CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ RATLARDA SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR ÜZERİNE NARİNGİNİN PROTEKTİF ETKİLERİ

İslam CENGİZ

Veterinerlik Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Yüksek Lisans Tezi-2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ RATLARDA SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR ÜZERİNE NARİNGİNİN PROTEKTİF ETKİLERİ

İslam CENGİZ

Veterinerlik Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

ERZURUM
2017

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK FAKÜLTESİ FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

CYCLOPHOSPHAMİDE İLE İNDÜKLENMİŞ RATLARDA SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR ÜZERİNE NARİNGİNİN PROTEKTİF ETKİLERİ

İslam CENGİZ

Tez Savunma tarihi	:26.09.2017
Tez Danışmanı	:Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ
Jüri Üyesi	:Prof. Dr. D.Ali ÇINAR
Jüri Üyesi	:Yrd.Doç.Dr.Volkan GELEN

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehtap TAN
Enstitü müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM-2017

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER ..... **I**

TEŞEKKÜR ..... **III**

ÖZET ..... **IV**

ABSTRACT ..... **V**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **VI**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **VIII**

TABLOLAR DİZİNİ ..... **IX**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **3**

2.1.Siklofosfamid 3

2.2.Naringin 5

2.3. Serbest Radikaller 7

2.4. Antioksidanlar 11

2.5. Oksidatif Stres 13

2.6. DNA Hasarı 13

3. MATERYAL VE METOT **16**

3.1.Materyal 16

3.1.1. Hayvan Materyali 16

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler 16

3.1.3. Kimyasal Maddeler 17

3.1.2. Yöntem 17

3.2.1. Total Oksidan Durum (TOS) Tayini 18

3.2.2. Total Antioksidan Durum (TAS) Tayini 19

3.2.3. Osidatif Stres İndeksi 20

3.2.4. DNA Hasarı (8-OHdG) Belirlenmesi 20

3.3. İstatiksel Analiz 22

4. BULGULAR 23

5. TARTIŞMA 28

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 34

KAYNAKLAR 35

EKLER 49

EK 1. ÖZGEÇMİŞ 49

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU 50

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim ve öğretimim süresince, gerek ders gerekse tez çalışmamın her aşamasının planlanması, yürütülmesi, kontrol ve değerlendirilmesindeki yakın ilgi ve alaka, bilimsel teşvik, engin hoşgörü ve her türlü desteklerinden dolayı tez danışmanım çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ' ye teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen çok kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. D. Ali ÇINAR' a, Sayın Doç. Dr. Devrim Sarıpınar AKSU' ya Sayın Yrd. Doç. Dr. Emin ŞENGÜL' e, ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Leyla MİS' e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Sevgi ve özverileriyle bugünlere gelmemi sağlayan sevgili babama, anneme kardeşime ve sevgili eşime destek ve teşviklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İslam CENGİZ

ÖZET

Cyclophosphamide ile İndüklenmiş Ratlarda Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Üzerine Naringinin Protektif Etkileri

Amaç: CYP antineoplastik alkilleyici bir ajan olup, çeşitli malign tümörlerin tedavisinde sık sık kullanılmaktadır. CYP'nin yan etkileri başlıca; renal toksisite, hematopoetik depresyon, ve hemorojik sistitdir. Son zamanlarda antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini azaltmak için bazı bitkisel kökenli bileşiklerin kullanıldığı çalışmaların sayısı artmaktadır. Bu bitkisel kökenli bileşiklerden birisi de naringindir. Naringin süper oksit süpürücü ve antioksidant etkiye sahip bir maddedir. Bu çalışmada siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda kan ve serum örneklerinde naringinin antioksidanlar ve serbest radikaller üzerine protektif etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot: Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı ratlar kullanıldı. Her bir grupta yeterli doku örneklerinin sağlanabilmesi için 8 rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu.

Tüm hayvanlar standart bakım ve beslenme şartlarına tabi tutuldu. Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1 ml) verildi. Grup 2'ye 10 gün boyunca i.g. serum fizyolojik verildi ve 10. Gün tek doz intra peritonal CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 ve 100mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve 10. Gün Naringin enjeksiyonundan sonra tek doz i.p. CYP (200 mg/kg) uygulaması yapıldı. Grup 5'e ise 10 gün boyunca yalnızca serum fizyolojikte çözdürülmüş 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı. CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde ratlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alınarak intra kardiyak kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildi. Ratlardan alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktarılarak +4 ˚C de soğutmalı santrifüjde 3500-4000rpm devirde 10 dk santrifüj edildi, elde edilen serum önekleri aligotlanarak analiz edilene kadar -80 ˚C de muhafaza edildi. Elde edilen kan ve serum örneklerinde Total Antioksidan, Total Oksidan, Oksidatif stres indeksi, DNA hasarı parametrelerine bakıldı. Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Duncan testi uygulanarak değerlendirildi.

Bulgular: CYP'nin ratlarda oksidatif stresi artırdığı, antioksidanları baskıladığı ve DNA hasarına yol açtığı tespit edildi.

Sonuç: Naringin'in farklı dozlarının CYP'nin sebep olduğu oksidatif stresi baskıladığı ve antioksidan miktarını artırarak DNA hasarının tamirinde önemli bir rolü olabileceği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, CYP, Naringin, Serbest Radikal

ABSTRACT

Protective Effects of Naringin on Free Radicals and Antioxidants in Cyclophosphamide Induced Rats

Aim: CYP is an antineoplastic agent and is frequently used in the treatment of various malignant tumors. The side effects of CYP are mainly; renal toxicity, hematoboetic depression, and hemorrhagic cystitis. Recently the number of studies using plant-based compounds has been increasing for reduce the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. One of these herbal compounds is naringin. Naringine is a superoxide scavenger and an antioxidant substance. In this study, the protective effects of naringin on antioxidants and free radicals were investigated in blood and serum specimens in cyclophosphamide-induced rats.

Material and Methods: Forty male adult Sprague Dawley rats weighing approximately 200-250 g were used in our study. Eight rats were used in each group and 5 groups were formed. All animals were subjected to standard maintenance and feeding conditions. Group 1 received saline (1 ml) intragastric (i.g.) for 10 days. Group 2 received 10 days intragastric serum physiologic was given and intraperitoneal (i.p.) CYP (200 mg / kg) was given at the 10th day in a single dose. Groups 3 and 4 were treated for 10 days with 50 and 100 mg / kg, respectively, in saline solubilized Naringin was administered and a single dose of CYP (200 mg / kg, i.p.) was administered after 10 days of naringin injection. Group 5 received 100 mg / kg i.g. solubilized in saline only for 10 days Naringine was applied. Forty-eight hours after the CYP administration, on the 12th day of the experiment, intracardiac blood samples were taken under anesthesia with rats thiopental sodium (20 mg / kg) and sacrificed by cervical dislocation method. Blood samples from rats were transferred to gli tubes with clot factor and centrifuged at 3500-4000 rpm for 10 minutes in a refrigerated centrifuge at +4 °C. The resulting serum samples were aliquoted and stored at -80 ° C in freezer until analysis. Parameters such as total antioxidant, total oxidant, oxidative stress index and DNA damage were measured in the obtained blood and serum samples. The quantitative values obtained at the end of the studies were evaluated by applying the one-way ANOVA Duncan test used in statistical analysis of more than two independent groups in SPSS 20.00 statistical data program.

Results: CYP has been shown to increase oxidative stress, suppress antioxidants and cause DNA damage in rats.

Conclusion: It was determined that the different doses of naringin inhibited the oxidative stress which caused by CYP and it was founded that may have an important role in repearing DNA damage by increasing the amount of antioxidants.

Keywords: **:** Antioxidant, CYP, Free Radical, Naringin.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABS : Absorbans

ALL : Akut Lenfoblastik Lösemi

CAT : Katalaz

Cis : Sisplatin

CYP : Siklofosfamid

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

Dox : Doxorobucin

FAM : Fosfamid Mustard

Fe^{+2} : Ferrus

Fe^{+3} : Ferrik

GR : Glutatyon Redüktaz

GPx : Glutatyon Peroksidaz

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

I/R : İskemi Reperfüzyon

i.g. : İntra Gastrik

i.p. : İntra Peritoneal

MDA : Malondialdehit

O_2 : Oksijen

$O^{-}_{2}\cdot$: Süperoksit Radikali

$^1O_2$: Singlet Oksijen

$^{\cdot}OH$: Hidroksil Radikali

OSİ : Oksidatif Stres İndeksi

$ONOO^-$: Peroksinitrit

RNA : Ribo Nükleik Asit

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

SD : Standard Deviation

SOD : Süperoksit dismutaz

TAS : Total Antioksidan Seviye

TOS : Total Oksidan Seviye

UV : Ultra Viole

$\bar{X}$: Ortalama

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Siklofosfamid; 2–bis (kloroetil) amino tetrahidro–2H–1,2,3– oksazofosforin 2–oksit'in kimyasal yapısı 3

Şekil 2.2. Siklofosfamid'in metabolizması..... 4

Şekil 2.3. Flavonoid molekülünün genel yapısı.....6

Şekil 2.4. Naringin ve aktif metaboliti olan naringenin kimyasal yapısı.....7

Şekil 2.5. Oksidatif stres mekanizması..... 13

Şekil 2.6. 2-deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu 14

Şekil 4.1. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin TOS üzerine etkileri 24

Şekil 4.2. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin TAS üzerine etkileri. 25

Şekil 4.3. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin OSİ üzerine etkileri. 26

Şekil 4.4. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin DNA hasarı(8-OHdG) üzerine etkileri.. 27

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No **Sayfa No**

Tablo 2.1. Farklı Gruplardaki Flavanoidler 6

Tablo 2.2. Radikal ve Radikal Olmayan Reaktif Oksijen Türleri 8

Tablo 2.3. Antioksidan Sistemler 12

Tablo 3.1. Deney Grupları ve Gruplardaki Deney Hayvanı Sayıları 16

Tablo 3.2. Standart Solüsyonun Dilüsyonu 21

Tablo 4.1. Kontrol ve Deneme Gruplarında Total Oksidan Durumu (TOS), Total Antioksidan Durumu (TAS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve DNA (8-Ohdg) Hasarı Düzeyleri 23

1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmaları demektir. Hücrelerin kontrolsüzce çoğalması ve metastaz yapmasıyla normal doku ve hücrelerin bütünlüğü ve biyolojik fonksiyonları bozulur. Kanser dünyada ölüm oranının yüksek olduğu hastalıklardan biridir. Günümüzde kanser teşhisi konulan hastaların tedavisinde hastanın hastalık durumuna göre bazı farklı tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Bunlar genel hatlarıyla kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahalelerdir. Ancak bu yöntemlerde bazı olumsuz ve istenmeyen yan etkiler de görüldüğü için, tedavi süreci kanserli hastalarda hastanın konforunu olumsuz yönde etkileyen zor ve sıkıntılı bir süreçtir. Özellikle kemoterapi ve radyoterapi sağlıklı hücrelere aşırı zarar verebilmektedir. Genel olarak bakıldığında erişkin kanser hastalarında sağlığına kavuşma oranı 1960'larda %39 iken bu oran 1990'larda %60'a ulaşmıştır. İyileşme oranlarında görülen bu artışta, kombine tedavi yöntemlerinin de bir bir payı vardır.[1,2,3]

Kemoterapinin asıl amacı sağlıklı hücrelerin zarar görmeden tümör büyümesini durdurarak yok etmektir. Ancak antineoplastik ilaçların seçici özelliği düşük olduğundan patolojik sekilde çogalmakta olan hücreleri yok etmekle beraber normal hücreleride yok ederler. Bu nedenle kanser ilaçlarının hücre, doku ve organ üzerinde yan etkileri vardır.[4]

Bu antineoplastik ilaçlardan biriside siklofosfamid (CYP)'dir. Nitrojen mustard sınıfındaki ilaçlardan olan CYP sitotoksik alkilleyici bir ajan olup, çeşitli malign tümörlerin tedavisinde sık sık kullanılmaktadır.[5] Siklofosfamid kullanılan bazı çalışmalarda CYP'nin mesane kanseri oluşturduğu tespit edilmiştir.[6] Ayrıca immünosupresif özelliğinden dolayı romatoid artrit,[7] sistemik lupus eritematozus ile skloderma gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır.[8] CYP'nin

