ALT ve LDH düzeyleri Kontrol ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiki bakımdan ($p<0.01$) düzeyinde anlamlı olduğu gözlemlendi. NA100+DOX grubundan elde edilen ALP ve ALT değeri Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ($p<0.05$) düzeyinde; AST değerinin ise ($p<0.01$) düzeyinde farklı olduğu belirlendi. NA100 grubundan elde edilen ALP, AST, ALT ve LDH düzeyleri ile kontrol grubundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel bakımdan fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). NA50+DOX, NA100+DOX ve NA100 gruplarından elde edilen LDH

düzeyleri ile kontrol grubundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadığı görüldü ($p>0.05$).

Tablo 4.2. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede karaciğer enzim düzeyleri üzerine NA'nın etkileri (n=10).

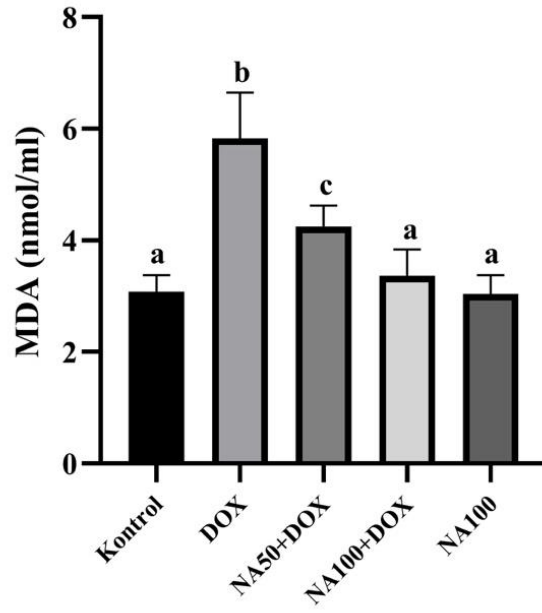
Deney Grupları	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH(U/L)
Kontrol	83,00±13,55 ^a	135,50±28,85 ^a	26,00±4,53 ^a	1408,76±85,43 ^a
DOX	277,80±26,91 ^b	384,06±83,05 ^b	122,00±19,38 ^b	1685,40±76,63 ^b
NA50+DOX	218,40±43,83 ^b	348,44±66,30 ^b	72,80±15,59 ^c	1545,78±61,86 ^a
NA100+DOX	133,80±32,87 ^c	288,10±77,43 ^b	51,00±18,10 ^{cd}	1436,84±90,35 ^a
NA100	108,00±36,06 ^{ac}	133,12±18,96 ^a	39,40±9,76 ^{ad}	1411,40±76,94 ^a

Aynı sütundaki gruplar arasında farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. (ALP; ^{a-b} $p<0.01$, ^{a-c, c-b} $p<0.05$, AST; ^{a-b} $p<0.01$, ALT; ^{a-b} $p<0.01$, ^{a-c, cd-b, c-b, ad-b} $p<0.05$, LDH; ^{a-b} $p<0.01$, n=10)

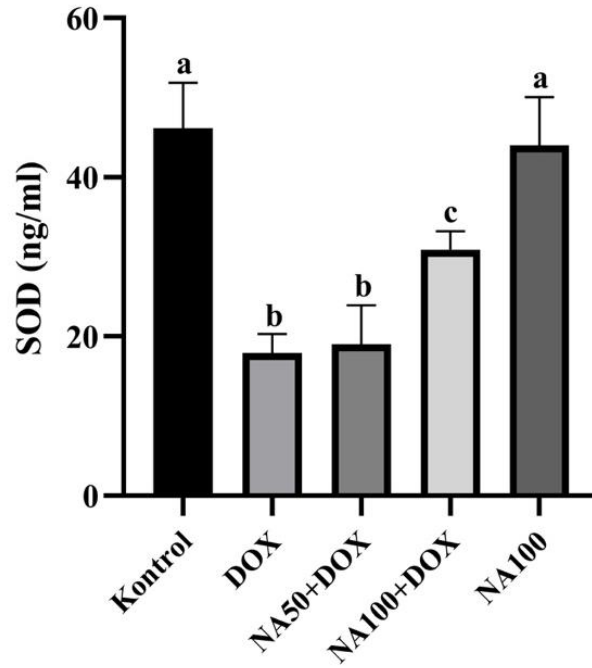
4.3. MDA ve GSH Seviyeleri ile SOD, GPx ve KAT Aktiviteleri Üzerine Doksorubisin ve Naringinin Etkileri

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi DOX grubunda MDA düzeyi, kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu ve aralarında istatistiksel olarak ($p<0.01$ düzeyinde fark görüldü. NA50+DOX grubunda bu fark ($p<0.05$) düzeyinde saptandı. NA100+DOX ve NA100 gruplarında MDA düzeyinin, kontrol grubu ile benzer olduğu belirlendi.

Karaciğer SOD aktivitesinin DOX ve NA50+DOX gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX ve DOX grupları arasında farklılık olmadığı ($p>0.05$) görüldü. NA100+DOX grubunda SOD aktivitesinin kontrol ve NA100 gruplarından düşük, DOX ve NA50+DOX gruplarından ise önemli düzeyde yüksek ($p<0.05$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.2).

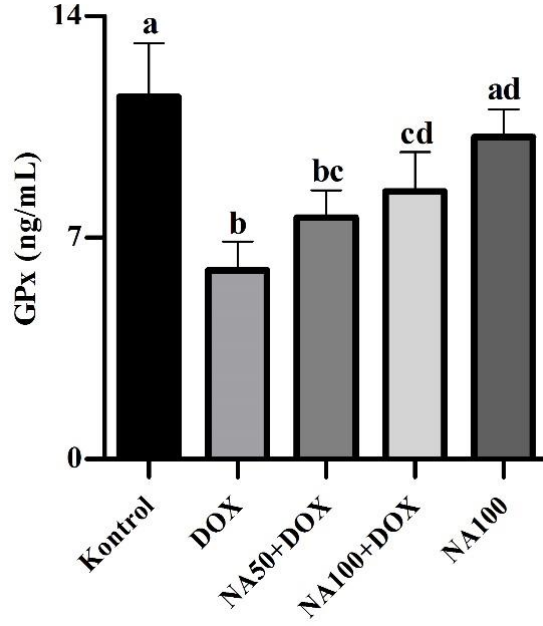


Şekil 4.1. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede MDA seviyesi üzerine NA'nın etkisi (^{a-b}p<0.01, ^{a-c, b-c}p<0.05).



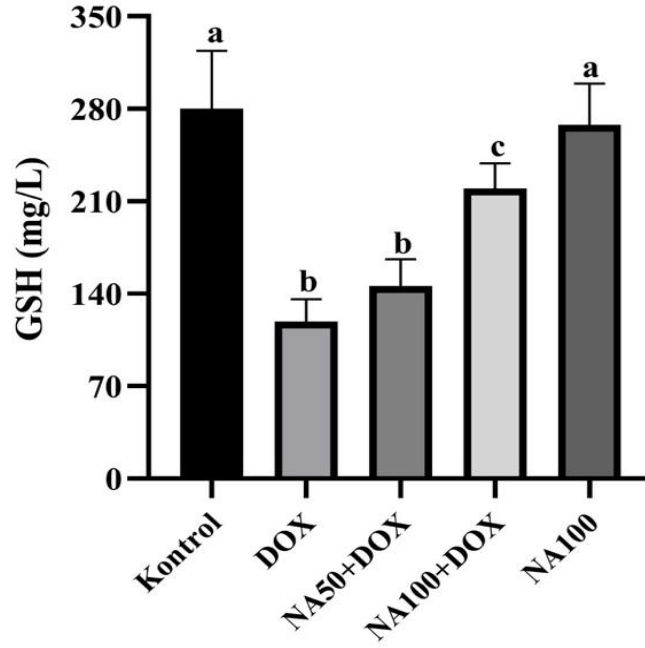
Şekil 4.2. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede SOD aktivitesi üzerine NA'nın etkisi (^{a-b}p<0.01, ^{a-c, b-c}p<0.05).

Karaciğer GPx aktivitesinin DOX ve NA50+DOX gruplarında kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda GPx aktivitesinin DOX ve NA100+DOX grupları ile benzer olduğu ($p>0.05$) görüldü. NA100+DOX grubunda SOD aktivitesinin kontrol ve NA100 gruplarından düşük, DOX grubundan ise önemli düzeyde yüksek ($p<0.05$) olduğu tespit edildi (Şekil 4.3).



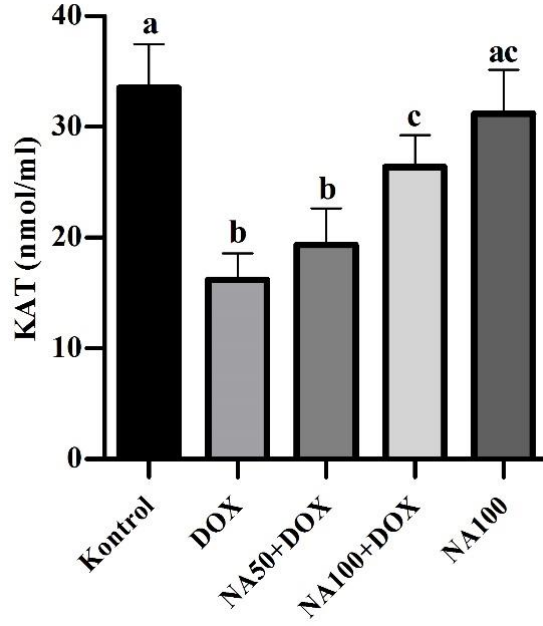
Şekil 4.3. DOX ile indüklenen hepatotoksistide GPx aktivitesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b$ $p<0.01$, $a-bc$, $a-c$, $b-c$ $p<0.05$).

Karaciğer GSH düzeyinin DOX, NA50+DOX ve NA100+DOX gruplarında kontrol ve NA100 grubuna kıyasla önemli düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA100+DOX grubunda GSH seviyesinin DOX ve NA50+DOX gruplarına göre önemli düzeyde arttığı ($p<0.05$) görüldü (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. DOX ile indüklenen hepatotoksistide GSH seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($^{a-b}p<0.01$, $^{a-c, b-c}p<0.05$).

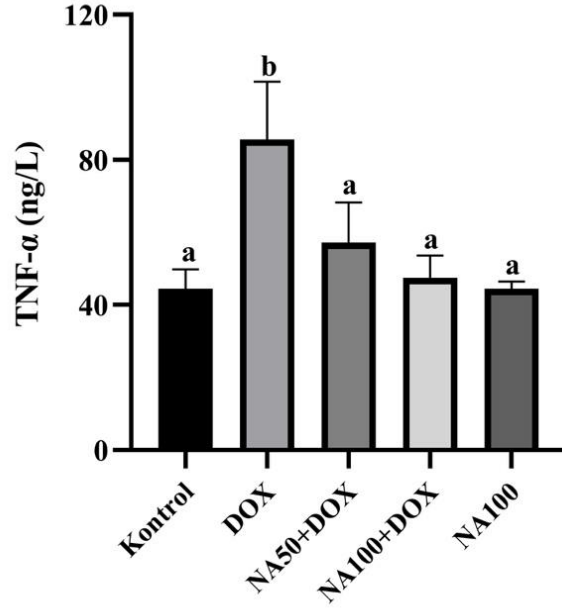
Karaciğer KAT aktivitesinin DOX, NA50+DOX ve NA100+DOX gruplarında kontrol grubuna kıyasla ciddi düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA100+DOX grubunda KAT aktivitesinin DOX ve NA50+DOX gruplarına göre önemli düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) tespit edildi Kontrol grubu ile NA100 grubu KAT aktivitesinin farklılık arz etmediği ($p>0.05$) belirlendi (Şekil 4.5)..



Şekil 4.5. DOX ile indüklenen hepatotoksistide KAT aktivitesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b$ $p<0.01$, $a-c$, $b-c$, $b-ac$ $p<0.05$).

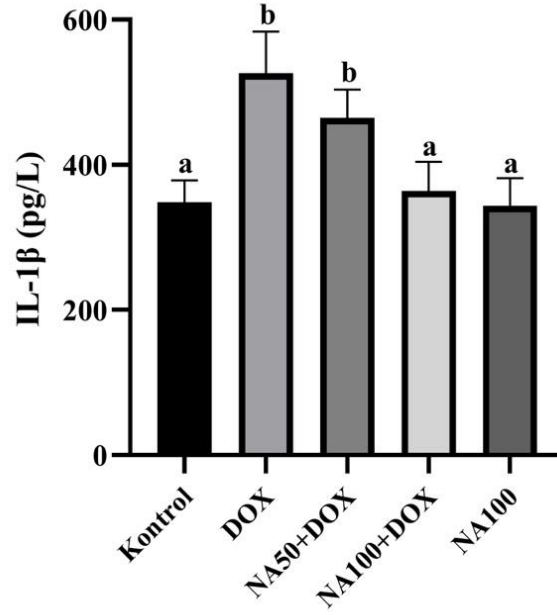
4.4. Dokсорubisin ile İndüklenen Hepatik İnflamasyonda Naringinin Etkileri

Yapılan bu çalışmada DOX ve NA uygulanan ratlarda inflamasyon parametreleri deney grupları arasında değerlendirildi. TNF- α düzeyinin DOX grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlendi. NA'nın, TNF- α düzeyindeki artışı doza bağımlı şekilde önlediği ($p<0.05$) tespit edildi. NA50+DOX, NA100+DOX ve NA100 gruplarında TNF- α seviyesinin kontrol grubuna benzer olduğu ($p>0.05$) görüldü (Şekil 4.6).