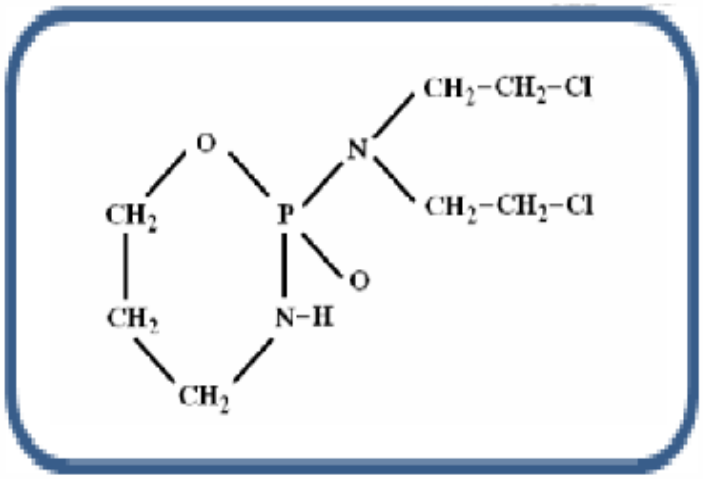
kusma, bulantı, deride lezyonlar, ağız yaraları, sistit, adet siklusunun bozulması gibi yan etkileri bulunmaktadır.[9] CYP'nin karaciğer üzerine de olumsuz etkileri bulunmakta olup son yapılan çalışmalarda CYP'nin 100mg/kg dozunun Swiss farelerinin karaciğer dokularında malondialdehyde (MDA) seviyelerini artırarak ve antioksidan savunmasını azaltarak karaciğerde oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.[10] CYP'nin kemoterapi ve kök hücre naklinden sonra kullanımının kardiyak ve vasküler toksisiteye neden olduğu belirtilmiştir.[11] Antikanser ilaçların olası yan etkilerini ve oluşabilecek oksidatif stresi azaltmak için bazı antioksidatif ajanlar kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda CYP ile indüklenen çeşitli doku hasarları üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir.[10,12,13] Bu antioksidan etkili bileşiklerden birisi naringin'dir. Naringin çeşitli meyve ve sebzelerde bolca bulunan antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanser etkili flavonoidtir.[14]

Naringinin doxorobucin (Dox) ile indüklenen kardiyotoksisite modelinde antioksidan savunma sistemini destekleyerek kalp dokusu üzerine koruyucu etkili olduğu rapor edilmiştir.[15] Bu bilgiler ışığın da ratlarda CYP ile oluşturulan kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisite gibi olgularda naringin'in etkileri ile ilgili yeterli düzeyde literatür bilgiye rastlanılamamıştır. Bu çalışmamızda CYP ile indüklenen ratlarda Total Antioksidan (TAS), Total Oksidan (TOS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve DNA hasarı üzerine güçlü bir antioksidan ve antiinflamatuvar flavonoid olan naringin'in etkilerini araştırarak literatüre katkıda bulunulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Siklofosfamid

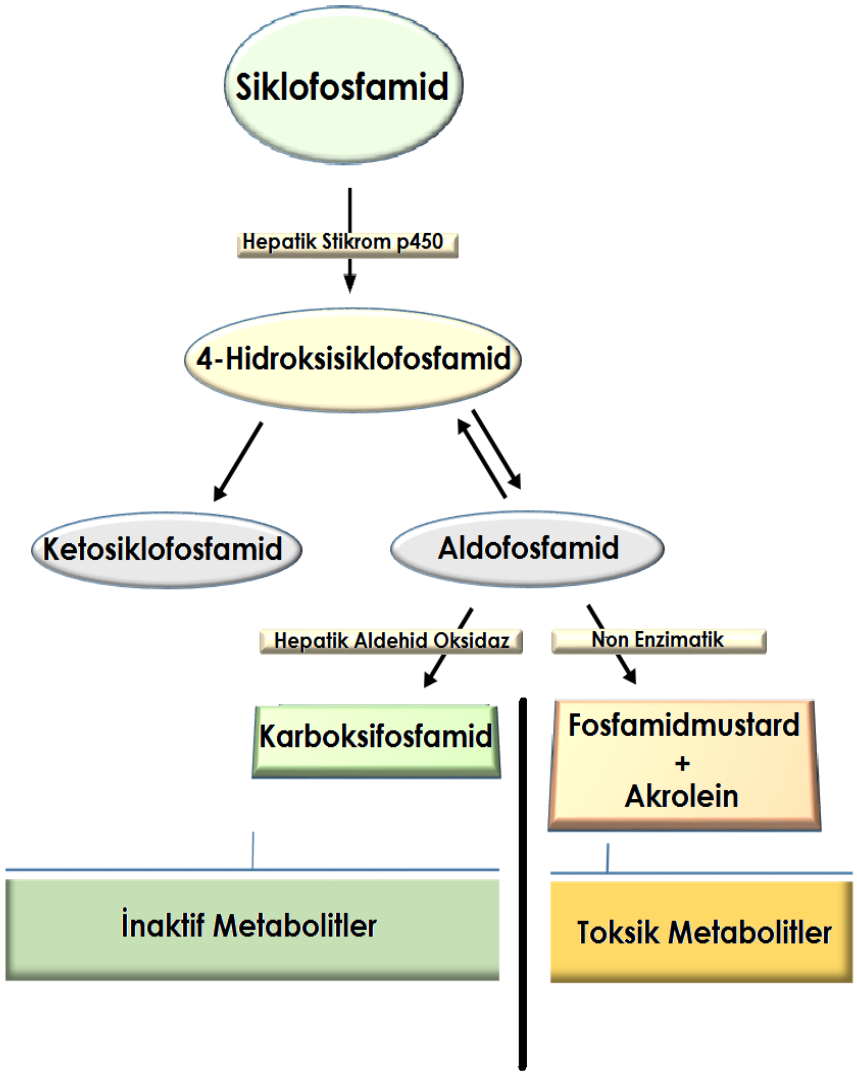
Kanser tedavisinde yoğun olarak kullanılan siklofosfamid antineoplastik ilaçların alkilleyici grubunda yer almaktadır.[16] Aynı zamanda siklofosfamid iyi bir mutajendir.[17] CYP'nin onkosidal etki göstermesi için metabolik aktivasyona ihtiyacı vardır.[18] Humoral ve hücresel bağışıklık sistemini bastıran CYP ve onun metabolit kaynaklarıdır.[19]



Şekil 2.1. Siklofosfamid; 2–bis (kloroetil) amino tetrahidro–2H–1,2,3– oksazofosforin 2–oksit'in kimyasal yapısı[20]

Hepatik sitokrom P450 sistemi CYP'yi aktif formları olan 4-hidroksisiklofosfamid ve aldofosfamide dönüştürür. Daha sonra da aldofosfamid Fosfamid mustarad (FAM) ve acroleine dönüşür.[21] FAM'ın DNA'ya bağlanması sonucunda hücre bölünmesini baskıladığı ve böylece bağışıklık sistemini baskıladığı ayrıca antitümör etkilere aracılık ettiği düşünülmektedir. Bazı makro moleküllerin sülfrid gruplarıyla etkileşime giren acroleinin de bağışıklığı baskıladığı

düşünülmektedir.[22,23] Acrolein mesane mukozasında toksik etkide bulunduğu için hemorojik sistide neden olabilir.[24]



Şekil 2.2. Siklofosfamid'ın metabolizması[25]

Plazmadaki yarılanma ömrü 6,5 saat olan CYP parental veya oral verilebilir. Parental verildiklerinde aktif olan metabolitlerin plazmada en yüksek değere ulaşma süreleri 2-3 saatdir.[26]

Siklofosfamid akciğer kanseri,[27] çocukların akut lenfositik lösemi,[28] pediatrik solid tümörler, hodykin dışı lenfomalar gibi hastalıklar da kullanılabilir.[29] Bunun

dışında bağışıklığı baskılayan etkisinden dolayı behçet hastalığı, çocukların nefrotik sendromu ve romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarda kullanılabilir.[30,31] Siklofosfamid'in bulantı, kusma, alerjik reaksiyonlar, kemik iliği depresyonu, sekonder lösemi gibi yan etkileri bulunmaktadır.[32] Ayrıca emziren kadınlarda CYP kullanıldığında süte geçerek bebeklerde immünosüpresyon, gelişme geriliği gibi etkiler yapmaktadır.[33] Karbon iyonları üreterek nükleik asit ve proteinlerin merkezindeki elektronlarla tepkimeye girmesini sağlayan CYP bu tarz tepkimelerde mutasyon, DNA hasarı ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) açığa çıkmasına sebep olabilir.[34] Fazla oluşan ROS, DNA hasarına neden olmakla beraber oksidan-antioksidan dengeyi bozarak hücresel disfonksiyona sebep olur.[35] DNA hasarı sonucunda ise sağlıklı dokularda ilerleyen süreçte kansere de sebep olabilir.[36] Siklofosfamid Glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) gibi enzimlerde azalmaya malondialdehit (MDA) seviyesinde ise artmaya sebep olarak oksidatif hasar meydana getirir. CYP nin bu etkileri göz önünde bulundurularak uygulamasının dikkatli ve kontrollü olması gerekir.[37] Siklofosfamid'in yan etkilerini engellemek için vücut doğal antioksidanlarıyla bir savunma oluşturmaya çalışır. Bazı araştırmalar kemoterapi sırasında antioksidan uygulamalarının kemoterapiden kaynaklı reaksiyonları kontrol altına alabileceğini göstermiştir.[38]

2.2.Naringin

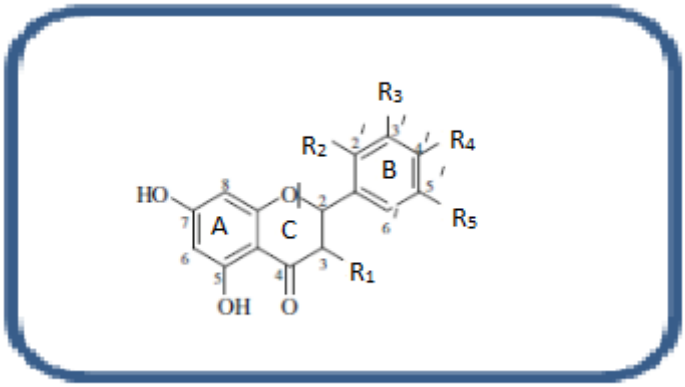
Suda çözünebilen en önemli antioksidan grup fenolik birleşiklerdir. Antioksidan özelliğe sahip ve bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik bileşikler önemli sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşiklere yapıları farklı olsa bile polifenoller de

denilebilmektedir.[39] Fenolik bileşikler fenolik asitler ve flavanoidler olarak ayrılırlar. Flavanoidler ve sinamik asitler en önemli antioksidanlardır.[40]

Tablo 2.1. Farklı Gruplardaki Flavanoidler[41]

GRUPLAR	**GRUPLARA AİT TÜRLER**			
FLAVONOLLER	Quercetin	Rutin	Kaempferol	Rhamnetin
FLAVANONLAR	Naringenin	Eriodiktol	Hesperidin	
FLAVONLER	Chrysin	Abigenin	Luteolin	
BİFLAVONOİDLER	Amentoflavon			
DİHİDROFLAVONOLLER	Taksifolin	Slibin		
FLAVANOLLER	Catechin	Epicathechin		

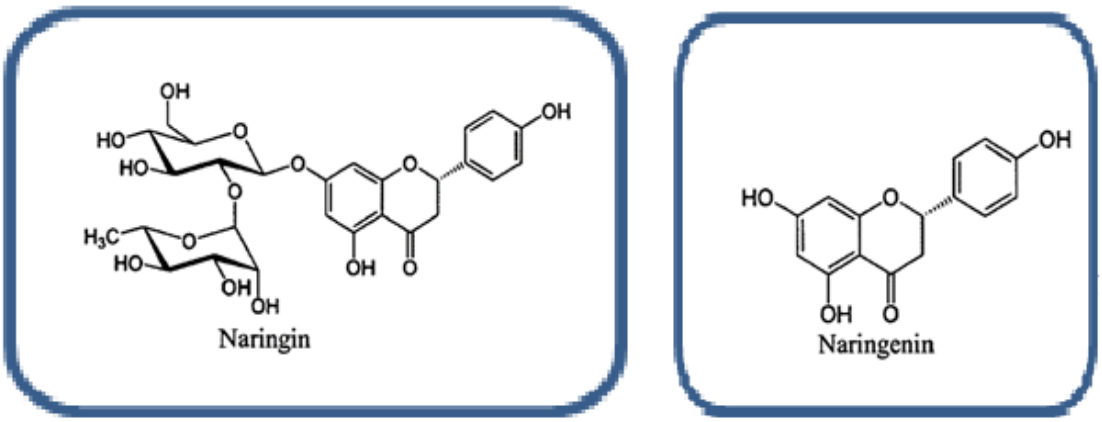
Flavanoidler çok önemli antioksidanlar olup düşük densiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu azaltarak kardiyovasküler hastalıklara karşı koruma sağlar.[42]



Şekil 2.3. Flavanoid molekülünün genel yapısı[43]

Bu flavanoidlerin en önemlilerinden birisi naringindir. Naringin pek çok narenciye ve greyfurttaki aktif glikozid flovandır.[44] Naringin Citrus cenneti, Citrus sinensis, Citrus unshiu ve Artemisia selengensis gibi üzüm meyvelerinin iyi bilinen bir flavanon glikozitidir.[45] Saf şekli sarımsı bir tozdur ve tadı acıdır ayrıca greyfurtta fazlaca bulunmaktadır.[46] Naringinin anti ülser, aorta dilatosyonu, süperoksit süpürücü ve antioksidan aktivitelere sahip olduğu görülmüştür.[47,48,49] Naringin serbest radikalleri

süpürücü, lipit düşürücü, anti-kanserojen ve antioksidan etkileri içeren bir flavanoiddir.[50] Dahası, göğüs kanseri, hücre çoğalmasının inhibisyonu ve meme tümörü oluşumunu geciktirdiği gözlenmiştir.[51] Naringin'in GPx, SOD ve CAT'ın gen ekspresyonlarını düzenleyerek CAT ve SOD aktivitelerini artırdığı ve antioksidan kapasitesinin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir.[52] Naringin oral yoldan uygulandığında bağırsak mikroflorası tarafından hidrolize edilerek absorbe edilebilen büyük bir metabolit olan naringenin'e dönüşebilir.[53]



Şekil 2.4. Naringin ve aktif metaboliti olan Naringeninin kimyasal yapısı[54]

2.3. Serbest Radikaller

Bir ya da daha çok eşlenmemiş elektron içine alan molekül ya da atomlar serbest radikal olarak adlandırılır.[55] Bunlar kararsız yapılarından dolayı organik ve inorganik maddelerle reaksiyona girebilir.[56] Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler.[57] Yaşlanmayı çabuklaştırır, kalp-damar hastalığı, katarakt, kanser ve bağışıklık sistemi bozuklukları gibi hasarları oluştururlar.[58] Serbest radikaller nükleik asitler, lipitler, proteinler ve kabonhidratlarla reaksiyona girebilirler ve yapısal değişiklik yapabilirler. Yaptıkları bu etkilerle oksidasyona, kromozom kırılmalarına, mutasyonlara ve ölümlere neden olabilirler.[59]

Serbest radikaller biyolojik ya da hücresel kaynaklı olabilirler. Peroksizomlardaki enzimler, mitokondriyal elektron transport sistemi, oksidatif stres durumları (iskemi ve reperfüzyon hasarı, travma, intoksikasyon) hücresel kaynaklı, radyasyon, antineoplastik ilaçlar, lipit metabolizması sonucu ortaya çıkan toksik ürünler, ultra viole (UV) ışınları, virüsler, hava kirliliği oluşturan fosil kaynaklı yakıtların yanma sonucundaki ürünleri, sigara dumanı, çevresel kirleticiler, aktive olmuş fagositler, enfeksiyon ve stres ise biyolojik kaynaklı radikal ürünleridir.[60,61] Ayrıca egzersiz durumlarında da radikal ortaya çıkabilir. Oksijen alımının artmasıyla hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil artabilir. Artan laktik asit süperoksidi hidroksile çevirebilir ve böylece oksidatif hasara neden olabilir.[62] Serbest radikallerin önemli kısmını oluşturan ve yaşam süreleri kısa olan yapılar Reaktif oksijen türleri (ROS)'dir. ROS'lar yüksek reaktif ajandır ve elektron paylaşarak diğer moleküllerle daha hızlı reaksiyona girmek için dış yörüngelerinde tek ve paylaşılmamış elektron taşırlar. Düşük yoğunlukta olmalarına rağmen hücre bileşenleri ile hızlıca etkileşime giren ve daha zararlı olan yapılardır.[60,63]. ROS'lar tek elektronunu başka moleküllere verenler (radikaller) ve elektron eksiği yokken başka molekküllerle birleşebilenler (non-radikal) olmak üzere iki kısma ayrılır bu da Tablo 2.2' de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Radikal ve Radikal Olmayan Reaktif Oksijen Türleri[60]

RADİKALLER	**RADİKAL OLMAYANLAR**
Süperoksid Anyon Radikali(O_2^-)	Hidrojen Peroksit(H_2O_2)
Hidroksil(OH^-)	Hipokloröz Asit (HOCL)
Peroksil(ROO)	Ozon (O_3)
Alkoksil(RO)	Singlet Oksijen (O^-)
Nitrik Oksit (NO)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Hidroperoksit(HOO)	Lipit Hidroperoksit (LOOH)

Aerobik organizmalarda başlıca radikal kaynağı oksijen (O_2)'dir.[64] O_2 elektron dağılımından dolayı 2 elektronu eşleşmediği için başka radikallerle çok kolay şekilde etkileşime girebilir. O_2 kaynaklı radikaller oksidatif hasar yapabilirler.[64,65] En iyi bilinen oksijen kaynaklı radikal süper oksittir ($O^{-}_{2}{}^{\cdot}$) . Süper oksit aerobik hücrelerde ilk üretilen ROS türüdür.[64] Süperoksitin en önemli özelliklerinden biri güçlü indirgeyici bir ajan olmasıdır.[66]

$$\mathbf{O_2 + e^- \longrightarrow O_2^-}$$

Süper oksit nitrik oksitle birleşerek oldukça güçlü bir hasar verici olan peroksinitrit oluşturabilirler ($ONOO^-$).[55]

$$\mathbf{O^{-}_{2}{}^{\cdot} + NO. \longrightarrow ONOO^-}$$

Süper oksit serbest radikal olmasına rağmen aşırı zararlı değildir. Süper oksit'in asıl önemi geçiş metallerinin indirgeyicisi ve hidrojen peroksidin (H_2O_2) kaynağı olmasıdır. İki adet süperoksit anyon radikali birbiriyle reaksiyona girerler ve hidrojen peroksiti oluştururlar.[67]

$$\mathbf{O_2^- + e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2}$$

Hidrojen peroksit (H_2O_2) , süper oksit ($O^{-}_{2}{}^{\cdot}$) ile reaksiyona girerek çok güçlü bir radikal olan hidroksil ($^{\cdot}OH$) radikalini oluşturabilir ve bu reaksiyona haber-weis ismi verilir. Hidroksil($^{\cdot}OH$) radikali aşırı reaktif olduğu için hücresel komponentlerle hızlıca reaksiyona girebilir ve bu yüzden de çok toksik bir etki gösterebilir.[67]

$$\mathbf{O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^- + O_2}$$

Haber weis reaksiyonu katalizörü olmadan oldukça yavaş bir reaksiyondur**.** Ancak katalizör olarak demir katıldığı anda (fenton reaksiyonu) ise oldukça hızlı bir reaksiyon halini alır.[68]

$$Fe^{+2} + H_2O_2 \longrightarrow OH^{\cdot} + OH^{-} + Fe^{+3}$$

Bir başka oksijen türüde singlet oksijendir. Ortaklanmamış elektronu olmadığından dolayı radikal sayılmayan bir ROS molekülüdür. Süper oksit ($O^{-}_{2}{}^{\cdot}$)'in hidroksil ($^{\cdot}OH$) radikali ile tepkimeye girmesiyle oluşur.[55]

$$O_2^{-} + OH^{\cdot} \longrightarrow {}^1O_2 + OH^{-}$$

Organizmadaki savunma duvarını aşan serbest radikaller oldukça büyük hasarlara neden olabilir. Bu hasarlar;[69]

- DNA'nın aşırı bir şekilde tahrip olması,
- Lipid peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
- Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı,
- Lipit metabolizmasındaki değişiklikler,
- Zar proteinlerinin tahribi ve protein döngüsünün artması,
- Yaş pigmentlerinin birikimi,
- Mukopolisakkaritlerin yıkımı.

Oksidatif hasardan kaynaklanan DNA ile protein arasında çapraz bağlanma, baz modifikasyonları veya DNA'da tek ve çift dal kırıkları meydana gelebilir.[70] Ayrıca hidroksil radikali ($^{\cdot}OH$) DNA' nın bütün komponentleri ve deoksiriboz iskeleti, pürin ve pürimidin bazları ile reaksiyona girebilmektedir.[71] Bu reaksiyona girilmesiyle adenin ve guanini etkileyerek mutasyonlar meydana getirebilir. DNA'da en çok oluşan oksidatif

baz modifikasyonu 8-hidroksi-2 deoksiguanozin (8-OHdG)'dir.[72] ROS'ların neden olduğu mutasyon kanserin başlamasına, oksidatif stres mutant hücre kolonilerinin artmasına ve hücrelerin ölmesine neden olabilir.[69]

Serbest radikallerin hedef molekülden elektron koparma yeteneğinden dolayı bu molekülün yapı ve işlevlerini ayrıca DNA, RNA ve enzimatik olaylarını bozarak çeşitli hücresel hasarlara yol açtığı bilinmektedir. Radikallerin bu etkilerini canlı organizmada bulunan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan sistemler temizleyebilir.[73]

2.4. Antioksidanlar

Serbest radikallerin oluşturduğu oksidasyonu önleyen ve geciktiren maddelere antioksidan denir. Oksidasyon sonucu oluşacak zararlara karşı vücudun doğal savunma sistemine ise antioksidan sistem denir. Bu durumlarda antioksidanlar elektron göndererek radikalleri etkisiz hale getirirler.[74,75] Vücudumuz serbest radikale bağlı oksidasyon sonucu oluşabilecek hasarlara karşı antioksidan enzim, antioksidan vitamin, sülfirid ve glutatyon'dan meydana gelmiş sistem ile koruma altına alınmıştır.[76]

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak ayrılabilirler. Bu grupların ikiside reaktif oksijen türlerini detoksifiye etmek için intraselüler veya ekstraselüler çevrede bulunabilir. Enzimatik antioksidanlar; Süperoksit dismutaz (SOD), Glutation peroksidaz (GPx), Katalaz (CAT) ve Glutatyon redüktaz (GR)'dır. Non enzimatikler ise Mineraller, Karotenoidler (β-karoten, likopen), Vitaminler (vitamin A, C, E,), Polifenoller (fenolik asitler, flavonidler), ürik asit, pirüvat, albümin, bilirubin, melatonin ve transferrin'dir.[77] Ayrıca antioksidan sistemler Tablo 2.3'de gösterilmiştir. Antioksidanlar ROS'ların toksisitesine karşı ROS oluşumunu engellemek ve sebep

olduğu hasarların tamirini kolaylaştırmak ve aynı zamanda diğer antioksidanların etkileri için elverişli ortam hazırlar.[79]