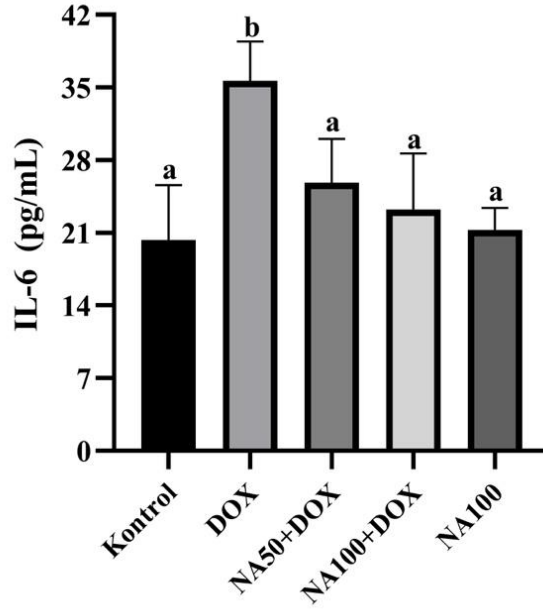
Şekil 4.6. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede TNF- α seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b p<0.01$).

IL-1 β seviyesinin DOX grubunda kontrol, NA100+DOX ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda IL-1 β seviyesinin DOX grubuna göre azaldığı ancak istatistiksel önemli olmadığı ($p>0.05$) tespit edildi. NA100+DOX ve NA100 gruplarında IL-1 β seviyesinin kontrol ile yakın olduğu ($p>0.05$) görüldü (Şekil 4.7).



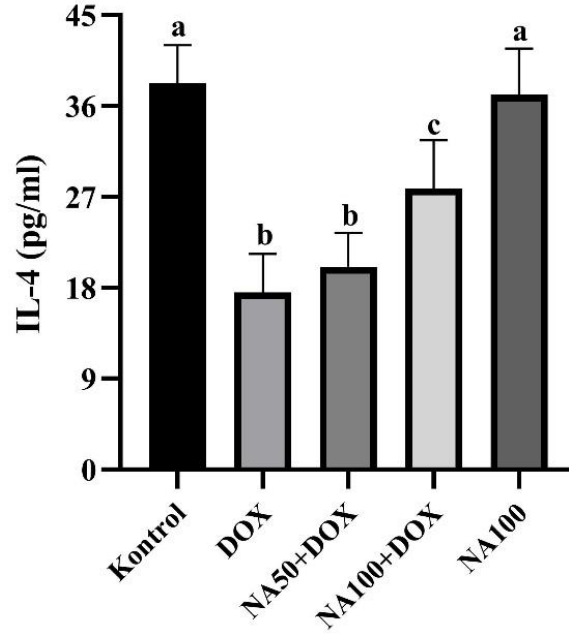
Şekil 4.7. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede IL-1 β seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($^{a-b}p<0.01$).

IL-6 düzeyinin DOX grubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlendi. NA'nın her iki dozu, IL-6 seviyesinde DOX kaynaklı artışı önemli düzeyde ($p<0.05$) önledi. Tedavi grupları ve NA100 grubunda IL-6 seviyesinin, kontrol grubundan farklılık arz etmediği edildi ($p>0.05$) tespit (Şekil 4.8).



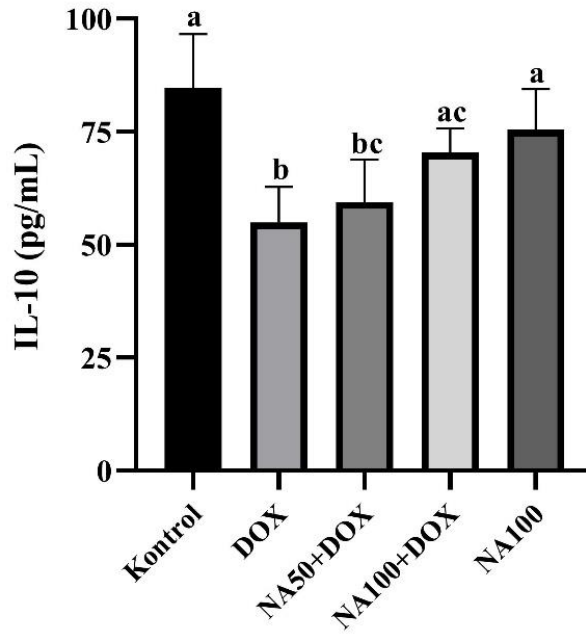
Şekil 4.8. DOX ile indüklenen hepatotoksistede IL-6 seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b p<0,01$).

DOX, NA50+DOX ve NA100+DOX gruplarında IL-4 düzeyinin, kontrol ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi. NA50+DOX grubunda IL-4 seviyesi DOX grubundan farklılık arz etmezken ($p>0.05$), NA100+DOX grubunda DOX grubundan anlamlı düzeyde yüksek ($p<0.05$) bulundu. NA100 grubunda ise IL-4 seviyesinin kontrol ile benzer olduğu ($p>0.05$) belirlendi (Şekil 4.9).



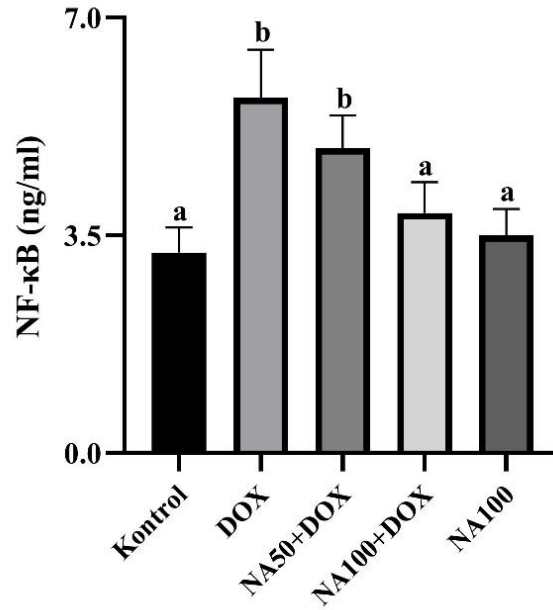
Şekil 4.9. DOX ile indüklenen hepatotoksistide IL-4 seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b$ $p<0.01$, $a-c$, $b-c$ $p<0.05$).

DOX ve NA50+DOX gruplarında IL-10 düzeyinin, kontrol ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda IL-10 seviyesi DOX grubu ile farklılık arz etmezken ($p>0.05$), NA100+DOX grubunda IL-10 seviyesi DOX grubundan anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0.05$). IL-10 seviyesinin NA50+DOX ile NA100+DOX ve kontrol ile NA100 grupları arasında farklılık arz etmediği ($p>0.05$) tespit edildi (Şekil 4.10).



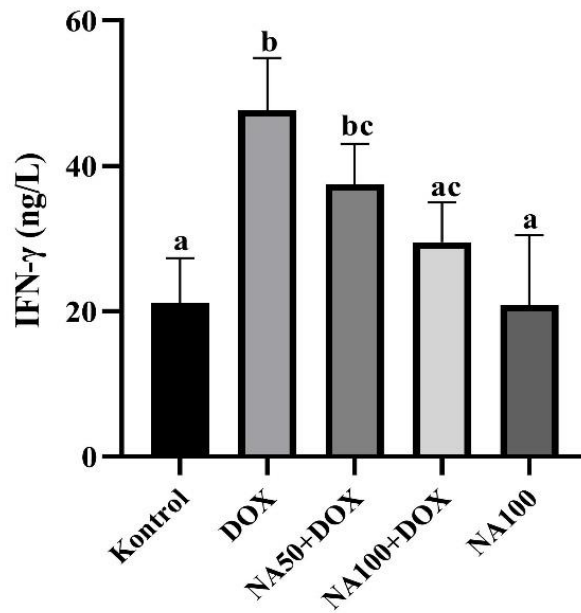
Şekil 4.10. DOX ile indüklenen hepatotoksistide IL-10 seviyesi üzerine NA'nın etkisi (^{a-b} $p<0.01$, ^{a-bc, ac-b} $p<0.05$).

NF- κ B seviyesinin DOX ve NA50+DOX grubunda kontrol, NA100+DOX ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. NA50+DOX grubunda NF- κ B seviyesi DOX grubuna göre daha düşüktü ancak istatistiksel önem arz etmediği ($p>0.05$) belirlendi. NA100+DOX ve NA100 gruplarında NF- κ B seviyesinin kontrol ile benzer olduğu ($p>0.05$) görüldü (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. DOX ile indüklenen hepatotoksistide NF- κ B seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($^{a-b}p<0.01$)

IFN- γ seviyesinin DOX ve NA50+DOX grubunda kontrol ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. NA50+DOX grubunda IFN- γ seviyesi DOX grubuna göre daha düşüktü ancak istatistiksel önem arz etmediği ($p>0.05$) belirlendi. NA100+DOX grubunda IFN- γ seviyesinin DOX grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0.05$) görüldü. NA100 grubunda IFN- γ seviyesinin ise kontrol ile benzer olduğu ($p>0.05$) belirlendi (Şekil 4.11).

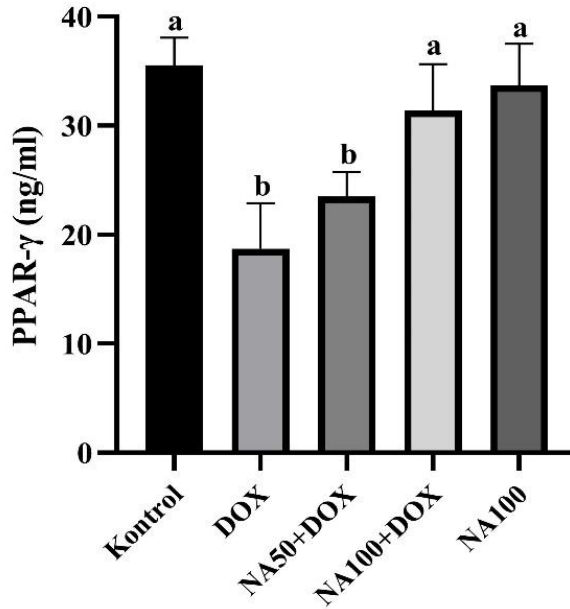


Şekil 4.11. DOX ile indüklenen hepatotoksistide IFN- γ seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b$ $p<0.01$, $a-bc$, $ac-b$, $bc-ac$ $p<0.05$).

4.5. Dokсорubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede PPAR- γ , COX-2 ve eNOS

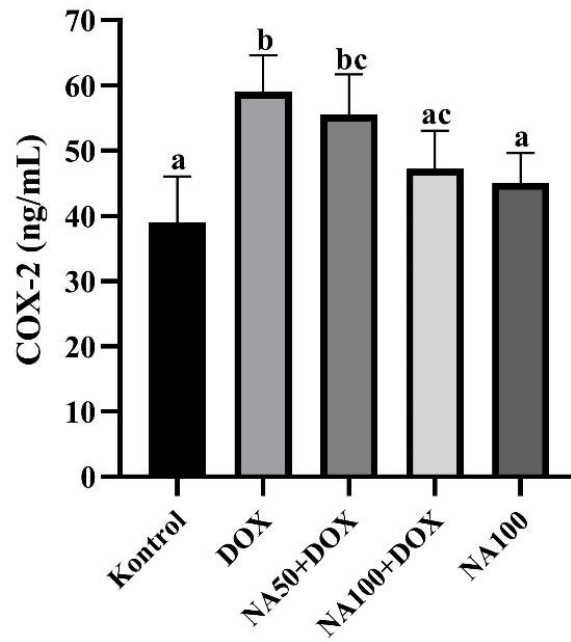
Seviyeleri Üzerine Naringinin Etkileri

DOX ve NA50+DOX gruplarında PPAR- γ seviyesinin, kontrol, NA100+DOX ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda PPAR- γ seviyesi DOX grubu ile farklılık arz etmezken ($p>0.05$), NA100+DOX grubunda PPAR- γ seviyesi DOX grubundan önemli düzeyde yüksekti ($p<0.05$) ve NA100+DOX ve NA100 gruplarında kontrol ile benzer olduğu ($p>0.05$) tespit edildi (Şekil 4.12).



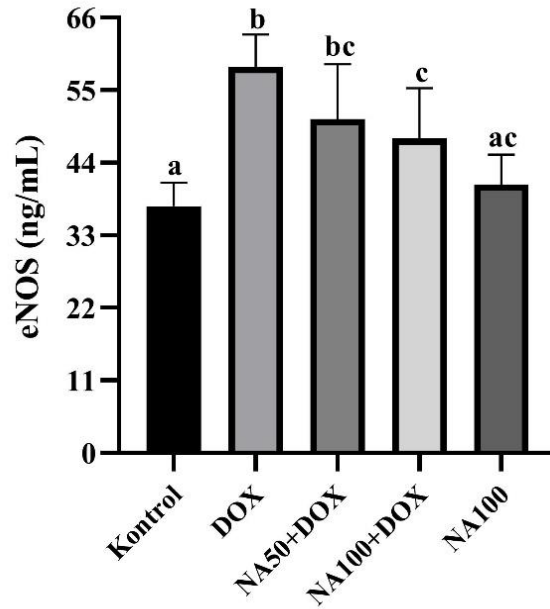
Şekil 4.12. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede PPAR- γ seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-bp<0.01$).

DOX ve NA50+DOX gruplarında COX-2 düzeyinin kontrol ve NA100 gruplarına kıyasla önemli düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda COX-2 seviyesi DOX grubuna göre daha düşüktü ancak istatistiksel önem arz etmediği ($p>0.05$) tespit edildi. NA100+DOX grubunda COX-2 seviyesinin DOX grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu ($p<0.05$), NA50+DOX grubu ile farklılık arz etmediği ($p>0.05$) görüldü. COX-2 düzeyinin kontrol, NA100+DOX ve NA100 grupları arasında benzer olduğu ($p>0.05$) belirlendi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede COX-2 seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b p<0.01$, $a-bc$, $ac-b p<0.05$).