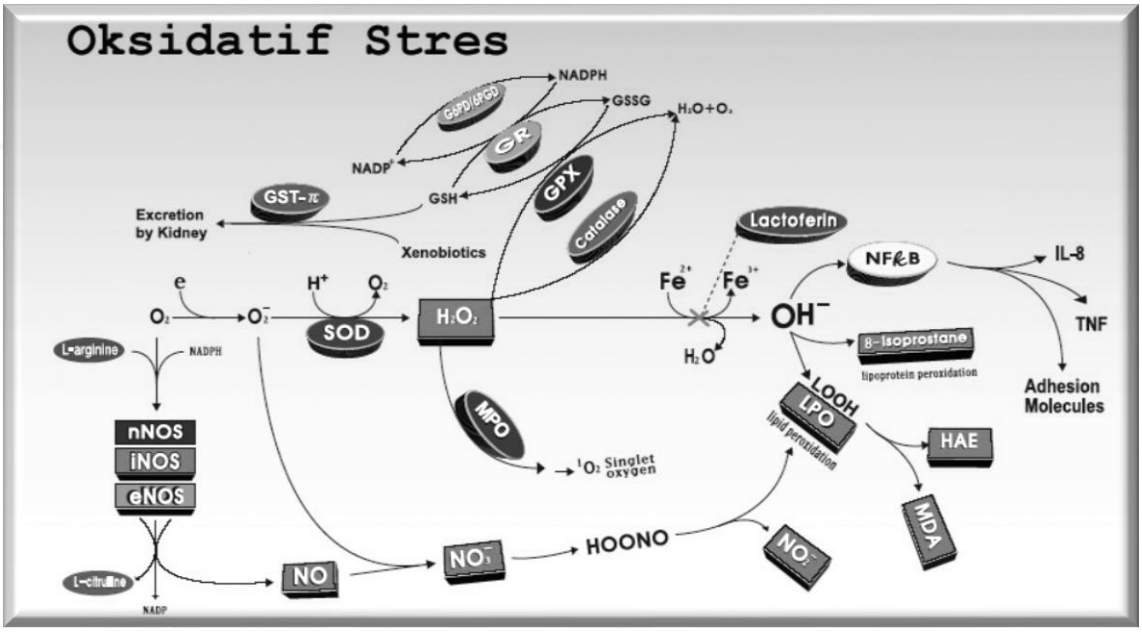
Tablo 2.3. Antioksidan Sistemler[78]

Süpürücü Antioksidanlar	**Enzimatik Antioksidanlar**	**Sentetik Antioksidanlar**	**Preventif Antioksidanlar**
Askorbik Asit	Katalaz	Allopurinol	Transferrin
Alfa-Tokoferol	Paraoksonaz	Probakol	Albümin
Tiyoller	Süperoksit Dismutaz	Penisilamin	Seruloplasmin
Beta-Karoten	Glutatyon Peroksidaz	Deferoksamin	Ferritin
Ürik Asit		Butil-Hidroksitoluen	
Flavanoidler		N-Asetilsistein	
Ko-Enzim Q			

Kemoterapi uygulanan hastalarda oksidatif stres artışı ve antioksidan kaybı ortaya çıkmıştır. Antioksidanlar vücuttaki protein, karbonhidrat, lipit ve nükleik asitleri koruma görevi yaparlar.[80] Kemoterapi uygulamalarıyla birlikte antioksidan takviye yapılması sitotoksik etklerini serbest radikal oluşturarak gösteren ajanlar ile ilgilidir. Antioksidanların bu serbest radikalleri süpürerek zararlı etkileri azaltabileceği düşünülmektedir.[81] Bazı çalışmalarda kemoterapi ve radyoterapiye bağlı oksidatif strese karşı A,C,E vitaminleri kullanılmış, in vivo ve in vitro olarak vitaminlerin terapötik etkileri artırdığı normal hücreleride apoptozdan koruduğu gözlemlenmiştir.[82] Bu gözlemler ile antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisiteyi azaltarak daha yüksek doz ilaç verilebilmesi konusunu ortaya koymuştur.[83] Kemoterapi alan 103 Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL) hastası çocukda antioksidan vitamin takviyesi yapıldığı ve kemoterapiye bağlı toksisite ve enfeksiyon riskini azalttığı ortaya koyulmuştur.[84] Ajanlarla tedavide antioksidan kullanımı mantıklı görülüp hastalara antioksidan takviyesi yapılması önerilmektedir.[83]

2.5. Oksidatif Stres

Organizmada oksidan-antioksidan dengesi bulunmaktadır. Bu dengenin oksidanlar lehine bozulması oksidatif stres olarak adlandırılır.[85] Bu dengenin bozulmasıyla antioksidan sistem devreye girer ve yeterli olmadığı durumlarda DNA, proteinler, karbonhidratlar, lipitler gibi makro moleküller hasar görür.[86] Oksidatif denge olduğu sürece organizma serbest radikallerden etkilenmez.[87]

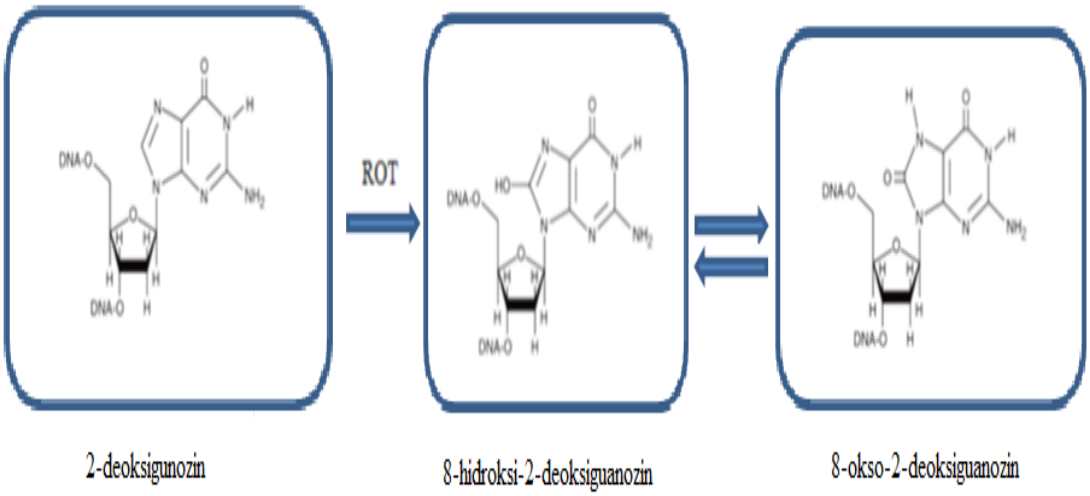


Şekil 2.5. Oksidatif stres mekanizması[88]

2.6. DNA Hasarı

Genomik DNA sürekli çevresel faktörlerin etkisi altındadır ve Gen materyalinin endojen ve eksojen kaynaklı etkilerle yapısında meydana gelen değişiklikler DNA hasarı ismini alır. Bu hasarlar mutasyon, kanser, erken yaşlanma, hücre ölümleri, bağışıklık sistem baskılanması, kardiyovasküler sistem bozuklukları olabilir. İyonize radyasyon, yüksek oksijen yoğunluğu, radikal zincir reaksiyonuna uğrayan kimyasallar DNA'da hasara neden olan yapılardandır. Ayrıca ROS'lar da oksidatif hasara neden olabilirler.[89,90,91]

DNA'daki oksidatif hasarı belirlemede 8-hydroxy-2 deoxyguanosine (8-OHdG) ölçümü kullanılmaktadır. Kasai ve Nishiura tarafından tespit edilmiştir.[92] Reaktif oksijen ve hidrojen türlerinin DNA'ya verdiği oksidatif hasar 8-OHdG' yi ortaya çıkarır. 8-OHdG ROS'lar tarafından DNA üzerinde yapılan ve sık görülen 100 tane oksidatif baz hasar ürününden biridir. Bilinen en iyi mutajendir. 8-OHdG DNA onarım enzimleri tarafından kesilerek çıkarılır ve idrarla dışarı atılır.[92,93,94] ROS'lar DNA içerisinde guanini hedef alır. Çünkü en düşük ayrıştırma potansiyeline sahip bileşen guanindir. Hidroksil radikali (·OH) guanin de 4, 5, 8 atomlarına bağlanarak DNA radikallerini oluşturabilir. Hidroksil radikalinin 8. Karbon atomuna yaptığı ataklar sonucu bir proton ve elektron kaybederek 8-OHdG yapısının oluşmasını sağlar (şekil 2.6). 8- OHdG insan ve hayvanlarda idrar, serum ve dokularda belirlenebilir.[89]



Şekil 2.6. 2-deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu[95]

Yaşa bağlı olarak barsak, karaciğer ve böbrek dokularında, yaşla birlikte artan tümör dejeneratif hasar tipleri ve organ fonksiyonlarında ki azalmalardan dolayı 8-OHdG düzeyinde artış görülebilmektedir.[96] Sigara içimi, kanserojen meddeler (benzen, aflatoksin vb.) oksidatif DNA hasarını başlıca arttıran etkendir.[97] Hava kirliliği içerdiği

nitrik oksit, aldehitler ve metaller nedeniyle maruz kalma süreleriyle doğru orantılı olarak 8-OHdG düzeyini artırır.[98]

Deney hayvanlarında antioksidan girişlerde 8-OHdG düzeylerinde azalma görülmüstür. Bu antioksidanlar C-E vitamini, beta karoten ve selenyumdur. Oksijen tüketiminin en yüksek olduğu dokularda 8-OHdG düzeyi oldukça yüksektir.[99]

3. MATERYAL VE METOT

3.1.Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmamızın bütün deneysel çalışmalar ve süreçleri Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi ile Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.06.2016 tarih ve 36643897-000-E.1600142788 sayılı yazısında belirtilen Etik Kurul Raporunun 123 nolu kararı ile onaylandı. Araştırmada deney hayvanı olarak yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 40 adet erişkin Sprague Dawley ırkı erkek sıçanlar kullanıldı. Gruplarda yeterli örneğin sağlanabilmesi için her bir grupta 8 rat kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Deneysel Gruplar ve Gruplardaki Deney Hayvanı Sayıları

Gruplar	Grup Detayı	Denek Sayısı
Grup 1	Kontrol	8
Grup 2	CYP (200 mg/kg)	8
Grup 3	50 mg/kg Naringin + CYP	8
Grup 4	100 mg/kg Naringin + CYP	8
Grup 5	100 mg/kg Naringin	8

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Araç ve Gereçler

- ✓ Mikrocerrahi makası
- ✓ Çoklu pipet
- ✓ Deepfreeze
- ✓ EDTA'lı deney tüp
- ✓ ELİSA okuyucu

- ✓ ELİSA yıkayıcı
- ✓ Mikro tüp
- ✓ Etüv
- ✓ Jel kaplamalı tüp
- ✓ Mikroskop camı
- ✓ Mikroskop ince camı
- ✓ Deney Mikroskobu
- ✓ Otomatik pipetler
- ✓ Doku tutucu
- ✓ Soğutmalı santrifüj cihazı
- ✓ Spektrofotometre

3.1.3. Kimyasallar

- ✓ DNA hasar (8-OHdG) ELISA kit
- ✓ Giemsa
- ✓ İmmersiyon yağı
- ✓ Ketamin HCI
- ✓ Siklofosfamit,
- ✓ My grünwald
- ✓ Naringin,
- ✓ TAS kit
- ✓ TOS kit

3.2. Yöntem

Tüm hayvanlar standart bakım ve beslenme şartlarına tabi tutuldu. Grup 1'e 10 gün boyunca intra gastrik (i.g.) olarak serum fizyolojik (1 ml) verildi. Grup 2'ye 10 gün

boyunca i.g. serum fizyolojik verildi ve 10. Gün tek doz intra peritonal CYP (200 mg/kg) verildi. Grup 3 ve 4'e 10 gün boyunca sırasıyla serum fizyolojikte çözdürülmüş 50 ve 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı ve10. Gün Naringin enjeksiyonundan sonra tek doz i.p. CYP (200 mg/kg) uygulaması yapıldı. Grup 5' e ise 10 gün boyunca yalnızca serum fizyolojikte çözdürülmüş 100 mg/kg dozunda i.g. Naringin uygulandı.

CYP uygulamasından 48 saat sonra yani deneyin 12. gününde ratlar tiopental sodyum (20 mg/kg) ile anestezi altına alınarak intra kardiyak kan örnekleri alındı ve servikal dislokasyon metodu ile sakrifiye edildi. Ratlardan alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktarılarak +4 ˚C de soğutmalı santrifüjde 3500-4000rbm devirde 10 dk santrifüj edildi, elde edilen serum önekleri aligotlanarak analiz edilene kadar -80 C de muhafaza edildi. Elde edilen kan ve serum örneklerinde Total Antioksidan, Total Oksidan, Oksidatif stres indeksi, DNA hasarı parametrelerine bakıldı. Antioksidanlar ve oksidanlar için farklı ölçüm yöntemleri vardır. Fakat bu yöntemler oldukça uzun ve pahalıdır. Total Antioksidan ve Total Oksidan ölçüm yapmak oldukça hızlı ve ucuz yöntemlerdir ve çok daha değerli bilgilerde verebilir. Bu yüzden bizde çalışmamızda bu yöntemleri kullandık.

3.2.1. Total Oksidan Durum (TOS) Tayini

Serumdaki TOS seviyeleri spektrofotometre de total oksidan status test kiti ile belirlendi.