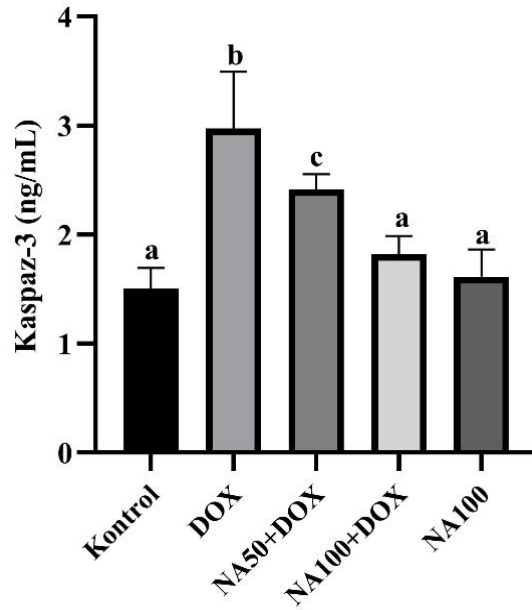
Karaciğer dokusu eNOS düzeyleri gruplar arası değerlendirildiğinde, DOX, NA50+DOX ve NA100+DOX gruplarında eNOS düzeyinin kontrol ve NA100 gruplarına kıyasla önemli düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) belirlendi. NA50+DOX grubunda eNOS düzeyi DOX grubu ile benzerken, NA100+DOX grubunda DOX grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. COX-2 seviyesi DOX grubuna göre daha düşüktü ancak istatistiksel önem arz etmediği ($p>0.05$) tespit edildi. Tedavi grupları ile NA100 ve kontrol ile NA100 grupları arasında anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) tespit edildi (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. DOX ile indüklenen hepatotoksistide eNOS seviyesi üzerine NA'nın etkisi ($a-b p<0.01$, $a-bc$, $a-c$, $c-b p<0.05$).

4.6. Dokсорubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Kaspaz-3 Seviyesi Üzerine Naringinin Etkileri

Kaspaz-3 seviyesinin DOX ve NA50+DOX gruplarında kontrol, NA100+DOX ve NA100 gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0.05$) saptandı. NA50+DOX ve NA100+DOX gruplarında Kaspaz-3 seviyesinin DOX grubuna kıyasla doza bağımlı şekilde azaldığı belirlendi. NA100+DOX ve NA100 gruplarında Kaspaz-3 düzeyinin kontrol grubundan farklılık arz etmediği tespit edildi. (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. DOX ile indüklenen hepatotoksisitede Kaspaz-3 Düzeyi üzerine NA'nın etkisi ($a-b$ $p<0.01$, $a-c$, $b-c$ $p<0.05$).

4.7. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarındaki ratların karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde; kontrol ve NA100 gruplarında dokuların normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.16). DOX grubunda, hepatositlerde şiddetli dejenerasyon ve nekroz, damarlarda şiddetli hiperemi ve sinüzoidlerde şiddetli dilatasyon tespit edildi (Şekil 4.16). NA50+DOX grubunda, hepatositlerde orta şiddette dejenerasyon ve hafif nekroz ile birlikte damarlarda şiddetli hiperemi ve sinüzoidlerde orta düzeyde dilatasyon saptandı (Şekil 4.16). NA100+DOX grubunda, hepatositlerde hafif düzeyde dejenerasyon, damarlarda orta şiddette hiperemi ve sinüzoidlerde hafif dilatasyon görüldü (Şekil 4.16). DOX grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p<0.05$) tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.3’de özetlendi.

Tablo 4.3. Karaciğer dokularında histopatolojik bulgular ve skorlanması

Deney Grupları	Hepatositlerde dejenerasyon	Hepatositlerde nekroz	Damarlarda hiperemi	Sinüzoidlerde dilatasyon
Kontrol	-	-	-	-
DOX	+++	+++	+++	+++
NA50+DOX	++	+	+++	++
NA100+DOX	+	-	++	+
NA100	-	-	-	-

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

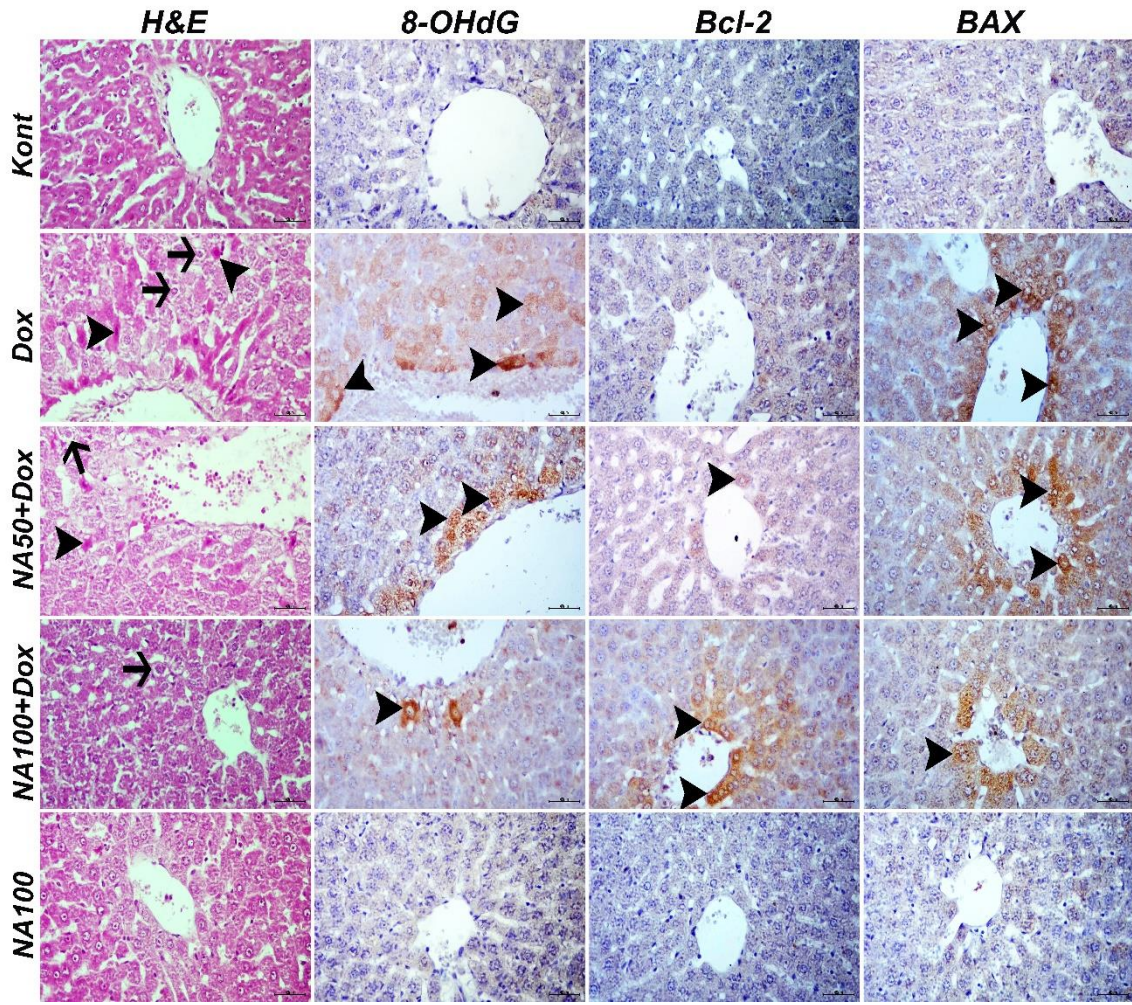
4.8. İmmunohistokimyasal Bulgular

Deney gruplarındaki ratların karaciğer dokuları immunohistokimyasal boyama yöntemi ile incelendiğinde, kontrol ve NA100 gruplarında dokularında 8-OHdG, BAX ve Bcl-2 ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.16). DOX grubunda, hepatositlerde şiddetli düzeyde intrasitoplazmik 8-OHdG ve BAX ve çok hafif seviyede Bcl-2 ekspresyonları saptandı (Şekil 4.16). NA50+DOX grubunda, hepatositlerde orta şiddette intrasitoplazmik 8-OHdG ve BAX ve hafif seviyede Bcl-2 ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.16). NA100+DOX grubunda, hepatositlerde hafif düzeyde intrasitoplazmik 8-OHdG ve BAX ve orta düzeyde seviyede Bcl-2 ekspresyonları görüldü (Şekil 4.16). İmmunohistokimyasal bulguların verileri ve istatistiksel analizleri Tablo 4.4’de sunuldu.

Tablo 4.4. Karaciğer dokularında immunohistokimyasal bulgular ve istatistiksel analiz verileri

Deney Grupları	8-OHdG	Bcl-2	BAX
Kontrol	20.8±0.31 ^a	23.96±1.78 ^a	18.91±0.38 ^a
DOX	81.33±2.91 ^b	24.99±1.6 ^a	73.59±2.33 ^b
NA50+DOX	52.92±1.89 ^c	37.11±1.83 ^b	63.75±1.57 ^c
NA100+DOX	32.73±1.25 ^d	57.21±2.33 ^c	29.19±0.76 ^d
NA100	20.45±0.59 ^a	25.39±1.18 ^a	19.02±0.45 ^a

a,b,c,d; aynı sütunda bulunan farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı ($p<0.05$) ifade eder.



Şekil 4.16. Karaciğer dokusu, hepatositlerde dejenerasyon (ok) ve nekroz (ok başı), H&E, 8-OHdG, Bcl-2 ve BAX immunpozitiflikleri (ok başı), IHC-P, Bar:40µm.

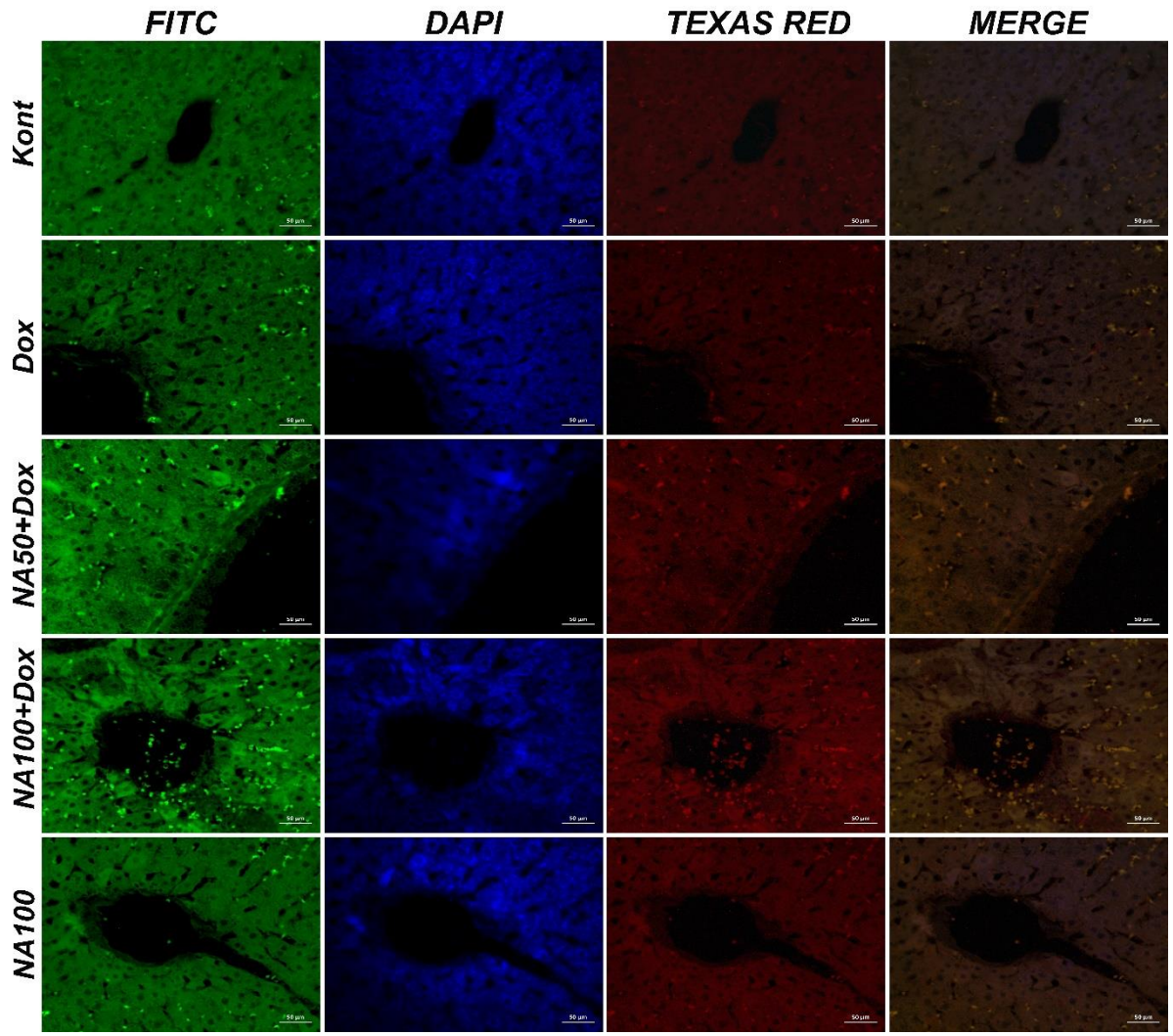
4.9. İmmunfloresan Bulgular

Deney gruplarındaki ratların karaciğer dokuları immunfloresan boyama yöntemi ile incelendiğinde; kontrol ve NA100 gruplarında Nrf2, HO-1, PI3K ve p-AKT ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.17 ve 4.18). DOX grubunda, hepatositlerde çok hafif seviyede Nrf2 ve HO-1 ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.17). Yine hepatositlerde şiddetli seviyede PI3K ve p-AKT ekspresyonları saptandı (Şekil 4.18). NA50+DOX grubunda, hepatositlerde hafif düzeyde Nrf2 ve HO-1 ekspresyonları görülürken (Şekil 4.17), orta düzeyde PI3K ve p-AKT ekspresyonları tespit edildi (Şekil 4.18). NA100+DOX grubunda, hepatositlerde orta şiddette Nrf2 ve HO-1 ekspresyonları saptanırken (Şekil 4.17), hafif düzeyde PI3K ve p-AKT ekspresyonları gözlemlendi (Şekil 4.18). İmmunofloresan bulgular ve istatistiksel analiz verileri Tablo 4.5’de sunuldu.

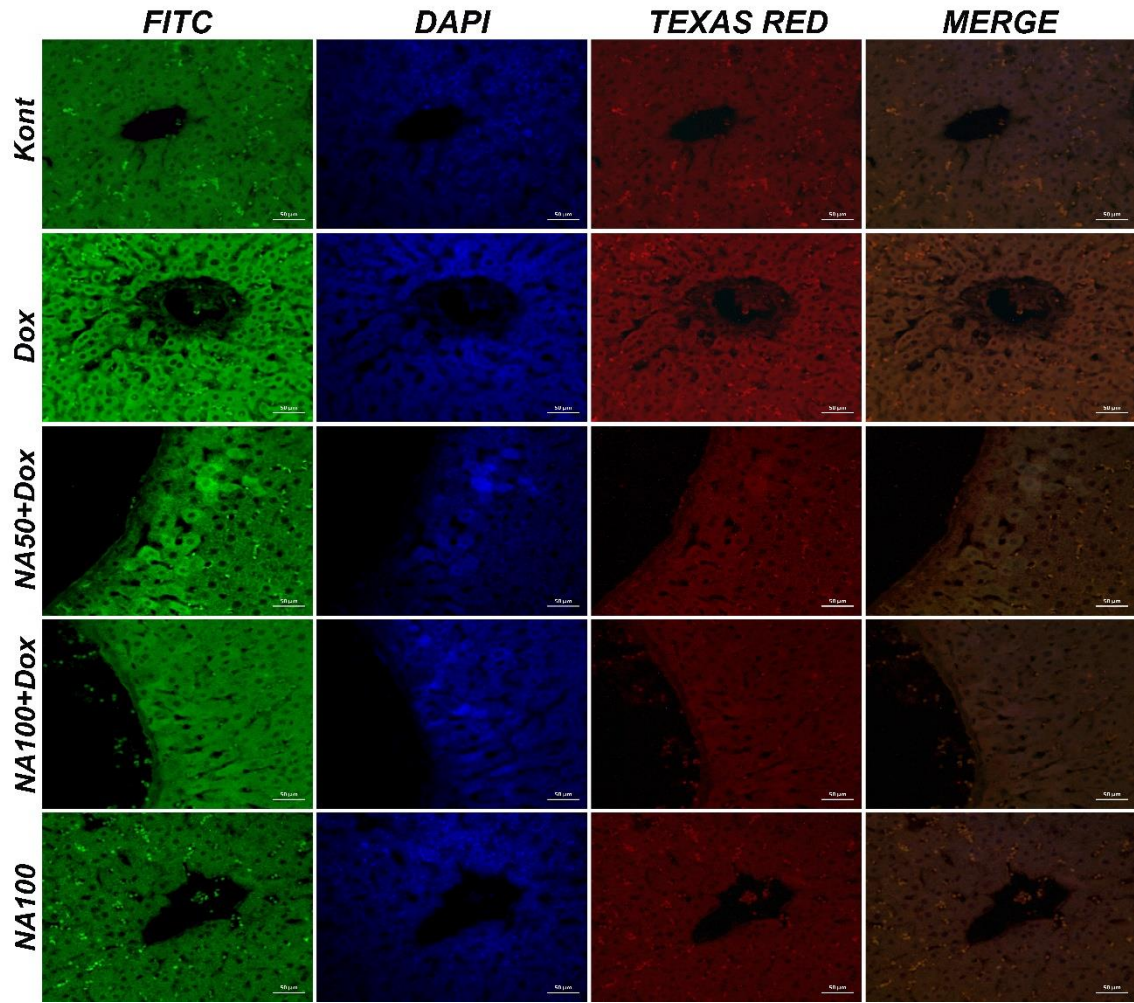
Tablo 4.5. Karaciğer dokularında immunfloresan bulgular ve istatistiksel analiz verileri

Deney Grupları	Nrf2	HO-1	PI3K	p-AKT
Kontrol	22.81±1.59 ^a	20.49±1.48 ^a	22.82±0.58 ^a	20.57±0.69 ^a
DOX	20.12±1.39 ^a	21.93±1.65 ^a	87.59±3.13 ^b	81.59±2.48 ^b
NA50+DOX	33.03±0.97 ^b	33.11±1.23 ^b	58.61±1.99 ^c	55.93±1.81 ^c
NA100+DOX	60.6±2.19 ^c	65.38±2.91 ^c	35.69±1.33 ^d	37.66±0.94 ^d
NA100	20.92±1.38 ^a	20.27±1.59 ^a	23.3±0.71 ^a	21.03±0.8 ^a

a,b,c,d; aynı sütunda bulunan farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı (p<0.05) ifade eder.



Şekil 4.17. Karaciğer dokusu, Nrf2 immunpozitiflikleri (FITC) ve HO-1 immunpozitiflikleri (Texas Red), IF, Bar:50µm.



Şekil 4.18. Karaciğer dokusu, PI3 Kinase immunpozitiflikleri (FITC) ve p-AKT immunpozitiflikleri (Texas Red), IF, Bar:50µm.

5. TARTIŞMA

DOX, antrasiklin grubu bileşikler sınıfına ait, lenfoma, lösemi, akciğer karsinomları, göğüs, yumurtalık ve tiroid gibi çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan kemotöropatik bir ilaçtır.^{2,3,216} Streptococcus peucetius suşundan elde edilmiştir. DOX geniş bir terapötik indeks spektrumuna sahiptir,³ akut ve subakut dozlarda hepatotoksisiteyi indüklediği bildirilmektedir.⁶ Hepatotoksisiteye neden olan DOX ile ilgili moleküler mekanizmalar, esas olarak; ilacın karaciğerdeki metabolizması sırasında ROS üretilmesinden kaynaklanır. Bu da oksidatif strese, düşük antioksidan enzim seviyelerine, apoptosise, inflamasyona ve mitokondriyal disfonksiyona yol açan dengesiz redoks potansiyeline neden olur.^{7,8} Antikanser ilaçların organ ve dokular üzerindeki yan etkilerini minimum düzeyde tutmak amacıyla doğal etken maddeler üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır.^{15,16,217,218} Antioksidan özellikleri iyi bilinen biyoflavonoidlerden olan NA üzüm ve birçok turuncgil meyvesinin temel ve aktif flavanon glikozitidir.^{24,25} NA'nın, anti-oksidatif,²⁸ anti-kanser,²⁹ anti-ülser,³⁰ anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve hipo-lipitemik gibi birçok aktif farmakolojik özelliğe sahiptir.³¹ NA, lipofilik yapıda olduğundan hücre zarına kolayca bağlanıp serbest radikallerin oluşumunu en aza indirger ve böylece hücre zarını korur.⁵ NA'nın hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda pekçok doku üzerine protektif etkilerinin olduğu bildirilmektedir.^{24,32,219-221}

Yapılan bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak oluşan karaciğer hasarı modelinde total vücut ve karaciğer ağırlıklar değişmiştir. Bu çalışmada DOX gruplarında vücut ağırlıkları azalırken, karaciğerin tüm vücuda olan oranı artmıştır.²²² Ancak bizim yaptığımız çalışmada hem vücut ağırlığında hem de karaciğer ağırlığında gruplar arasında istatistiksel olarak farkın bulunadığı belirlendi.

Karaciğer enzimleri olarak bilinen AST, ALT ve ALP karaciğer dışı organlarda da bulunmaktadır. Özellikle AST kalp kası, diğer çizgili kaslar, akciğer, eritrositler gibi birçok başka dokuda bulunup, bu dokuların bozukluklarında da yükselmektedir. ALP ise kemik, plasenta ve bağırsak gibi organlarda da yer alır ve bunlarla ilgili bozukluklarda da yükselme gösterir. Egzersiz, vücut kitle indeksi yüksekliği ve yaşla değişim gösterirler. Karaciğer enzimleri bazı fizyolojik durumlarda da değişme gösterebilir. Örneğin ALP ve LDH gebelikte ve hızlı büyüme çağlarında yükselme gösterebilmektedir. Karaciğer fonksiyon testi olarak bilinen birçok enzim ölçümü karaciğerdeki hücre harabiyeti hakkında bilgi vermektedir. Karaciğerdeki akut veya kronik hasarlar ALP, AST, ALT ve LDH serum düzeylerinde yükselmeye yol açar.¹³⁵ DOX uygulamasına bağlı olarak gerçekleşen ROS artışı lipid peroksidasyonla beraber karaciğer enzimlerinde kana olan geçişini artırmaktadır.²²³ Hatta bir çalışma da DOX uygulamasına bağlı olarak serum ALP, AST, ALT ve LDH düzeyleri ciddi oranda artış göstermiştir.²²⁴ Bizim yaptığımız çalışmada ise bu düzeyler DOX uygulamasına bağlı olarak yükselmiştir. NA uygulamalarında özellikle yüksek dozda, DOX'un neden olduğu karaciğer hasarını ve buna bağlı şekillenen ALP, AST, ALT ve LDH düzeylerini serumda kontrol seviyesinde tutmaya yardımcı olmuş ve koruyucu etki gösterdiği görülmüştür.

DOX tedavisi ROS üretimi yoluyla karaciğer fonksiyon testlerinde artışa neden olmasının yanında, oksidatif stresi de uyarmaktadır. Artan ROS üretimi aynı zamanda hücrelerin membranından bulunan lipidlerle tepkimeye girerek lipid peroksidasyon sonucu bazı ürünler meydana gelmektedir. Bu ürünlerden biri de MDA'dır.²²⁵ Bununla birlikte DOX, güçlü ROS türlerinin oluşumu nedeniyle GSH, SOD, GPx ve KAT gibi antioksidanların seviyesini düşürür ve böylece savunma mekanizmasının aktivitesini inhibe eder.^{10,12} Oksidatif strese karşı organizmanın savunma mekanizmaları (antioksidan mekanizmalar) yetersiz kaldığında, hücrelerde oksidatif hasar gelişerek hücresel

fonksiyonlarda önemli aksaklıklar meydana gelebilmektedir.^{136,137} ROS'un düşük miktarlarda olması aslında hücresel metabolizma için çok önemlidir, fakat yüksek miktarlarda olması hücre için aşırı oksidatif stres yaratabilir ve hücreler için ölümcül olabilir. Hepatotoksisiteye neden olan DOX ile ilgili moleküler mekanizmalar, esas olarak; ilacın karaciğerdeki metabolizması sırasında ROS üretilmesinden kaynaklanır. Bu da oksidatif strese, düşük antioksidan enzim seviyelerine, apoptosise, inflamasyona ve mitokondriyal disfonksiyona yol açan dengesiz redoks potansiyeline neden olur.^{7,8} Antioksidan enzimler serbest radikalleri indirgeyerek oluşacak hasarı önlemede rol oynar.¹⁴³ Bunlar serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek aktivitelerini azaltır veya serbest radikalleri kendilerine bağlayarak etki gösterirler.¹⁴⁴ ROS'un azaltılmasında rol oynayan en önemli enzimatik antioksidanlar GSH, SOD, GPx ve KAT'dır.^{140,145,146} Hem artan MDA düzeyi hemde antioksidan savunma sistemine verdiği zarar DOX uygulamasına bağlı hücrelerdeki toksik etkileri göstermektedir. Bir çalışmada DOX uygulamasının karaciğer dokusunda antioksidan savunma sistemini azaltmasının yanında MDA düzeyinde de artışlarda neden olduğu göstermiştir.²²⁵ Bizim yaptığımız çalışmada ise DOX uygulamasına bağlı olarak MDA düzeyi artarken, antioksidan savunma sisteminden görevli GSH, GPx, SOD ve KAT düzeyi ciddi orandan azalmıştır. DOX ile birlikte NA uygulaması özellikle yüksek dozda bu toksik etkileri önemli ölçüde azaltmıştır.