TOS'un Tespit İlkesi : Numunedeki oksidan varlığı, Demir 2 iyonu (Fe^{+2}) şelat bileşiklerinin demir 3 iyonuna (Fe^{+3}) okside eder**.** Oksidasyon tepkimesi ortamda bulunan yülseltici moleküller (gliserol) ile sürdürülür**.** Demir 3+ iyonu asit vasatta ksilenol ile renkli bir bileşik meydana getirir**.** Bu rengin konsantrasyonu numunedeki

oksidan moleküllerinin düzeyi ile görecelidir ve spektrofotometrede ölçülebilir. Okuma değeri umol H_2O_2 ekivalent/L olarak tabir edilebilir ve H_2O_2 ile eşlenebilir**.**

Deneyin Yapılması:

- 75 ul numune veya standart ayrı küvetlere dolduruldu**.**
- Numune veya standartın üzerine 500ul reaktif 1 ilave edildi ve çalkalandı**.**
- 37˚C'de 30 sn bekletildi, 530 nm analiz edildi ve ABS verisi A1 olarak kaydedildi**.**
- 25ul reaktif 2 ilave edildi ve çalkalandı
- 37 ˚C 5 dk bekletildi 530 nm analiz edildi ve ABS verisi A2 olarak kaydedildi.

Ölçme :A2-A1 = ABS

:(ABS örnek /ABS standart) x 10ul (standart derişimi)

Standart veriler:4-6 umol/L

AMR doğrusallık:0-37,5 umol H_2O_2 ekivalent/Litre

3.2.2. Total antioksidan durum (TAS) tesbiti

Serum TAS seviyeleri spektrofotometre de toplam status test kiti kullanılarak tespit edildi.

TAS'ın Tespit İlkesi: Numunedeki antioksidanlar mavi yeşil renkli ABTS radikallerini renksiz ABTS şekline çevirir**.** 660 nm deki ABS değişimleri numunelerin total antioksidan değerleri ile birlikte düşünülebilir**.** Değerler bir vitamin E benzeri olan Trolox Ekvalent olarak adlandırılan normal antioksidan ile ölçülebilir. Analiz sonuçları mmol Trolox ekivalent/L olarak gösterilebilir.[101]

Deneyin Yapılması:

- 30 ul numune standart ve su ayrı küvetlere dolduruldu.
- Üzerlerine 500 ul reaktif 1 ilave edildi ve çalkalandı.
- 37C 30 sn bekletildi, 530nm de analiz edildi ve ABS verisi A1olarak kaydedildi.

- 75ul reaktif 2 ilave edildi ve çalkalandı.
- 37 C'de 5 dk. bekletildi, 660nm de analiz edildi ve ABS verisi A2 olarak kaydedildi.

Ölçme: A2-A1= ABS

: (ABS H_2O – ABS örnek)/ (ABS H_2O-ABS) standart

Standart veriler: 1,20-1,5 mmol/Litre

AMR doğrusallık: 0-2,75 mmol trolox equivalent/Litre

3.2.3. Oksidatif Stres İndeksi

Oksidatif stres indeksi = (TOS/TAS) x 0,1 yöntemi ile hesaplandı ve IU olarak kaydedildi.

3.2.4. DNA Hasarı (8-OHdG) Belirlenmesi

Serumda 8-OHdG seviyesi ELISA cihazında ELISA kiti kullanılarak tespit edildi.[100]

DNA Hasarının Tespit İlkesi: ELISA kiti ratdaki 8-OHdG seviyesini belirlemek için biotin kaplı antikor sandwich teknolojisini kullanır.

Tahlil aralığı: 0,05ng/ml-20ng/ml

Hassasiyet: 0,027ng/ml

Deneyin Yapılması:

Reaktifler, numuneler ve standart üreticinin vermiş olduğu talimatlar göz önüne alınarak hazılandı.

1. Standart Çözeltinin Seyreltilmesi : S1'den S5'e doğru deney tüpleri harflendirildi ve 120ul standart sulandırıcı ilave edildi. Standart depo çözeltiden 120 ul S5 tüpünden S1'e kadar seyreltme işlemi yapıldı . Bütün transferlerden

sonra tüpler iyice çalkalandı ve Tablo 3.2'deki nihai standart düzeyleri oluşturuldu.

Tablo 3.2. Standart Çözeltinin Seyreltilmesi

	Standart	S-5	S-4	S-3	S-2	S-1
Ng/ml	24,0	12,0	6.0	3.0	1,50	0,750

2. Numuneler ve deney için kullanılcak kuyucuklar tespit edildi.
3. Standart ve numunelerin ilave edilmesi;
   - Standart solüsyon kuyucukları; 50 ul standart ve 50 ul streptavidin- HRP.
   - Numune kuyucukları; 40 ul numune ve 10 ul 8-ohdg antikorları, 50 ul streptavidin-HRP ilave edildi.
   - 37 ˚C' de 1 saat boyunca bekletildi.
4. Yıkama solüsyonunun hazırlanması: Yıkama sçözeltisi (30X) saf su ile seyreltildi.
5. Yıkama: Elisa yıkayıcı vasıtasıyla kuyucuklardaki sıvı ayrıştırıldı. Her kuyucuk yıkama çözeltisiyle doldurulduu. 30 sn inkübe edildikden sonra çözelti döküldü. Prosodür 5 defa aynı şekilde uygulandı.
6. Renk oluşumu: Bütün kuyucuklara önce 50ul kromojen A ardından 50ul kromojen B, çözeltisi ilave edildi. Çok hafif şekilde çalkalandı ve ışıktan sakınarak 37˚C'de 10 dk bekletildi.
7. Sonlandırma: Tepkimeyi sonlandırmak için bütün kuyucuklara 50 ul stop çözeltisi ilave edildi.
8. Ölçüm: Stop çözeltisi ilave edildikten 10 dakika sonra kör kuyucuğun değeri sıfır olarak alınarak her kuyucuğun 450 nm dalga boyundaki absorbansı (ABS) analiz edildi.

Kör kuyucuk: Sadece kromojen solüsyon A,B ve stop solüsyonu eklendi.

Sonucun hesaplanması

Standart derişimleri numunelerin ABS verilerine göre tespit edildi.

3.3. İstatiksel Analiz

Elde Edilen Bulgular varyans analizi (ANOVA tek yönlü) ve DUNCAN testi ile gruplar arasındaki anlam farklılıkları belirlendi. Değerlendirmeler SPSS programında yapıldı.

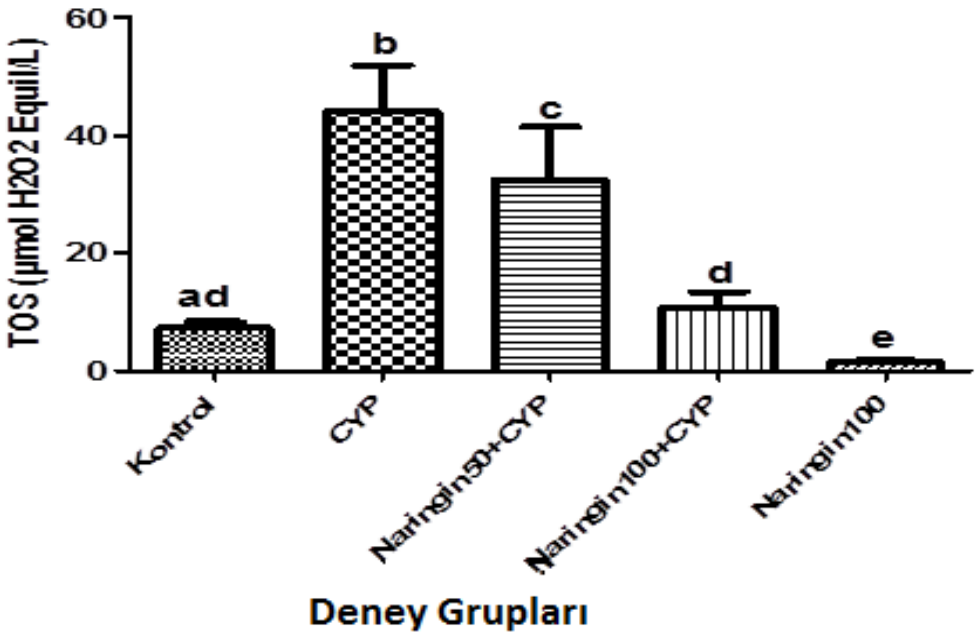
4. BULGULAR

Tablo 4.1. Kontrol ve Deneme Gruplarında Total Oksidan Durumu (TOS), Total Antioksidan Durumu (TAS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve DNA (8-Ohdg) Hasarı Düzeyleri

Gruplar	Parametreler			
	Total oksidan durumu (TOS) (µmol H2O2 Equil/L)	Total Antioksidan Durumu (TAS) (mmol TroloxEquil/L)	Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) (Arbitrary Unit)	DNA hasarı 8-OHdG (ng/ml)
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol (n:8)	7.2±1.1 [ad]	2.3±0.1 [a]	0.1±0.04 [a]	3.4± 0.3[a]
CYP (n:8)	44±8 [b]	1±0.4 [b]	4.4±0.8 [b]	10.4± 2[b]
Naringin50+CYP (n:8)	32±9 [c]	4.5±1 [c]	0.71±0.08 [c]	7.2± 2[bc]
Naringin 100+CYP (n:8)	11±2.5 [d]	10±3 [d]	0.11±0.002 [a]	5.2± 0.7 [c]
Naringin 100 (n:8)	1.5±0.2 [e]	25±7 [e]	0.006±0.000 [a]	3.2± 0.6 [a]

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerlerin ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak $p<0.01$ düzeyinde önemlidir (n:8). Değerler grup ortalamaları standart sapmaları şeklinde verilmiştir.

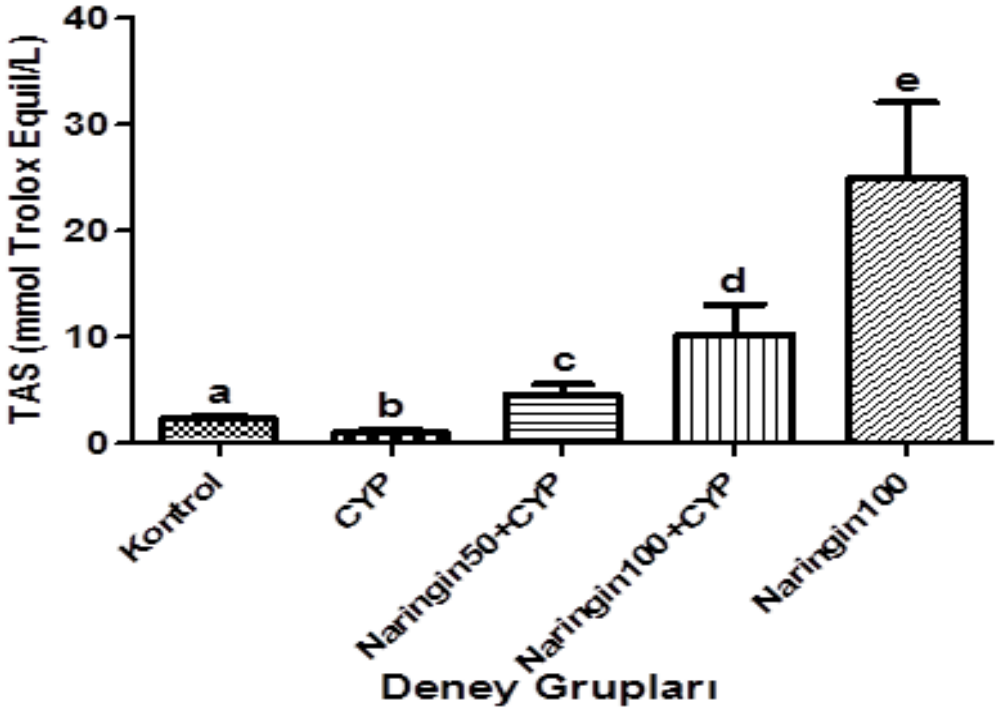
Siklofosfamit ile indüklenmiş ratlarda naringinin serbest radikaller ve antioksidanlar üzerine protektif etkileri ile ilgili bulgularımız yukarıda belirttiğimiz gibi verilmiştir. Kontrol, CYP (200mg/kg), 50mg/kg Naringin+CYP, 100mg/kg Naringin+CYP, 100mg/kg Naringin gruplarındaki ratlara ait Total Oksidan (TOS), Total Antioksidan (TAS), Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve DNA hasarı düzeyleri Tablo 4.1 de gösterilmiştir. Ayrıca tüm gruplara ait parametreler grafik haline getirilerek yorumlandı.