DOX uygulamasına bağlı olarak şekillenen ROS artışı oksidatif stresi ve bu yolla da inflamasyonun uyarmaktadır. Oksidatif stres ile inflamasyon arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. TNF- α , polipeptit yapıya sahip kaşektin olarakta adlandırılan sitokin ailesi üyesidir.¹⁶⁰ Temel olarak lipid metabolizmasında görev alır. Tümör hücrelerini etkileyen ve immun cevap oluşumunda prohormon olarak membranla bütünleşmiş halde bulunmaktadır. TNF- α makrofaj ve lenfosit gibi savunma hücrelerinde

sentezlenmektedir.¹⁶¹ TNF- α ve IL-1 β gibi LPS tarafından indüklenen proinflamatuvar sitokinlerin, inflamatuvar hastalıkların sürecinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. NF- κ B, inflamatuvar yanıtlara, bağışıklık ve stres yanıtlarına aracılık etmede transkripsiyonel düzenleyicinin önemli bir rolünü oynar ve apoptozu, proliferasyonu, farklılaşmayı ve gelişmeyi düzenler. İnterferonlar, immün sistem düzenleyici fonksiyonlara sahip sitokin ailesi üyesindendir. IFN- γ alloantijenler, makrofajları aktive edici faktör olarak bilinen sitokin ailesinin bir üyesi olan proteindir. IFN- γ , az miktarı sitoksik lenfositler ve NK hücreleri tarafından, daha fazla miktarı ise Th1 hücreleri tarafından sentezlenerek, doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemlerinde önemli görevleri mevcuttur. IFN- γ sinyali, doğal bağışıklık hücrelerini aktive etme işlevine ek olarak, T hücresi gelişiminde de rol oynamaktadır.¹⁶³ IL-4, Th2 sitokinlerinin prototipik bir üyesidir ve güçlü antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini ve etkisini azaltır.^{168,169} IL-10, Th2(T-helper2) hücreleri tarafından üretilen ve Th1'in aktive etmiş olduğu pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eden sitokindir.¹⁷⁰ IL-10'un kendisi proinflamatuvar yanıtları baskılayarak inflamasyonun neden olduğu doku hasarını önleyebilir.¹⁷¹ IL-6'nın hücre siklusunun devamı ve apoptoz inhibisyonunda yeri olduğu bilinmektedir. Otoimmün hastalıklar ile kanser gibi hastalıkların patogeneğinde IL-6 üretiminde bozuklukların da etkisi mevcuttur.¹⁶⁴ Peroksizom proliferatörü sayesinde aktif duruma gelen reseptör gama PPAR- γ , nükleer hormon reseptörü süper ailesine ait olan, ligandla aktive olan bir transkripsiyonel faktör olarak bilinir. PPAR- γ 'nın, bağışıklık tepkileri, redoks dengesi, yağ asidi oksidasyonu, glikoz homeostazisi, gibi çeşitli sinyal ağlarında birçok genin ekspresyonunu veya aktivitesini etkilediği bilinmektedir.¹⁷² NOS izoformlarının insan tümör hücre hatlarında ve solid tümör dokularında mevcut olduğu bildirilmiştir. eNOS, Ca²⁺ bağımlı bir enzimdir ve ilk olarak vasküler endotel hücrelerinde bulunmuştur. eNOS'un kan basıncı, trombosit

agregasyonu, lökosit aderansı ve vasküler düz kas hücre mitogenezi ve anjiyogenezi regüle ettiği gösterilmiştir.¹⁷⁸ Aksine, COX-2, mitojenler, büyüme faktörleri ve sitokin dâhil olmak üzere inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak indüklenir. Artan kanıtlar, COX-2 düzeylerinin karaciğer, kolon, prostat, safra kesesi, akciğer, deri ve jinekolojik kanser gibi çeşitli malignitelerde yükseldiğini göstermiştir.¹⁹¹ Bu gibi etkileri bulunan proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinler hücre içinde inflamasyonun şekillenip şekillenmediği hakkında bilgi vermektedir. Yapılan bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak NF-kB, TNF- α , IL-1B ve IL-6 düzeyleri karaciğer dokusunda artmıştır. Yapılan farklı bir çalışmada ise IL-4 ve IL-10 düzeyleri DOX uygulamasına bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Ghadha ve ark. (2022) yaptıkları bir çalışmada ratlara uygulanan DOX sonucu karaciğer dokusunda TNF- α , NF-kB ve IFN-gamma düzeyleri ciddi oranda artmıştır.²²⁶ Pakravan ve ark (2018) yaptıkları bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak PPAR-gamma düzeyleri ciddi oranda azalmıştır.²²⁷ Akin ve ark. (2021) yılında yaptıkları bir çalışmada ratlara uygulanan DOX sonra sı karaciğer dokusunda inflamasyon olduğu ve buna bağlı olarak ENOS düzeyini yükseldiği gözlenmiştir.²²⁸ Wali ve ark. (2020) yaptıkları bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda COX-2 düzeyinin yükseldiği tespit edilmiştir.²²⁹ Bizim yaptığımız çalışmada ise DOX uygulamasına bağlı olarak şekillenen doku hasarında TNF- α , IL-1B, IL-6 NF-kB, IFN-gamma, COX-2 ve eNOS düzeyleri ciddi oranda artarken, anti-inflamatuvar olan IL-4, IL-10 ve PPAR-gamma düzeyleri azalmıştır. NA uygulaması DOX kaynaklı karaciğer dokusunda artan pro-inflamatuvar sitokinleri ve azalan anti-inflamatuvar sitokinleri önemli ölçüde kontrol seviyesine getirmiştir.

DOX'un karaciğerde meydana getirdiği hasar hücre içinde artan ROS'la ilişkilidir. ROS artışı oksidatif stresi indüklemekte ve dolayısıyla inflamasyona neden olmaktadır. İnflamasyon daha sonra hücre içinde apoptoza sebep olmaktadır. Apoptoz

belirteçlerinden birisi de caspase-3 düzeyidir. Yapılan bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda apoptoz belirteci olan kaspaz-3 düzeyinin arttığı gözlenmiştir.²²⁸ Bizim yaptığımız çalışmada ise kaspaz-3 düzeyi DOX uygulamasına bağlı olarak arttı ve NA uygulaması bu düzeyi önemli ölçüde azalttı.

Antrasiklin grubu ajanların hücre hasarına yol açacak şekilde hücrelerin makromolekülleri ile etkileşime giren ROS oluşturmak için moleküler oksijen ile reaksiyona girerek semikinon radikal ara ürünü oluşturduğu bilinmektedir DOX uygulanan ratların karaciğer dokularında meydana gelen histopatolojik değişiklikler; DOX'dan oluşan reaktif ara ürünün (DOX semikinon) neden olduğu artan oksidatif strese bağlı olabilir. DOX ile birlikte NA uygulanmasının bu histopatolojik değişiklikleri azaltmasının ve karaciğerdeki hasarı büyük oranda iyileştirmesinin, NA'nın antioksidan özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.²³⁰

Apoptoz, embriyonik gelişim sırasında veya doku homeostazının sürdürülmesinde veya patolojik koşullar altında veya yaşlanmada ortaya çıkan programlanmış bir hücre ölümü sürecidir. Apoptotik yollarda, Bcl-2 ve Bax ilgili iki önemli proteindir. Bcl-2, anti-apoptotik özelliklere sahiptir ve Bax, pro-apoptotik işlevi ile bilinir. Yapılan bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak anti-apoptotik olan Bcl-2 düzeyinin azaldığı, pro-apoptotik olan Bax düzeyinin ise arttığı belirlenmiştir.²³¹ Bizim çalışmamızda ise DOX uygulamasına bağlı olarak Bax düzeyinin arttığı, Bcl-2 düzeyinin ise azaldığı belirlendi. NA uygulaması ise BAX düzeyini azaltarak ve BCL-2 düzeyini artırarak karaciğer hücrelerinin hayatta kalmasını sağladığı bu çalışmadan elde edilen verilerle belirlendi.

DOX oksidatif stresi Nrf-2 gibi transkripsiyonla ilgili faktörleri inhibe ederek gösterir. Nrf-2 hücrel redoks dengesini, antioksidanların kontrollerini ve detoksifikasyon cevabını oluşturmaktadır. Nrf-2 hücre sitoplazmasından çekirdeğe

geçerek HO-1 ekspresyonunu indükler. Yapılan bir çalışmada kimyasal madde uygulaması Nrf-2'nin baskılanmasına ve dolayısıyla HO-1 düzeyinin baskılanmasına yol açtığını göstermişlerdir. Antioksidan ajanların kullanımı Nrf-2-HO-1 yolağının aktivasyonuna neden olduğunu bulmuşlardır. Bu koruyucu mekanizmanın baskılanması hücre içinde oksidatif stresi kolaylaştırmaktadır.²³² Hücrelerde apoptozun şekillenip şekilenmediğini gösteren diğer bir önemli mekanizma ise PI3K-AKT yolağıdır. Bu yolak hücrenin strese girdiğini ve apoptotik yolağın uyarıldığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada DOX uygulamasına bağlı olarak ratların kalp dokusunda PI3K-AKT yolağının uyarıldığını gözlemlenmiştir.²³³ Bizim çalışmamızda ise NA50+DOX ve NA100+DOX uygulanan gruplarda PI3K-AKT yolağının baskılandığı ve Nrf-2-HO-1 yolağının ise uyarıldığı görüldü.

Hücre içinde artan ROS hücre içinde oksidatif hasara neden olmaktadır. Bu hasar DNA üzerinde de kendini göstermektedir. DNA'da meydana gelen hasarın belirteçlerinden birisi de 8-OHdG'dir. Bu hasar yapılan bir çalışmada da DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda tespit edilmiştir.²³⁴ Aynı şekilde bizim yaptığımız çalışmada da DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda DNA hasar belirteci olan 8-OHdG düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. NA uygulanmasının DNA'da meydana gelen hasrı engellediği ve koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın amacı DOX uygulanan ratların karaciğer dokularında meydana gelen hasarı saptamak ve NA uygulamasının 2 farklı dozunun etkilerini belirlemektir. Bu doğrultuda DOX uygulanan ratların karaciğer dokularından oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve DNA hasarının nasıl etkilendiğini ve bu etkilere karşı NA'nın koruyucu/tedavi edici etkilerinin var olup olmadığı araştırıldı.

DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda artan ROS hücre içinde MDA düzeyinin artmasına yol açtı. Aynı zamanda artan ROS hücre içinde anti-oksidan savunma sisteminin elemanlarının baskılanmasına yol açtı. Bizim çalışmamızda ise bu parametreler DOX uygulamasına bağlı olarak baskılandığı, NA'nın ise bu değerleri artırarak koruyucu etki gösterdiği gözlemlendi.

Karaciğer dokusunda oksidatif stres inflamasyona neden olmaktadır. Buna bağlı olarak DOX uygulanan ratların karaciğerinde TNF- α , IL-1B, IL-6, NF-kB, IFN-gamma, COX-2 düzeylerinin arttığı NA uygulamanın ise oluşan bu inflamasyonu engellediği belirlendi. IL-4, IL-10 ve PPAR düzeyleri DOX uygulanan ratların karaciğer dokusunda azaldığı belirlendi. NA uygulamasının ise bu düzeyleri artırdığı ve koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

DOX uygulamasına bağlı olarak endoteiyal hasarı belirlemek amacıyla eNOS düzeyi arttı. Bu düzey NA uygulanan grupların karaciğerinde daha düşük düzeyde olduğu ve koruyucu etki gösterdiği saptandı.

DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda apoptoz ile ilgili olarak Bax ve Kaspaz-3 düzeylerini arttığı, anti-apoptotik bir markır olan Bcl-2 düzeyinin ise azaldığı belirlendi. NA uygulamasının ise bu düzeyleri kontrol seviyesinde tutmaya yardımcı olduğu görüldü.

DOX uygulamasına bağlı olarak karaciğer dokusunda meydana gelen

histopatolojik değişiklikleri NA uygulanmasının azalttığı ve karaciğerdeki hasarı büyük oranda iyileştirdiğı gösterildi.

Nrf-2/HO-1 hücrelerde meydana gelen ROS artışı ve oksidatif hasar sonucu baskılanır. DOX uygulamasına bağı olarak karaciğer dokusunda bu yolların aktivasyonu azalmıştır. NA uygulamasının ise bu düzeyleri artırdığı ve koruyucu etkiler gösterdiği gözlemlenmiştir.

PI3K-AKT yolu ise hücrelerde meydana gelen hasarı göstermede ve apoptozun uyarılmasında önemlidir. DOX uygulanan grupta seviyesinin arttığı gözlemlendi. NA uygulanan gruplarda ise azaldığı belirlendi.

DOX uygulamasına bağı olarak DNA hasar belirteci olan 8-OHdG düzeyi artmaktadır. NA uygulamasının özellikle yüksek dozunun koruyucu etki gösterdiği ve 8-OHdG düzeyinin ciddi oranda azaldığı belirlendi.