Şekil 4.1. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin TOS üzerine etkileri

Farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında $p<0.01$ düzeyinde istatsistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Çalışmamızdaki kontrol, CYP (200mg/kg), 50mg/kg Naringin+CYP, 100mg/kg Naringin+CYP ve 100mg/kg Naringin gruplarına ait serum örneklerinde tespit edilen Total Oksidan (TOS) düzeyleri şekil 4.1. de verilmiştir. CYP (44±8 µmol H2O2 Equil/L) uygulanan grupta TOS seviyesi oldukça yüksek çıkmış ve diğer bütün gruplarla karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıklar istatiksel olarak önemli bulunmuştur. Kontrol (7.2±1.1 µmol H2O2 Equil/L), 50mg/kg Naringin+CYP (32±9 µmol H2O2 Equil/L), 100mg/kg Naringin+CYP (11±2.5 µmol H2O2 Equil/L), 100mg/kg Naringin (1.5±0.2 µmol H2O2 Equil/L) gruplarındaki değerler ise CYP grubunda elde edilen değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p< 0.01$) daha

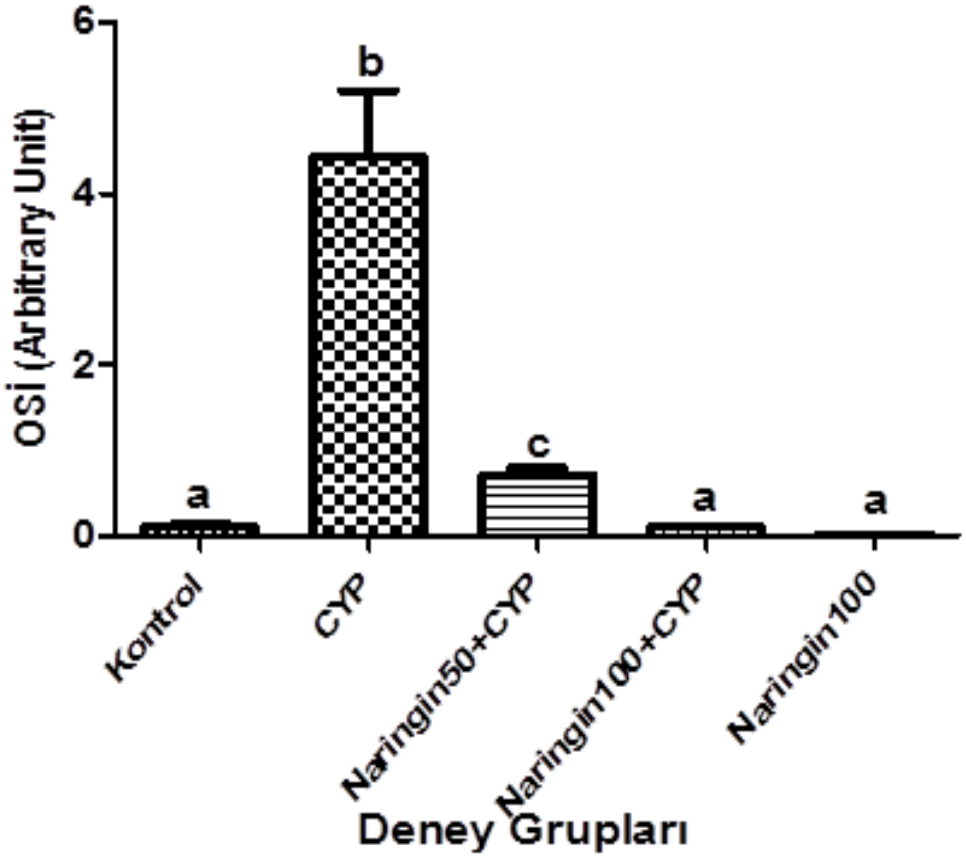
düşük çıkmıştır. Kontrol ve 100mg/kg Naringin+CYP gurupları arasında ise elde edilen verilerde istatiksel farklılık bulunamamıştır.



Şekil 4.2. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin TAS üzerine etkileri

Farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında $p<0.01$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. 100mg/kg Naringin (25±7 mmol Trolox Equil/L) uygulanan grupdaki Total Antioksidan (TAS) değeri diğer gruplara göre oldukça yüksek çıkmış ve diğer bütün gruplarla karşılaştırıldığında gruplar arası farklılıklar istatiksel olarak önemli bulunmuştur. CYP (1±0.4 mmol Trolox Equil/L) uygulanan grupta ise çok düşük çıkmış ve diğer bütün gruplar ile istatiksel olarak farklılık önemli bulunmuştur. Kontrol (2.3±0.1 mmol Trolox Equil/L), 50mg/kg Naringin+CYP (4.5±1 mmol Trolox Equil/L) ve 100mg/kg Naringin+CYP (10±3 mmol Trolox Equil/L) uygulanan gruplarda ise TAS seviyesi 100mg/kg naringin uygulanan gruba göre düşük, CYP

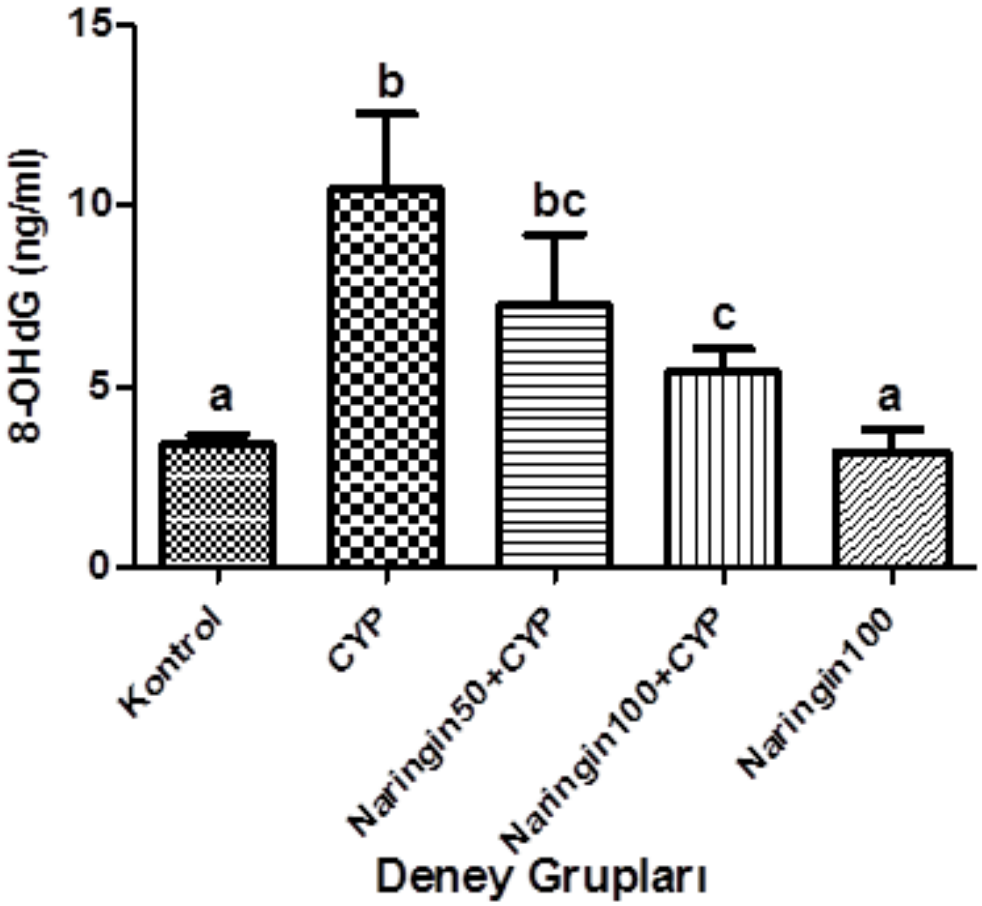
uygulanan gruba göre ise yüksektir ve gruplar arası farklılık istatiksel olarak önemlidir(şekil 4.2).



Şekil 4.3. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin OSİ üzerine etkileri

Farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında $p<0.01$ düzeyinde istatsistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Kontrol, CYP (200mg/kg), 50mg/kg Naringin+CYP, 100mg/kg Naringin+CYP ve 100mg/kg Naringin gruplarına ait serum örneklerinde tespit edilen Oksidatif Stres İndeks (OSİ) düzeyleri şekil 4.3. de verilmiştir. 100mg/kg Naringin+CYP (0.71±0.08 Arbitrary Unit) uygulanan gruba ait OSİ düzeyi CYP (4.4±0.8 Arbitrary Unit) uygulanan gruba göre düşük çıkmıştır ve gruplar arası fark istatiksel olarak önemlidir. Kontrol (0.1±0.04 Arbitrary Unit), 100mg/kg Naringin+CYP (0.11±0.002 Arbitrary Unit) ve 100mg/kg Naringin (0.006±0.000

Arbitrary Unit) gruplarına ait OSİ değerlerine göre ise yüksek çıkmıştır ve bu gruplar ile arasında ki farklılık istatiksel olarak önemlidir.



Şekil 4.4. Siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda naringinin DNA hasarı(8-OHdG) üzerine etkileri

Farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında $p<0.01$ düzeyinde istatsistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. Kontrol (3.4±0.3 ng/ml) ve 100mg/kg Naringin (3.2±0.6 ng/ml) uygulanan grupların sonuçları birbirine yakındır ve aralarında istatiksel fark önemli değildir. 50mg/kg Naringin+CYP (7.2±2 ng/ml) uygulanan gruba ait DNA hasarı düzeyi CYP (10.4±2 ng/ml) uygulanan gruba göre düşüktür. Fakat istatiksel olarak farklılık önemli değildir. 50mg/kg Naringin+CYP(3.4±0.3 ng/ml) uygulanan

grubun değerleri 100mg/kg Naringin+CYP(5.2±0.7 ng/ml) uygulanan gruba göre yüksektir ancak istatiksel önem yoktur (şekil 4.4).

5. TARTIŞMA

Son dönemlerde fazla görülmesi ve oldukça yüksek ölümlere sebep olmasından dolayı kanser, günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biridir. Kanser, hücrelerin kontrolsüzce çoğalması ve metastaz yapması ile kendini belirten hastalıktır. Kontrolsüz çoğalan bu hücreler etrafında ve uzakta bulunan doku ve organların işleyişini bozar. Günümüzde kanser teşhisi konulan hastaların tedavisinde kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahaleler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerde bazı istenmeyen sonuçlar ortaya çıkabilir. Özellikle radyoterapi ve kemoterapide sağlıklı hücreler aşırı zarar görebilir.[1,2] Kemoterapinin asıl amacı kanserli hücrenin biyokimyasal sürecini değiştirerek çoğalmasını önlemek ve sağlıklı hücrelerin zarar görmesini engellemektir. Ancak antineoplastik ilaçların seçici özelliği düşük olduğundan patolojik şekilde çogalmakta olan hücreleri yok etmekle beraber normal hücreleri de yok ederler. Siklofosfamidde (CYP) bu antineoplastik ilaçlardan birisidir.[4] Antikanser ajan ve sitotoksik alkilleyici özelliği olan CYP ön ilaç olduğu için in vitro şartlarda etkili değildir. Karaciğerde mikrozomal oksidaz enzim sisteminin etkisi ile (sitokrom P-450) 4-hydroxycyclophosphamide ve daha sonra da acrolein ile phosphamide hardalına dönüşerek etkili olur. CYP çeşitli malign tümörlerin tedavisinde sık sık kullanılmaktadır.[21] Ağız ve enjeksiyon yoluyla alınan siklofosfamid hematolojik ve solid tümör tedavilerinde de kullanılabilir. Siklofosfamid çocuklarda akut lenfositik lösemi, akciğer kanseri, pediatrik solid tümörler, behçet hastalığı ve romatoid artroid gibi hastalıklarda kullanılabilir.[30,31] Bulantı, kusma, sindirim bozuklukları gibi yan etkileri vardır. Daha önce kemoterapi alan hastalarda lökopeni kemik iliği depresyonuna

bağlı olarak trombositopeniye neden olabileceği bildirilmiştir. Uzun süreli ve yüksek dozda kulalnılan CYP'nin hemorajik sistide neden olduğu tespit edilmiştir.[32]

Shanholtz[102] yaptığı çalışmada yüksek dozda kullanılan CYP'nin ölümcül kardiyotoksisiteye neden olduğunu ortaya koymuştur. Çelebi ve ark.[103] Yaptığı çalışmada CYP ile indüklenmiş sistitis modelinde bir antioksidan olan rutinin sistitis oluşumunu belirgin bir şekilde baskıladığını bildirmişlerdir. Demirkaya[104] yaptığı çalışmada ise CYP'nin Total Antioksidan (TAS) seviyesini azalttığı Total Oksidan (TOS) seviyesini ise artırdığı görülmüştür. Şengül ve ark.[105] CYP ile akciğer toksisitesi oluşturmuş ve quercitinin protektif etkilerini incelemişlerdir. Rezvanfar ve ark.[106] yaptıkları bir çalışmada CYP'nin spermatogenezi olumsuz yönde etkilediğini, sperm kalitesinin düştüğünü ve seminifer tübüllerin aşırı hasara uğradığını gözlemlemişlerdir. Bayramoğlu[107] yaptığı çalışmada CYP uygulamasının homojenatta MDA düzeyini artırdığı SOD ve GPx düzeylerini ise azalttığı ve böylece oksidatif stresin artmasına neden olduğu gözlemlemiş ve CYP kaynaklı hemorojik sistitisin bir antioksidan olan silmarin uygulaması sonucu azaltıldığı tespit edilmiştir.