Bu tez çalışmamız DOX ile ilgili karaciğer dokusunda meydana gelen hasarların belirlenmesinde ve NA'nın protektif etkilerinin araştırılmasında ve literatürdeki boşluğu doldurmada yararlı olacaktır. DOX'un ve NA'nın diğerk doku ve organlar üzerindeki etkilerinin moleküler düzeyde araştırılması yerinde olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Rivankar S. An overview of Doxorubicin formulations in cancer therapy. *Journal of cancer research and therapeutics*, 2014, 10: 853.
2. Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, Altman RB. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenetics and genomics*, 2011, 21: 440.
3. Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, Spalla C. Adriamycin, 14-Hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peucetius* var. *caesius*. *Biotechnology and bioengineering*, 2000, 67: 704-713.
4. National Institutes of Health. LiverTox: clinical and research information on drug-induced liver injury. *Nih. gov* <https://livertox.nih.gov>, 2017.
5. Renugadevi J, Prabu SM. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*, 2009, 256: 128-134.
6. Henninger C, Huelsenbeck J, Huelsenbeck S, Grösch S, Schad A, Lackner KJ, Kaina B, Fritz G. The lipid lowering drug lovastatin protects against DOXorubicin-induced hepatotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, 2012, 261: 66-73.
7. Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin. *Clinical pharmacokinetics*, 2003, 42: 419-436.
8. Hilmer SN, Cogger VC, Muller M, Le Couteur DG. The hepatic pharmacokinetics of Doxorubicin and liposomal Doxorubicin. *Drug metabolism and disposition*, 2004, 32: 794-799.
9. Asensio-López MC, Soler F, Pascual-Figal D, Fernandez-Belda F, Lax A. Doxorubicin-induced oxidative stress: The protective effect of nicorandil on HL-1 cardiomyocytes. *PloS one*, 2017, 12: e0172803.
10. Zhao X, Zhang J, Tong N, Chen Y, Luo Y. Protective effects of berberine on Doxorubicin-induced hepatotoxicity in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 35: 796-800.
11. Gencer Y, Çınar DA, Comba B. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri (AST, ALT, ALP) üzerine etkilerinin araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2015, 10(1), 21-26.
12. Bülbül GY, Mis L, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A. Protective effects of Naringin on liver enzymes (AST, ALT, ALP) and histopathology in Cyclophosphamide-induced rats. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2018, 13(2), 182-190.
13. Nagai K, Oda A, Konishi H. Theanine prevents Doxorubicin-induced acute hepatotoxicity by reducing intrinsic apoptotic response. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 78: 147-152.
14. Xu RH, Huang P. A new role for PHD in chemotherapy. *Cancer cell*, 2012, 22: 143-144.
15. Choi JS, Piao YJ, Kang KW. Effects of quercetin on the bioavailability of Doxorubicin in rats: role of CYP3A4 and P-gp inhibition by quercetin. *Archives of pharmacal research*, 2011, 34: 607-613.
16. Şengül E, Gelen V, Gedikli S, Özkanlar S, Gür C, Çelebi F, Çınar A. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 92: 303-307.
17. Block KI, Koch AC, Mead MN, Tothy PK, Newman RA, Gyllenhaal C. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: a systematic review

- of the evidence from randomized controlled trials. *International journal of cancer*, 2008, 123: 1227-1239.
18. Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013.
 19. Kandhare AD, Alam J, Patil MV, Sinha A, Bodhankar SL. Wound healing potential of ointment formulation via regulating the expression of inflammatory, apoptotic and growth mediators in experimental rats. *Pharmaceutical biology*, 2016, 54: 419-432.
 20. Visnagri A, Kandhare AD, Chakravarty S, Ghosh P, Bodhankar SL. Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions. *Pharmaceutical biology*, 2014, 52: 814-828.
 21. Leopoldini M, Russo N, Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food chemistry*, 2011, 125: 288-306.
 22. Oršolić N, Gajski G, Garaj Vrhovac V, Đikić D, Prskalo ZŠ, Sirovina D. DNA-protective effects of quercetin or naringenin in alloxan-induced diabetic mice. *European journal of pharmacology*, 2011, 656: 110-118.
 23. Serafini M, Villano D, Spera G, Pellegrini N. Redox molecules and cancer prevention: the importance of understanding the role of the antioxidant network. *Nutrition and cancer*, 2006, 56: 232-240.
 24. Çelebi F, Cengiz İ, Cınar A, Şengül E. Siklofosfamidle indüklenmiş ratlarda serbest radikaller ve antioksidanlar üzerine Naringenin protektif etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2020, 15(3), 231-236.
 25. Gelen V, Yıldırım S, Şengül E, Çınar A, Çelebi F, Küçükkalem M, Gök M. Naringin attenuates oxidative stress, inflammation, apoptosis, and oxidative DNA damage in acrylamide-induced nephrotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2022, 12(5), 223.
 26. Kim DH, Jung EA, Sohng IS, Han JA, Kim TH, Han MJ. Intestinal bacterial metabolism of flavonoids and its relation to some biological activities. *Archives of pharmacal research*, 1998, 21: 17-23.
 27. Kandemir F, Küçükler S, Çağlayan C. Beneficial effects of silymarin and naringin against methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2017, 12: 167-177.
 28. Kandemir FM, Kucukler S, Caglayan C, Gur C, Batil AA, Gülçin İ. Therapeutic effects of silymarin and naringin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats: Biochemical evaluation of anti-inflammatory, antiapoptotic, and antiautophagic properties. *Journal of food biochemistry*, 2017, 41: e12398.
 29. Sahu BD, Tatireddy S, Koneru M, Borkar RM, Kumar JM, Kuncha M, Srinivas R, Sistla R. Naringin ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity and associated mitochondrial dysfunction, apoptosis and inflammation in rats: possible mechanism of nephroprotection. *Toxicology and applied pharmacology*, 2014, 277: 8-20.
 30. Galati E, Monforte M, d'Aquino A, Miceli N, Di Mauro D, Sanogo R. Effects of naringin on experimental ulcer in rats. *Phytomedicine*, 1998, 5: 361-366.
 31. Chtourou Y, Aouey B, Kebieche M, Fetoui H. Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-mediated NF-κB and P53 signaling pathways. *Chemico-biological interactions*, 2015, 239: 76-86.
 32. Hermenean A, Ardelean A, Stan M, Hadaruga N, Mihali CV, Costache M, Dinischiotu A. Antioxidant and hepatoprotective effects of naringenin and its β-

- cyclodextrin formulation in mice intoxicated with carbon tetrachloride: a comparative study. *Journal of Medicinal Food*, 2014, 17: 670-677.
33. Hausman DM. What is cancer? *Perspectives in biology and medicine*, 2019, 62: 778-784.
 34. Alfano RR, Das BB, Cleary J, Prudente R, Celmer E. Light sheds light on cancer-distinguishing malignant tumors from benign tissues and tumors. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 1991, 67: 143.
 35. Hajdu SI. A note from history: landmarks in history of cancer, part 3. *Cancer*, 2012, 118: 1155-1168.
 36. Faguet GB. A brief history of cancer: age-old milestones underlying our current knowledge database. *International journal of cancer*, 2015, 136: 2022-2036.
 37. Papac RJ. Origins of cancer therapy. *The Yale journal of biology and medicine*, 2001, 74: 391.
 38. Gilman E, Knox E. Childhood cancers: space-time distribution in Britain. *Journal of Epidemiology & Community Health*, 1995, 49: 158-163.
 39. Percy C, Young Jr J, Muir C, Ries L, Hankey B, Sobin L, Berg J. Cancer. Introduction. *Cancer*, 1995, 75: 140-146.
 40. WHO. Cancer. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. 07.12.2022.
 41. Rao HL, Chen JW, Li M, Xiao YB, Fu J, Zeng YX, Cai MY, Xie D. Increased intratumoral neutrophil in colorectal carcinomas correlates closely with malignant phenotype and predicts patients' adverse prognosis. *PloS one*, 2012, 7: e30806.
 42. Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis*, 2010, 31: 100-110.
 43. Augustin L, Gallus S, Negri E, La Vecchia C. Glycemic index, glycemic load and risk of gastric cancer. *Annals of oncology*, 2004, 15: 581-584.
 44. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *New England Journal of Medicine*, 2003, 348: 1625-1638.
 45. Donaldson MS. Nutrition and cancer: a review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutrition journal*, 2004, 3: 1-21.
 46. Zhang SM, Willett WC, Selhub J, Hunter DJ, Giovannucci EL, Holmes MD, Colditz GA, Hankinson SE. Plasma folate, vitamin B6, vitamin B12, homocysteine, and risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 2003, 95: 373-380.
 47. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs Jr GF, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC, Group NPoCS. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2002, 11: 630-639.
 48. NCI. Age and Cancer Risk. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/age>. 07.12.2022.
 49. DeSantis CE, Siegel RL, Sauer AG, Miller KD, Fedewa SA, Alcaraz KI, Jemal A. Cancer statistics for African Americans, 2016: Progress and opportunities in reducing racial disparities. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2016, 66: 290-308.
 50. Boshuizen J, Peeper DS. Rational cancer treatment combinations: an urgent clinical need. *Molecular cell*, 2020, 78: 1002-1018.
 51. Palumbo MO, Kavan P, Miller Jr WH, Panasci L, Assouline S, Johnson N, Cohen V, Patenaude F, Pollak M, Jagoe RT. Systemic cancer therapy: achievements and challenges that lie ahead. *Frontiers in pharmacology*, 2013, 4: 57.

52. Hall A, Tilby M. Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of haematological malignancies. *Blood reviews*, 1992, 6: 163-173.
53. Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nature Reviews Cancer*, 2006, 6: 789-802.
54. Denny WA, Baguley BC. Dual topoisomerase I/II inhibitors in cancer therapy. *Current topics in medicinal chemistry*, 2003, 3: 339-353.
55. Gao Y, Shang Q, Li W, Guo W, Stojadinovic A, Mannion C, Man Y-g, Chen T. Antibiotics for cancer treatment: A double-edged sword. *Journal of Cancer*, 2020, 11: 5135.
56. Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, Yusuf SW, Swafford J, Champion C, Durand J-B, Gibbs H, Zafarmand AA, Ewer MS. Current Perspective. *chemotherapy*, 2004, 109: 3122-3131.
57. Wang X, Tian X, Wu Y, Shen X, Yang S, Chen S. Enhanced Doxorubicin production by *Streptomyces peucetius* using a combination of classical strain mutation and medium optimization. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 2018, 48: 514-521.
58. Muggia FM, Green MD. New anthracycline antitumor antibiotics. *Critical reviews in oncology/hematology*, 1991, 11: 43-64.
59. Lu P. Monitoring cardiac function in patients receiving Doxorubicin, Seminars in nuclear medicine, *Elsevier*, 2005, 197-201.
60. Aubel-Sadron G, Londos-Gagliardi D. Daunorubicin and Doxorubicin, anthracycline antibiotics, a physicochemical and biological review. *Biochimie*, 1984, 66: 333-352.
61. Seitz DE, Ezcurra JE, Guttman-Carlisle DL. Synthesis and chemical properties of a series of Doxorubicin enaminomalonyl- β -alanine derivatives. *Tetrahedron letters*, 1995, 36: 1413-1416.
62. NLM. Doxorubicin. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin#section=3D-Conformer>. 01.12.2022
63. Speth P, Van Hoesel Q, Haanen C. Clinical pharmacokinetics of Doxorubicin. *Clinical pharmacokinetics*, 1988, 15: 15-31.
64. Robert J, Gianni L. Pharmacokinetics and metabolism of anthracyclines. *Cancer surveys*, 1993, 17: 219-252.
65. Singal P, Li T, Kumar D, Danelisen I, Iliskovic N. Adriamycin-induced heart failure: mechanisms and modulation. *Molecular and cellular biochemistry*, 2000, 207: 77-86.
66. Johnson-Arbor K, Dubey R. Doxorubicin. In: *StatPearls*, StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459232/>. 01.12.2022.
67. Fornari FA, Randolph JK, Yalowich JC, Ritke MK, Gewirtz DA. Interference by Doxorubicin with DNA unwinding in MCF-7 breast tumor cells. *Molecular Pharmacology*, 1994, 45: 649-656.
68. Pigram W, Fuller W, Hamilton L. Stereochemistry of intercalation: interaction of daunomycin with DNA. *Nature New Biology*, 1972, 235: 17-19.
69. Cummings J, Anderson L, Willmott N, Smyth JF. The molecular pharmacology of Doxorubicin in vivo. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 1991, 27: 532-535.
70. Basler A. Mutagenicity and carcinogenicity of formaldehyde. *Mutat. Res*, 1986, 164: 288-289.

71. Šimůnek T, Štěrbá M, Popelová O, Adamcová M, Hrdina R, Geršl V. Anthracycline-induced cardiotoxicity: overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacological reports*, 2009, 61: 154-171.
72. Altieri P, Barisione C, Lazzarini E, Garuti A, Bezante GP, Canepa M, Spallarossa P, Tocchetti CG, Bollini S, Brunelli C. Testosterone antagonizes Doxorubicin-induced senescence of cardiomyocytes. *Journal of the American Heart Association*, 2016, 5: e002383.
73. Bielack SS, Erttmann R, Winkler K, Landbeck G. Doxorubicin: effect of different schedules on toxicity and anti-tumor efficacy. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 1989, 25: 873-882.
74. Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M. Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney international*, 1986, 29: 502-510.
75. Allard NC. Day surgery for breast cancer: effects of a psychoeducational telephone intervention on functional status and emotional distress, *Oncology Nursing Forum*, 2007.
76. Warpe VS, Mali VR, Arulmozhi S, Bodhankar SL, Mahadik KR. Cardioprotective effect of ellagic acid on Doxorubicin induced cardiotoxicity in wistar rats. *Journal of acute medicine*, 2015, 5: 1-8.
77. QuanJun Y, GenJin Y, LiLi W, YongLong H, Yan H, Jie L, JinLu H, Jin L, Run G, Cheng G. Protective effects of dexrazoxane against Doxorubicin-induced cardiotoxicity: a metabolomic study. *PloS one*, 2017, 12: e0169567.
78. Doroshov JH. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer research*, 1983, 43: 460-472.
79. Gelen V, Şengül E, Çınar, DA. The effects of rutin and quercetin on ECG parameters in 5-FU-induced cardiotoxicity rat model. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 2021, 9(3), 253-257.
80. Samancı TÇ. Deneysel Modellerde İlaça Bağlı Hepatotoksisite. *Journal of Innovative Approaches in Medicine*, 2021, 2: 48-64.
81. Demicheli R, Bonciarelli G, Jirillo A, Foroni R, Petrosino L, Targa L, Garusi G. Pharmacologic data and technical feasibility of intraperitoneal Doxorubicin administration. *Tumori Journal*, 1985, 71: 63-68.
82. Hegazy MA, Kotb SZ, Sakr H, Dosoky EE, Amer T, Hegazi RA, Farouk O. Preoperative isolated limb infusion of Doxorubicin and external irradiation for limb-threatening soft tissue sarcomas. *Annals of surgical oncology*, 2007, 14: 568-576.
83. Lin KL, Lin KJ, Wang PW, Chuang JH, Lin HY, Chen SD, Chuang YC, Huang ST, Tiao MM, Chen JB. Resveratrol provides neuroprotective effects through modulation of mitochondrial dynamics and ERK1/2 regulated autophagy. *Free Radical Research*, 2018, 52: 1371-1386.
84. Calvagna M. Chemotherapy for cancer treatment. 2007.
85. Asensio-López MC, Soler F, Sánchez-Más J, Pascual-Figal D, Fernández-Belda F, Lax A. Early oxidative damage induced by Doxorubicin: source of production, protection by GKT137831 and effect on Ca²⁺ transporters in HL-1 cardiomyocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2016, 594: 26-36.
86. Spallarossa P, Garibaldi S, Altieri P, Fabbi P, Manca V, Nasti S, Rossettin P, Ghigliotti G, Ballestrero A, Patrone F. Carvedilol prevents Doxorubicin-induced free radical release and apoptosis in cardiomyocytes in vitro. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2004, 37: 837-846.