Antineoplastik ilaçların yüksek doz etkilerini baskılamak ve oksidatif stresi azaltmak için bazı antioksidatif ajanlar kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalarda doku hasarları üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir. Demirkaya[108] yaptığı çalışmada doxorobucin (Dox)'in neden olduğu kardiyak hasarı antioksidan takviye ile engellediğini ortaya koymuştur. Yine Göktepe[109] yapmış olduğu başka bir çalışmada ise antioksidan madde olan quarcetinin serbest radikaller ile birlikte oluşan oksidatif hasarı azaltarak antioksidan sistemi güçlendirdiği gözlemlenmiştir. Donk ve ark.[110] yaptığı bir çalışmada ise güçlü bir antioksidan olan quercetinin doxorobucin (Dox)'e bağlı kardiyotoksisiteyi baskıladığı rapor edilmiştir. Balakrishnan[111] yaptığı çalışmada

ise antioksidatif etkisi olduğu bilinen karvakrol'ün hücreyi lipit peroksidasyonu, oksidatif stres ve DNA hasarına karşı koruduğu ortaya koyulmuştur.

Yetim ve ark.[8] yaptığı bir çalışmada ise CYP'nin testislerde germ hücreleri üzerine toksik etkisi olduğu ve antioksidan özelliği bulunan E vitamininin bu toksik etkiyi ortadan kaldırdığı görülmüştür.

Gore ve ark.[112] yaptığı çalışmada CYP'nin pro-oksidan yapıya sahip olduğunu ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini azaltarak oksidatif strese neden olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca CYP'nin mesane homojenatındaki MDA düzeylerini ve lipit peroksidasyonunu artırdığını rapor etmiştir. Diğer bir tarafdan CYP'nin GSH düzeylerinde, SOD ve CAT aktivitelerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu çalışmada CYP uygulamasının farelerin mesanelerinde DNA hasarını oldukça artırdığıda rapor edilmiştir.

Khedr[113] yaptığı çalışmada CYP'nin neden olduğu toksisitenin yumurtalık mukoza dokusunda MDA düzeyi ve lipit peroksidasyonunu artırdıgı gözlemlenmiştir. Ayrıca tek doz CYP (150mg/kg) uygulamasından sonra antioksidan enzimlerin (SOD ve GPx) azaldığı da rapor edilmiştir.

Carıno-Cortes ve ark.[114] yapmış olduğu çalışmada naringinin oksidatif stres sonucu oluşan DNA hasarını düşürdüğü gözlemlenmiştir.

Gürsul ve ark.[115] yapmış olduğu çalışmada iskemi reperfüzyon hasarına karşı naringinin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada her grupta 8 hayvan olmak üzere 3 grup oluşturulmuş ve gruplara kontrol, iskemi reperfüzyon(I/R) ve I/R+Naringin isimleri verilmiştir. I/R yaralanması nedeniyle doku MDA seviyesi önemli derecede artış göstermiştir. Naringin uygulamasıyla birlikte lipit peroksidasyon seviyesinde anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Bu çalışmada naringinin oksidatif hasar ile lipit

peroksidasyonunu azaltıcı etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca I/R uygulanan grupda SOD, GPx, CAT seviyeleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azalmıştır. Naringin uygulanan grupta ise I/R grubuna göre SOD, GSPx, CAT seviyeleri artmıştır. I/R ve I/R+Naringin grupları arasındaki farklılık istatiksel olarak önemlidir.

Chtourou ve ark.[116] Naringin'in ROS aracılı NF-jB ve P53 sinyal yollarını baskılayarak sıçan striatumunda sisplatin ile indüklenen oksidatif stres, inflamatuvar cevap ve apoptoza karşı koruyucu rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmada her grupta 8 hayvan olmak üzere 8 grup oluşturulmuş gruplar ise kontrol, sisplatin(Cis) (5 mg/kg/hafta), Naringin 25, Naringin 50, Naringin 100 (mg / kg vücut ağırlığı), Cis+Naringin 25, Cis+Naringin 50 ve Cis+Naringin 100 (mg / kg) şeklindedir. Cis uygulamasında kontrol grubuna kıyasla MDA ve hidrojen peroksit(H_2O_2) düzeylerinde belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Naringinin Cis (Cis+Naringin 25, Cis+Naringin 50 ve Cis+Naringin 100 mg / kg) ile uygulanması MDA ve H_2O_2 düzeylerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca Cis uygulaması kontrol grubuna kıyasla ROS seviyelerinde artışa neden olmuş, naringinin Cis ile birlikte uygulandığı gruplarda ise ROS seviyelerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir. Cis uygulanan grupda GSH ve askorbik asit seviyeleri kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Naringin uygulamasıyla birlikte bu parametreler önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca Cis uygulamasıyla SOD ve CAT seviyeleri kontrol grubuna göre arttığı gözlemlenmiştir. Bu durumun aşırı sekilde oluşan ROS ile mücadele etmek için olduğu düşünülmektedir. Daha sonra naringinin uygulamasıyla bu parametrelerde azalma meydana gelmiştir. Azalma olmasına rağmen Cis+Naringin grubuna ait sonuçlar kontrol grubuna göre önemli derecede artmıştır.

Siklofosfamidin meydana getirmiş olduğu istenmeyen yan etkilerle ilgili daha önce yapılan çalışmalarda yukarıda da tartışıldığı üzere hücre ve doku hasarına neden olduğu bariz bir şekilde görülmektedir. Yaptığımız çalışmada serumda hücre ve doku hasarının referansları olabilecek parametlerelerden TOS, TAS, OSİ ve DNA hasarı parametreleri incelenmiştir. Siklofosfamidin etkisiyle bu parametreler de belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. Çalışmamızda CYP uygulaması kontrol gruplarına kıyasla TOS değerlerinde bariz bir artışa neden olduğu, naringinin farklı iki dozununda (50 mg/kg Naringin, 100 mg/kg Naringin) siklofosfamidin neden olacağı TOS artışını baskıladığı gösterilmiştir. Naringin uygulanan (100mg/kg/gün 10 gün süreyle) gruptan elde edilen TOS değerleri ise kontrol grubunda elde edilen TOS değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Total antioksidan (TAS) kapasite ise CYP grubunda kontrol grubuna göre daha düşüktür ve gruplar arası farklılık istatiksel olarak önemlidir. Naringinin uygulanan diğer dozlarında ise (50 mg/kg Naringin+CYP, 100 mg/kg Naringin+CYP, 100 mg/kg Naringin) TAS düzeyleri devamlı artmıştır ve gruplar arası farklılık önemlidir. Oksidatif stres indeksi sonuçları ise CYP uygulanan grupda kontrol grubuna göre oldukça fazladır. Naringinin iki farklı dozunun (50 mg/kg Naringin, 100 mg/kg Naringin) uygulamasıyla birlikte bu değer kontrole yaklaşmıştır. Sadece naringin (100mg/kg/gün 10 gün süreyle) uygulanan grup ise kontrol grubundan daha düşük değerlere ulaşmıştır. Kontrol, 100 mg/kg Naringin ve 100 mg/kg Naringin+CYP arasında ki farklar istatiksel olarak önemli değildir. Ancak bu gruplar ile CYP ve 50 mg/kg Naringin+CYP grupları arasındaki fark istatiksel olarak önemlidir. Çalışmamızda DNA hasarı verilerine baktığımızda 100mg/kg Naringin uygulanan grup ile kontrol grubu arasında istatiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. CYP uygulanan grup DNA hasar düzeyini kontrole göre artırmıştır ve iki grup arası fark istatiksel olarak

önemlidir. Ancak naringinin farklı uygulamaları ile DNA hasar düzeyi düşmüştür. 50mg/kg Naringin+CYP uygulanan grup hasar düzeyini azaltmış olsa bile CYP grubu ile aralarında ki fark istatiksel açıdan önemli değildir. 100mg/kg Naringin+CYP grubu ile CYP grubu arasında ki fark ise istatiksel olarak önemlidir. Naringinin iki grubu arasında ise istiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

Elde ettiğimiz sonuçlar siklofosfamid ile indüklenmiş ratlarda meydana gelen hücre ve doku hasarı sürecinde elde edilen serbest radikal ve antioksidan düzeylerinde oluşan değişiklikleri naringin uygulamasının normale getirme noktasında etkili olduğu belirlenmiştir. Naringinin bu özelliği konu ile igili yapılacak olan diğer çalışmalarla desteklenerek kanser tedavisinde destekleyici tedavi uygulamalarında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada siklofosfamidin TOS, OSİ ve DNA hasarı değerlerini artırdığını ve TAS değerini ise azalttığı tespit edilmiştir. Naringin uygulamasının ise TAS değerlerinde artışa neden olduğu TOS, OSİ ve DNA hasar düzeylerinde ise azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Naringinin antioksidan etkisi ile vücuttaki oksidatif hasarı düşürdüğü ve ROS'ları temizleyebileceği düşünülmektedir. Kanser tedavilerinde antioksidan takviyesinin vücut direnci açısıdan yararlı olabileceği düşünülebilir.

Elde edilen bulgular bundan sonra yapılacak bu konudaki araştırmacılara kaynak ve literatür bilgisi olarak önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Kızılcı S. Kemoterapi alan kanserli hastalar ve yakınlarının yaşam kalitesini etkileyen faktörler. *Cum Üni Hemşirelik Y O Derg*, 1999, 3: 18-20.
2. Kutluk T, Kars A. *Kanser Konusunda Genel Bilgiler*, 1. Baskı. Ankara, T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser ve Savaş Daire Başkanlığı, 1992: 14-22.
3. Tozkoparan B, Aytaç S. Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-Transferazlar. *H Ü Eczacılık Fak . Derg*, 2007, 27: 139-164.
4. Kintzel PE. Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety*, 2001, 24: 19-38.
5. Tripathi DN, Jena GB. Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicol*, 2008, 248: 96-103.
6. Al-Safi SA, Maddocks JL. Does 2-mercaptoethane sulphonate (mesna) prevent cyclophosphamide and azathioprine induced immunosuppression? In vitro studies. *Br J Clin Pharmacol*, 1986, 21: 267-70.
7. Koyoma H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y, Terasawa T, Kosaki G, Yamamoto T, Wada A. Cyclophosphamide-ınduced ovarian failure and ıts therapeutic significance in patiens with breast cancer. *Cancer,* 1977, 39: 1403-1409.
8. Yetim İ. Siklofosfamide Bağlı Sıçan Testis Hasarında E Vitamininin Rolünün Histolojik Olarak İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2011.
9. Sampa G, Monomohon M, Ujjal B, Rajkumar M, Jogendra MD, Debidas G. Effect of human chorionic gonadotrophin co administration on ovarian steroidogenic and

folliculogenic activities in cyclophosphamide treated albino rats. *Reprod Toxicol*, 2001, 15: 221-225.