87. Davies KJ, Doroshow JH, Hochstein P. Mitochondrial NADH dehydrogenase-catalyzed oxygen radical production by adriamycin, and the relative inactivity of 5-iminodaunorubicin. *FEBS letters*, 1983, 153: 227-230.
88. Chen Y, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA, St Clair DK. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Molecular interventions*, 2007, 7: 147.
89. Hershko C, Pinson A, Link G. Prevention of anthracycline cardiotoxicity by iron chelation. *Acta haematologica*, 1996, 95: 87-92.
90. Link G, Tirosh R, Pinson A, Hershko C. Role of iron in the potentiation of anthracycline cardiotoxicity: identification of heart cell mitochondria as a major site of iron-anthracycline interaction. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 1996, 127: 272-278.
91. Wallace KB. Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacology & toxicology*, 2003, 93: 105-115.
92. Jung K, Reszka R. Mitochondria as subcellular targets for clinically useful anthracyclines. *Advanced drug delivery reviews*, 2001, 49: 87-105.
93. Badkoobeh P, Parivar K, Kalantar SM, Hosseini SD, Salabat A. Effect of nano-zinc oxide on Doxorubicin-induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats. *Iranian journal of reproductive medicine*, 2013, 11: 355.
94. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N, Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology*, 2010, 115: 155-162.
95. Lee VW, Harris DC. Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology*, 2011, 16: 30-38.
96. Tavoloni N, Guarino AM. Disposition and metabolism of adriamycin in the rat. *Pharmacology*, 1980, 21: 244-255.
97. Burke JF, Laucius JF, Brodovsky HS, Soriano RZ. Doxorubicin hydrochloride-associated renal failure. *Archives of Internal Medicine*, 1977, 137: 385-388.
98. Hamner RW, Verani R, Weinman EJ. Mitomycin-associated renal failure: Case report and review. *Archives of Internal Medicine*, 1983, 143: 803-807.
99. Sahni V, Choudhury D, Ahmed Z. Chemotherapy-associated renal dysfunction. *Nature Reviews Nephrology*, 2009, 5: 450-462.
100. Sengul E, Gelen V, Yildirim S, Tekin S, Dag Y. The effects of selenium in acrylamide-induced nephrotoxicity in rats: roles of oxidative stress, inflammation, apoptosis, and DNA damage. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199(1), 173-184.
101. Sengul E, Gelen SU, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar DA. Probiotic bacteria attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2019, 9(3), 116.
102. Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Senturk E, Tekin S, Kükürt A. The protective effects of hesperidin and curcumin on 5-fluorouracil-induced nephrotoxicity in mice. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(34), 47046-47055.
103. Mandziuk S, Gieroba R, Korga A, Matysiak W, Jodłowska-Jedrych B, Burdan F, Poleszak E, Kowalczyk M, Grzycka-Kowalczyk L, Korobowicz E. The differential effects of green tea on dose-dependent Doxorubicin toxicity. *Food & nutrition research*, 2015, 59: 29754.
104. Hanna AD, Lam A, Tham S, Dulhunty AF, Beard NA. Adverse effects of Doxorubicin and its metabolic product on cardiac RyR2 and SERCA2A. *Molecular Pharmacology*, 2014, 86: 438-449.

105. Takemura G, Fujiwara H. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from the cardiotoxic mechanisms to management. *Progress in cardiovascular diseases*, 2007, 49: 330-352.
106. Sengul E, Gelen V, Gedikli S. Cardioprotective Activities Of Quercetin And Rutin In Sprague Dawley Rats Treated With 5-Fluorouracil. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 2021, 31(2).
107. Von Engelhardt W, Breves G, Diener M, Gäbel G. *Physiologie der Haustiere*. Baskı. Georg Thieme Verlag, 2015.
108. Sherlock S, Dooley J. *Diseases of the liver and biliary system*. Baskı. John Wiley & Sons, 2008.
109. Sancak B, Cumhur M, Vakfi O. Fonksiyonel anatomi: baş-boyun ve iç organlar. *ODTÜ Geliştirme Vakfı*, 2002.
110. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2020.
111. Preston RR, Wilson TE. *Fizyoloji: Lippincott görsel anlatımlı çalışma kitapları*. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, 2014.
112. Ovalle W, Histoloji NPNT. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (çeviren). *Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri*, 2009: 304-306.
113. Mescher AL. *Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas*. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2019.
114. Pawlina MHRW. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Baskı. 2017.
115. Herlihy B. *The Human Body in Health and Illness-E-Book*. Baskı. Elsevier Health Sciences, 2017.
116. Ross M, Pawlina J. *Histology A Text and Atlas: Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. Gastrointestinal Sistem Histolojisi içinde*, 2014, 6: 622-626.
117. Don W. Fawcett WB. *A textbook of histology* Baskı. Philadelphia, Saunders, 1986.
118. Eşrefoğlu PDM. *Özel Histoloji*. Baskı. İstanbul Tıp Kitabevleri, 2009.
119. Elias H, Bengelsdorf H. The structure of the liver of vertebrates. *Cells Tissues Organs*, 1952, 14: 297-337.
120. Elaine N, Marieb K. *Human Anatomy & Physiology new mastering a&p with Pearson Etext*. 2012.
121. Noyan A. Yaşamda hekimlikte fizyoloji, Palme Yayınevi, 1. 2007.
122. Guyton AC, Hall JE. *Guyton ve Hall tıbbi fizyoloji*. Baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, 2017.
123. Lee YTN, Chan KK, Harris PA, Cohen JL. Distribution of adriamycin in cancer patients. Tissue uptakes, plasma concentration after IV and hepatic IA administration. *Cancer*, 1980, 45: 2231-2239.
124. Koren G, Beatty K, Seto A, Einarson TR, Lishner M. The effects of impaired liver function on the elimination of antineoplastic agents. *Annals of Pharmacotherapy*, 1992, 26: 363-371.
125. Kassner N, Huse K, Martin H-J, Gödtel-Armbrust U, Metzger A, Meineke I, Brockmöller J, Klein K, Zanger UM, Maser E. Carbonyl reductase 1 is a predominant Doxorubicin reductase in the human liver. *Drug metabolism and disposition*, 2008, 36: 2113-2120.
126. Joerger M, Huitema A, Meenhorst P, Schellens J, Beijnen J. Pharmacokinetics of low-dose Doxorubicin and metabolites in patients with AIDS-related Kaposi sarcoma. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2005, 55: 488-496.
127. August D, Verma N, Vaertan M, Shah R, Brenner D. An evaluation of hepatic extraction and clearance of Doxorubicin. *British journal of cancer*, 1995, 72: 65-71.

128. Damodar G, Smitha T, Gopinath S, Vijayakumar S, Rao Y. An evaluation of hepatotoxicity in breast cancer patients receiving injection Doxorubicin. *Annals of medical and health sciences research*, 2014, 4: 74-79.
129. Floyd J, Mirza I, Sachs B, Perry MC. In *Hepatotoxicity of chemotherapy*, Seminars in oncology, Elsevier: 2006; 50-67.
130. Joensuu H, Asola R, Minn H. Combination chemotherapy with dacarbazine and lomustine in disseminated malignant melanoma. *Acta Radiologica: Oncology*, 1986, 25: 177-179.
131. DeFina LF, Barlow CE, Radford NB, Leonard D, Willis BL. The association between midlife cardiorespiratory fitness and later life chronic kidney disease: the Cooper Center Longitudinal Study. *Preventive Medicine*, 2016, 89: 178-183.
132. Mete R, Oran M, Topcu B, Oznur M, Seber ES, Gedikbasi A, Yetisyigit T. Protective effects of onion (*Allium cepa*) extract against Doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology and industrial health*, 2016, 32: 551-557.
133. Shneyvays V, Mamedova L, Zinman T, Jacobson K, Shainberg A. Activation of A3Adenosine Receptor Protects Against Doxorubicin-induced Cardiotoxicity. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2001, 33: 1249-1261.
134. Yang X, Fan C, Zhu H. Photo-induced cytotoxicity of malonic acid [C60] fullerene derivatives and its mechanism. *Toxicology in vitro*, 2002, 16: 41-46.
135. Prasanna PL, Renu K, Gopalakrishnan AV. New molecular and biochemical insights of Doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Life sciences*, 2020, 250, 117599.
136. Arslan HH, Nisbet C, Saripinar D, Çenesiz S, Çenesiz M. Sığırlarda asetilmetiyonin, L-karnitin, vitamin E ve vitamin B12 kombinasyonunun bazı klinik, hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2008, 19: 9-14.
137. Ercan N, Fidanci UR. Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri. 2012.
138. Gutteridge J. Free radicals in disease processes—A compilation of cause and consequence. Invited review. *Free Radical Res Commun*, 1993, 19: 141-158.
139. Pekcan Z, Çınar M, Gürkan M, Kumandaş A. Ankara keçilerinde propofol ve izofluran anestezisinin oksidatif stres üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2011, 6: 217-222.
140. Gutteridge J. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 1995, 41: 1819-1828.
141. Basaga H. Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*, 1990, 68: 989-998.
142. Akkuş İ. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları; 1995.
143. Laceter N, Bernabucci U, Ronchi B, & Nardone A. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *American Journal of Veterinary Research*, 1996, 57(12), 1776-1780.
144. Traber MG, Packer L. Vitamin E: beyond antioxidant function. *The American journal of clinical nutrition*, 1995, 62(6), 1501S-1509S.
145. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39(1), 44-84.
146. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, 2015, USA.

147. Arfin S, Jha NK, Jha SK, Kesari K. K, Ruokolainen J, Roychoudhury S, Rathi B, Kumar D. Oxidative stress in cancer cell metabolism. *Antioxidants*, 2021, 10(5), 642.
148. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47(5), 412-426.
149. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini MD. Oxidative status and malondialdehyde in β -thalassaemia patients. *European journal of clinical investigation*, 2002, 32, 55-60.
150. Kehrer IJP (1993) Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev., Toxicol*, 23, 2148.
151. Jenkins RR. Free radical chemistry. *Sports medicine*, 1988, 5(3), 156-170.
152. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, 1995, 41(12), 1819-1828.
153. Bucak NM, Satilmis M, Kizil HS, Karasahin T, Akyol N. Sığır embriyolarının in vitro gelişiminde kültür medyumlarına katılan antioksidanların etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010, 16(1), 69-74.
154. Sessle BJ. New insights into peripheral chemical mediators of temporomandibular pain and inflammation. *Journal of orofacial pain*, 2001, 15(1), 5.
155. Zarbock A, Ley K. Mechanisms and consequences of neutrophil interaction with the endothelium. *The American journal of pathology*, 2008, 172(1), 1-7.
156. Guyton CA and JEH. *Tıbbi Fizyoloji*. (H. Çavuşoğlu BY, ed.). Ankara Nobel Kitabevleri; 2007.
157. Chaplin DD. Overview of the immune response. *Journal of allergy and clinical immunology*, 2010, 125(2), S3-S23.
158. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological reviews*, 2018, 281(1), 8-27.
159. Ren K, Torres R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain research reviews*, 2009, 60(1), 57-64.
160. Aggarwal BB. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nature reviews immunology*, 2003, 3(9), 745-756.
161. Çayakar A. What is tumor necrosis factor alpha. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine*, 2018, 3(2), 67-76.
162. Yang L, Liu G, Lian K, Qiao Y, Zhang B, Zhu X, Gu XL, Luo Y, Shang Y. Dietary leonurine hydrochloride supplementation attenuates lipopolysaccharide challenge-induced intestinal inflammation and barrier dysfunction by inhibiting the NF- κ B/MAPK signaling pathway in broilers. *Journal of animal science*, 2019, 97(4), 1679-1692.
163. Lin FC, Young HA. The talented interferon-gamma. 2013
164. Madhok R, Crilly A, Watson J, Capell HA. Serum interleukin 6 levels in rheumatoid arthritis: correlations with clinical and laboratory indices of disease activity. *Annals of the rheumatic diseases*, 1993, 52(3), 232-234.
165. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *The Journal of clinical investigation*, 2007, 117(5), 1175-1183.
166. Karin M, Greten FR. NF- κ B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature reviews immunology*, 2005, 5(10), 749-759.
167. Everhart MB. The role of Nuclear Factor-kappa B (NF- κ B) in the regulation of lung inflammation Doktora Tezi. 2004

168. Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, Romagnani S. IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 1988, 140(12), 4193-4198.
169. Coffman RL, Ohara J, Bond MW, Carty J, Zlotnik A, Paul WE. B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells. *The Journal of Immunology*, 1986, 136(12), 4538-4541.
170. Geginat J, Larghi P, Paroni M, Nizzoli G, Penatti A, Pagani M, Flavell, RA, Gagliani N, Meroni P, Abrignani S, Flavell RA . The light and the dark sides of Interleukin-10 in immune-mediated diseases and cancer. *Cytokine & growth factor reviews*, 2016, 30, 87-93.
171. Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, Valdez PA, Hymowitz SG. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual review of immunology*, 2011, 29, 71-109.
172. Chawla A, Schwarz EJ, Dimaculangan DD, Lazar MA. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma: adipose-predominant expression and induction early in adipocyte differentiation. *Endocrinology*, 1994, 135(2), 798-800.
173. Ivashkiv LB. IFN γ : signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(9), 545-558.
174. Hodny Z, Reinis M, Hubackova S, Vasicova P, Bartek J. Interferon gamma/NADPH oxidase defense system in immunity and cancer. *Oncoimmunology*, 2016, 5(2), e1080416.
175. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN γ in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine & growth factor reviews*, 2002, 13(2), 95-109.
176. He YF, Wang XH, Zhang GM, Chen HT, Zhang H, Feng ZH. Sustained low-level expression of interferon- γ promotes tumor development: potential insights in tumor prevention and tumor immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2005, 54(9), 891-897.
177. Albrecht EW, Stegeman CA, Heeringa P, Henning RH, Van Goor H. *Protective role of endothelial nitric oxide synthase. J Pathol*, 2003, 199, 8-17.
178. Wang L, Shi GG, Yao JC, Gong W, Wei D, Wu TT, Xie K, Ajani AJ, Huang S. Expression of endothelial nitric oxide synthase correlates with the angiogenic phenotype of and predicts poor prognosis in human gastric cancer. *Gastric Cancer*, 2005, 8(1), 18-28.
179. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 2011, 20(3), 145-158.
180. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1997, 82(2), 291-295.
181. Savill J. Apoptosis in resolution of inflammation. *Kidney & blood pressure research*, 2000 23(3-5), 173.
182. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO reports*, 2006, 7(9), 880-885.
183. Adams JM, Cory S. Life-or-death decisions by the Bcl-2 protein family. *Trends in biochemical sciences*, 2001, 26(1), 61-66.
184. Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, van den Heuvel FA, Koornstra J, Wesseling J, de Jong S, Hollema H. Tissue distribution of the death ligand TRAIL

- and its receptors. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 2004, 52(6), 821-831.
185. Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends in biochemical sciences*, 2001, 26(6), 390-397.
 186. Tsang WP, Chau SP, Kong SK, Fung KP, Kwok TT. Reactive oxygen species mediate Doxorubicin induced p53-independent apoptosis. *Life sciences*, 2003, 73(16), 2047-2058.
 187. Spallarossa P, Garibaldi S, Altieri P, Fabbi P, Manca V, Nasti S, Brunelli C, Rossettin P, Ghigliotti G, Ballestrero A, Patrone F, Barsotti A. Carvedilol prevents Doxorubicin-induced free radical release and apoptosis in cardiomyocytes in vitro. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2004, 37(4), 837-846.
 188. Mishra S, Vinayak M Role of ellagic acid in regulation of apoptosis by modulating novel and atypical PKC in lymphoma bearing mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15(1), 1-8.
 189. Stehle A, Hugle M, Fulda S. Eribulin synergizes with Polo-like kinase 1 inhibitors to induce apoptosis in rhabdomyosarcoma. *Cancer letters*, 2015, 365(1), 37-46.
 190. Agarwal B, Rao CV, Bhendwal S, Ramey WR, Shirin H, Reddy BS, Holt P. R. Lovastatin augments sulindac-induced apoptosis in colon cancer cells and potentiates chemopreventive effects of sulindac. *Gastroenterology*, 1999, 117(4), 838-847.
 191. Zeng L, Zhen Y, Chen Y, Zou L, Zhang Y, Hu F, Feng j, Shen j, Wei B. Naringin inhibits growth and induces apoptosis by a mechanism dependent on reduced activation of NF κ B/COX 2 caspase-1 pathway in HeLa cervical cancer cells. *International journal of oncology*, 2014, 45(5), 1929-1936.
 192. Jelic MD, Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of cancer research and therapeutics*, 2021, 17(1), 22.
 193. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of environmental science and health Part C*, 2009, 27(2), 120-139.
 194. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J*, 2003, 17, 1195-1214.
 195. Halliwell B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 1999, 443(1-2), 37-52.
 196. Kasai H. Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, 33(4), 450-456.
 197. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, β -carotene and red ginseng). *Cancer letters*, 1998, 132(1-2), 219-227.
 198. Narayana KR, Reddy MS, Chaluvadi MR, Krishna DR. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 2001, 33(1), 2-16.
 199. Morikawa K, Nonaka M, Narahara M, Torii I, Kawaguchi K, Yoshikawa T, Morikawa S. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats. *life Sciences*, 2003, 74(6), 709-721.
 200. Ribeiro IA, Rocha J, Sepodes B, Mota-Filipe H, Ribeiro MH. Effect of naringin enzymatic hydrolysis towards naringenin on the anti-inflammatory activity of both compounds. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2008, 52, 13-18.

201. Zhang X, Li L, Xu Z, Liang Z, Su J, Huang J, Li B. Investigation of the interaction of naringin palmitate with bovine serum albumin: spectroscopic analysis and molecular docking. *PLoS One*, 2013, 8(3), e59106.
202. Sharma P, Kumar V, Guleria P. Naringin: Biosynthesis and pharmaceutical applications. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2019, 81(6), 988-999.
203. Arafah A, Rehman MU, Mir TM, Wali AF, Ali R, Qamar W, Khan R, Ahmad A, Aga SS, Alqahtani S, Almatroudi NM. Multi-therapeutic potential of naringenin (4', 5, 7-trihydroxyflavonone): experimental evidence and mechanisms. *Plants*, 2020, 9(12), 1784.
204. Gelen V, Şengül E. Antioxidant, anti-inflammatory and antiapoptotic effects of Naringin on cardiac damage induced by cisplatin. *Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK)*, 2020 19(2), 459-465.
205. Emin S, Volkan G. Protective effects of naringin in indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 2019, 8(2), 6-14.
206. Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Atila G. The protective effects of naringin against 5-fluorouracil-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 2018, 21(4), 404.
207. So FV, Guthrie N, Chambers AF, Moussa M, Carroll KK. Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. 1996.
208. Dağ Y, Şengül E, Selçuk M, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A. Ratlarda Cyclophosphamide ile indüklenen nefrotoksisitede bazı hematolojik parametreler ve böbreğin histopatolojisi üzerine naringinin protektif etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2018, 13(2), 219-228.
209. Ramesh E, Alshatwi AA. Naringin induces death receptor and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (SiHa) cells. *Food and chemical toxicology*, 2013, 51, 97-105.
210. Liu Y, Wu H, Nie YC, Chen JL, Su WW, Li PB. Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology*, 2011, 11(10), 1606-1612.
211. Gopinath K, Sudhandiran G. Naringin modulates oxidative stress and inflammation in 3-nitropropionic acid-induced neurodegeneration through the activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 signalling pathway. *Neuroscience*, 2012, 227, 134-143.
212. Luo YL, Zhang CC, Li PB, Nie YC, Wu H, Shen JG, Su WW. Naringin attenuates enhanced cough, airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a guinea pig model of chronic bronchitis induced by cigarette smoke. *International immunopharmacology*, 2012, 13(3), 301-307.
213. Wang H, Xu YS, Wang ML, Cheng C, Bian R, Yuan H, Wang Y, Guo T, Zhu LL, Zhou H. Protective effect of naringin against the LPS-induced apoptosis of PC12 cells: Implications for the treatment of neurodegenerative disorders. *International Journal of Molecular Medicine*, 2017, 39(4), 819-830.
214. Kuzu M, Yıldırım S, Kandemir FM, Küçükler S, Çağlayan C, Türk E, Dörtbudak MB. Protective effect of morin on Doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chemico-biological interactions*, 2019, 308, 89-100.
215. Çağlayan C, Temel Y, Kandemir FM, Yıldırım S, Küçükler S. Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(21), 20968-20984.

216. Cortes-Funes H, Coronado C. Role of anthracyclines in the era of targeted therapy. *Cardiovascular toxicology*, 2007, 7(2), 56-60.
217. Matouk AI, Taye A, Heeba GH, El-Moselhy MA. Quercetin augments the protective effect of losartan against chronic Doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2013, 36(2), 443-450.
218. Rašković A, Stilinović N, Kolarović J, Vasović V, Vukmirović S, Mikov M. The protective effects of silymarin against Doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Molecules*, 2013, 16(10), 8601-8613.
219. Chtourou Y, Slima AB, Makni M, Gdoura R, Fetoui H. Naringenin protects cardiac hypercholesterolemia-induced oxidative stress and subsequent necroptosis in rats. *Pharmacological Reports*, 2015, 67(6), 1090-1097.
220. Adi, M, Kandhare AD, Visnagri A, Bodhankar SL. Naringin ameliorates sodium arsenite-induced renal and hepatic toxicity in rats: decisive role of KIM-1, Caspase-3, TGF- β , and TNF- α . *Renal failure*, 2015, 37(8), 1396-1407.
221. Kwatra M, Kumar V, Jangra A, Mishra M, Ahmed S, Ghosh P, Vohora D, Khanam R. Ameliorative effect of naringin against Doxorubicin-induced acute cardiac toxicity in rats. *Pharmaceutical biology*, 2016, 54(4), 637-647.
222. El-Moselhy MA, El-Sheikh AA. Protective mechanisms of atorvastatin against doxorubicin-induced hepato-renal toxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2014, 68(1), 101-110.
223. Akarca, U. S. (2007). Karaciğer fonksiyon testi yüksekliğine tanısal yaklaşım. 9. *İç Hastalıkları Kongresi*.
224. Afsar T, Razak S, Almajwal A. Effect of Acacia hydasypica R. Parker extract on lipid peroxidation, antioxidant status, liver function test and histopathology in Doxorubicin treated rats. *Lipids in Health and Disease*, 2019, 18(1), 1-12.
225. Aljumaılı SAA. Wistar Ratlarda Doksorubisin İle İndüklenen Kardiyotoksisite Üzerine Krosinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. 2021.
226. Ibrahim Fouad G, Ahmed KA. Curcumin Ameliorates Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity and Hepatotoxicity Via Suppressing Oxidative Stress and Modulating iNOS, NF- κ B, and TNF- α in Rats. *Cardiovascular Toxicology*, 2022, 22(2), 152-166.
227. Pakravan G, Foroughmand AM, Peymani M, Ghaedi K, Hashemi MS, Hajjari M, Nasr-Esfahani MH. Downregulation of miR-130a, antagonized Doxorubicin-induced cardiotoxicity via increasing the PPAR γ expression in mESCs-derived cardiac cells. *Cell death & disease*, 2018, 9(7), 1-10.
228. Akin AT, Öztürk E, Kaymak E, Karabulut D, Yakan B. Therapeutic effects of thymoquinone in Doxorubicin-induced hepatotoxicity via oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2021, 50(6), 908-917.
229. Wali AF, Rashid S, Rashid SM, Ansari MA, Khan MR., Haq N, Ahmad A, Alhareth YD, Rehman MU. Naringenin regulates Doxorubicin-induced liver dysfunction: impact on oxidative stress and inflammation. *Plants*, 2020, 9(4), 550.
230. Kaya N, Tektemur A, Güzel EE. Doksorubisin ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Hesperetin'in Terapötik Etkileri: DRP1 ve MFN2'nin Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 2021, 35(2), 80-86.
231. You J, Gao F, Tang H, Peng F, Jia L, Huang K, Chen J, Chow K, Zhao J, Liu H, Lin Y. A medicinal and edible formula YH0618 ameliorates the toxicity induced by Doxorubicin via regulating the expression of Bax/Bcl-2 and FOXO4. *Journal of Cancer*, 2019, 10(16), 3665.

232. Zhao Z, Liao G, Zhou Q, Lv D, Holthfer H, Zou H. Sulforaphane attenuates contrast-induced nephropathy in rats via Nrf2/HO-1 pathway. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
233. Kalantary-Charvadeh A, Sanajou D, Hemmati-Dinarvand M, Marandi Y, Khojastehfard M, Roshangar L, Mesgari-Abbasi M, Hajipour H, Nazari Soltan Ahmad S. Micheliolide protects against Doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice by regulating PI3K/Akt/NF-kB signaling pathway. *Cardiovascular toxicology*, 2019, 19(4), 297-305.
234. Aljobaily N, Viereckl MJ, Hydock DS, Aljobaily H, Wu TY, Busekrus R, Han Y, Jones R, Alberson J. Creatine alleviates Doxorubicin-induced liver damage by inhibiting liver fibrosis, inflammation, oxidative stress, and cellular senescence. *Nutrients*, 2020, 13(1), 41.



EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Pelin DURUKAN AZMAN
Doğum tarihi:
Doğum Yeri:
Medeni Hali:
Uyruğu:
Adres:
Tel:
Faks:
E-mail:
Eğitim
Lise:
Lisans:
Yüksek lisans:
Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce:
Almanca:
Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2 ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Pelin DURUKAN AZMAN
Öğrencinin Numarası	Öğrenci numarasını yazmak için tıklayınız
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Fizyolojisi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%15	% 15
II. Genel Bilgiler	%21	% 35
III. Materyal ve Metod	%32	% 35
IV. Bulgular	%14	% 15
V. Tartışma	%14	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Pelin DURUKAN AZMAN	Prof. Dr. Dursunali ÇINAR
Tarih girmek için burayı tıklayınız	Tarih girmek için burayı tıklayınız
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : 75296309-050.01.04-E.2000106287
Konu : HADYEK Kararı.

16.04.2020

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 15.04.2020 tarihli ve 36643897-000-E.2000105884 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 16.04.2020 tarih ve 3 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 52 no'lu kararı ile sözkonusu doktora tez çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığınıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 16.04.2020

TOPLANTI SAYISI : 3

KARAR N0 52: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Dursunali ÇINAR'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan “Ratlarda Doksorubisin ile İndüklenen Hepatotoksisitede Oksidatif Stres, İnflamasyon, Apoptozis ve DNA Hasarı Üzerine Naringinin Protektif Etkileri” isimli Doktora tez çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 15.04.2020 tarihli ve 36643897-000-E.2000105884 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen Doktora tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.