10. Tripathi DN, Jena GB. Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: a study in mice. *Chem Biol Interact*, 2009, 180: 398-406.
11. Wang X, Zhang J, Xu T. Cyclophosphamide-evoked heart failure involves pronounced co-suppression of cytoplasmic thioredoxin reductase activity and non-protein free thiol level. *Eur J Heart Fail*, 2009, 11: 154–162.
12. Patra K, Bose S, Sarkar S, Rakshit J, Jana S, Mukherjee A, Roy A, Mandal DP, Bhattacharjee S. Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chem Biol Interact*, 2012, 195: 231-239.
13. Wei X, Su F, Su X, Hu T, Hu S. Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg3 on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice. *Fitoterapia*, 2012, 83: 636-642.
14. Gibellini L, Pinti M, Nasi M, Montagna JP, De Biasi S, Roat E, Bertoncelli L, Cooper EL, Cossarizza A. Quercetin and cancer chemoprevention. *Evid Based Comp Alternat Med*, 2011, 591356: 1-15.
15. 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. *Pharm Biol*, 2016, 54: 637-647.
16. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 12. Baskı. Ankara, Feryal Matbaacılık, 2012: 973-993.
17. Mohn GR, Ellenberger J. Genetic effect of cyclophosphamide, ifosfamide and trofosfamide. *Mutat Res*, 1976, 32: 334–360.

18. Bernacki RJ, Bansal SK, Gurtoo HL. Combination of mesna with cyclophosphamide or adriamycin in the treatment of mice with tumors. *Cancer Res*, 1987, 47: 799-802.

19. Kawabata TT, Chapman MY, Kim DH, Stevens WD, Holsapple MP. Mechanism of in vitro ımmunosuppression by hepatocyte generated cyclophosphamide metabolites and 4– hydroxicyclophosphamide. *Biochem Pharma*, 1990, 40: 927 -935.

20. Budavari S. *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, The Merck Index*. USA, 11th ed. Centennial Edition, 1989: 429 - 430.

21. Shaunak S, Munro JM, Weinbren K, Walport MJ, Cox TM. Cyclophosphamide induced liver necrosis: a possible interaction with azathioprine. *Q J Med*, 1988, 67: 309-317.

22. Kwon HC, Borch RF, Engel J, Niemeyer U. Activation mechanism of mafosfamide and the role of thiols in cyclophosphamide metabolism. *J Med chem*, 1987, 30: 395-399.

23. Pool BL, Bos RP, Niemeyer U, Theuws JLG, Schmahl D. In vitro/ ın vivo effect of mesna on the genotoxicity and toxicity of cyclophosphamide a study aimed at clarifying the mechanism of mesna' s anticarsinogenic activity. *Toxicol Let,* 1988, 41: 49-56.

24. Luce JK, Simons JA. Efficacy of mesna in further cyclophosphamide–ınduced hemorrhagic cystitis. *Med and Ped Onco,* 1988, 16: 372-374.

25. Gilman AG, Goodman A. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 7th ed. Newyork, Macmıllıan, 1985: 2-17.

26. Dökmeci İ. *Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1992: 820-825.

27. Thatcher N, Smihth DB, Lind MJ, Anderson H, Barclay J, Chopra MP, Fitzgerald MD. Double Alkylating Agent Therapy with Ifosfamide and Cyclophosphamide for Advanced Non–Small Cell Lung Cancer. From the manchester lung tumour group. *Cancer*, 1988, 61: 14 -18.

28. Bokser L, Szende B, Schally AV. Protective effects of d-trp-luteinising hormone-releasing in female microcapsules against cyclophosphamide ınduced gonadotoxicity in female rats. *Br J Cancer*, 1990, 61: 861-865.

29. Bramwell VCH, Mourisden HI, Santaro A. Cyclophosphamide versus ıfosfamide: final report of a randomized phase 2 trial in adult soft tissue sarcomas. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1987, 23: 311–321.

30. Ozyazgan Y, Yurdakul S, Yazıcı S, Tuzun B. Low dose cylosporin a versus pulsed cyclophosphamide in behçet's syndrome: a single masked trial. *Br J Ophthalmology*, 1992, 76 : 241-243.

31. Koyoma H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T. Cyclophosphamide-ınduced ovarian failure and its therapeutic significance in patiens with breast cancer. *Cancer*, 1977, 39: 1403-1409.

32. Hansen F, Stenbygaard L, Skovsgaard T. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (gm-csf), on hematologic toxicity ınduced by high-dose chemotherapy in patiens with metastatic breast cancer. *Acta Oncol*, 1995, 34: 919-924.

33. Cavalletti E, Tofanetti O, Zunino F. Comparison of reduced glutathione with 2-mercaptoethane sulfonate to prevent cyclophosphamide-induced urotoxicity. *Cancer Lett*, 1986, 32: 1-6.

34. Bendich A. Antioxidant nutrients and immune functions – introduction. *Adv Exp Med Biol*, 1990, 262: 1-12.

35. Chandra J, Samali A, Orrenius S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 2000, 29: 323-333.

36. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci*, 1988, 85: 6465-6467.

37. Wei XJ, Hu TJ, Chen JR, Wei YY. Inhibitory effect of carboxymenthylpachymaran on cyclophosphamide induced oxidative stress in mice. *Int J Biol Macromol*, 2011, 49: 801-805.

38. Weijl NI, Cleton FJ, Osanto S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treat Rev*, 1997, 23: 209-240.

39. Balasundram N, Sundram K, Saman S. Phenolic compounds in plants agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurence, and potential uses. *Food Chem*, 2006, 99: 191-203.

40. Shahidi F, Naczk M. *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications*. 5th ed. Basel, Technoming Publishing Company, 1995: 128-136.

41. Kahraman A, Serteser M, Koken T. Flavonoidler. *The Med J Kocatepe*, 2002, 3: 01-08.

42. Dragsted LO, Strube M, Leth T. Dietary levels of plant phenols and other non-nutritive components: could they prevent cancer? *Eur J Cancer Prevent*, 1997, 6: 522-528.

43. Gulcin I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol*, 2012, 86: 345-391.

44. Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radic Biol Med*, 1990, 9: 19-21.
45. Kumar A, Dogra S, Prakash A. Protective effect of naringin, a citrus flavonoid, against colchicine-induced cognitive dysfunction and oxidative damage in rats. *J Med Food*, 2010, 13: 976-984.
46. Alam MA, Subhan N, Rahman MM, Uddin SJ, Reza HM, Sarker SD. Effect of citrus flavonids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Adv nutr*, 2014, 5: 404-417.
47. Motilva V, Alarcon de la Lastra C, Martin MJ. Ulcer-protecting effects of naringenin on gastric lesions induced by ethanol in rat: role of endogenous prostaglandins. *J Pharm Pharmacol*, 1994, 46: 91-94.
48. Parmar NS. The gastric anti-ulcer activity of naringenin, a specific histidine decarboxylase inhibitor. *Int J Tissue React*, 1983, 5: 415-420.
49. Kroyer G. The antioxidant activity of citrus fruit peels. *Z Ernahrungswiss*, 1986, 25: 63-69.
50. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*, 2000, 47: 446-456.
51. 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. *Nutr Cancer*, 1996, 26: 167-181.
52. Gulcin I, Berashvili D, Gepdiremen A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from Perilla pankinensis decne. *J Ethnopharmacol*, 2005, 101: 287-293.

53. Ameer B, Weintraub RA, Johnson JV, Yost RA, Rouseff RL. Flavanone absorption after Naringin, hesperidin, and citrus administration. *Clin Pharmacol Ther*, 1996, 60: 34-40.
54. Tsai YJ, Tsai TH. Mesenteric lymphatic absorption and the pharmacokinetics of naringin and naringenin in the rat. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 12435-12442.
55. Akkus İ. *Serbest Radikaller Ve Fizyopatolojik Etkileri*, 1. Baskı, Konya, Mimoza Yayınları, 1995: 1-157.
56. Simone CB, Simone NL, Simone V, Simone CB. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival. *Altern Ther Health med*, 2007, 13: 22-28.
57. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working? *Critic Rev Food Sci Nut*, 1995, 35: 21-29.
58. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol*, 1982,107: 395-418.
59. Sinclair AJ, Barnett AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. *Br J Hos Med*, 1990, 43: 334-344.
60. Atal S. Erişkin Erkek Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2014.
61. Sayılmaz A. Metotreksat (MTX) Toksisitesinin Sıçan Testisinde Yarattığı Histolojik Değişimlere C Vitamininin Etkisinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi, 2015.

62. Selçuk M. Sedanterler İle Kuzey Disiplini Yapan Antrene Bireylerde Programlı Aerobik Ve Anaerobik Egzersizlerin Bazı Antioksidan Profiller Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2003.
63. Tunç L. Erkek infertilitesi ve nitrik oksitler. *And Bülteni*, 2006, 25: 128-131.
64. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Phsiol*, 1995, 79: 675-686.
65. Sen CK. Antioxidants and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Med Sci Sports Exerc*, 2001, 33: 368-370.
66. Kanofsyk JR. Singlet oxygen production by biological systems. *Chem Biol İnteract*, 1984, 70: 1-28.
67. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG, Matyus P, Szenasi G, Albert M. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*, 2006, 1116: 159-165.
68. Zhang Y, Micheal G, Irwin M, Tak MW. Remifentanil preconditioning protects against ischemic injury in the intact rat heart. *Anaesthesiology*, 2000, 101: 918-923.
69. Zhang Y, Chen Z, Girwin M, Wong T. Remifentanil mimics cardioprotective effects of ischemic preconditioning via protein kinase c activation in open chest of rats. *Acta Pharm*, 2005, 200: 446-500.
70. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in cell: type II diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*, 2003, 52: 581-587.
71. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 1994, 344: 721-724.

72. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44: 275-295.

73. Çetik S. Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Karvakrol'ün Koruyucu Etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabili Dalı, Doktora Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2014.

74. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clinic Path*, 2001, 54: 176-186.

75. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem Soc Symp*, 1995, 61: 73-101.

76. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkes of tissue damage. *Clinic Chem*, 1995, 41: 1819-1828.

77. Akkus S. Farklı Doz Ellajik Asitin Rat Serum Lipit Profili ve Total Antioksidan Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabili Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 2013.

78. Altan N, Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus and oksidatif stres. *Turk J Biochem*, 2006, 31: 51–56.

79. Santos-Silva A, Rebelo MI, Castro EM, Belo L, Guerra A, Rego C, Quintanilha A. Leukocyte activation, erytrocyte damage, lipit profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents, *Clinica Chimica Acta*, 2001, 306: 119-126.

80. Crohns M, Liippo K, Erhola M, Kankaanranta H, Moilanen E, Alho H, Kellokumpu-Lehtinen P. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clinic Biochem*, 2009, 42: 1236-1245.

81. Block KI, Koch AC, Mead MN, Tothy PK, Newman RA, Gyllenhaal C. Impact of antioxidant suplementation on chemotherapeutic efficacy: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treat Rev*, 2007, 33: 407-418.
82. Blumenthal RD, Lew W, Reising A, Soyne D, Osorio L, Ying Z, Goldenberg DM. Antioxidant vitamins reduce normal tissue toxicity induced by radioimmunotherapy. *Int J Cancer*, 2000, 86: 276-280.
83. Ladas EJ, Jacobson JS, Kennedy DD, Teel K, Fleischauer A, Kelly KM. Antioxidants and cancer therapy: a systematic review, *J Clinic Onco*, 2004, 22: 517-528.
84. Stallings VA. Childhood cancer and vitamins: prevention and treatment. *Pediatr Blood Cancer*, 2008, 50: 442-444.
85. Berk M, Ng F, Dean O, Dodd S, Bush A. Glutathione: a novel treatment target in psychiatry. *Trends Pharmacol Sci*, 2008, 29: 346-351.
86. Zadak Z, Hyspler R, Ticha A, Hronek M, Fikrova P, Rathouska J, Hrnciarikova D, Stetina R. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol Res*, 2009, 58: 13-17.
87. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep*, 2004, 9: 145-152.
88. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stres. *Turk J Biochem*, 2006, 31: 51-56.
89. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Veteriner Fak Der*, 2009, 20: 79-83.

90. Dizdaroğlu M. Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods Enzymol*, 1994, 234: 3-16.
91. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact*, 1994, 91: 133-140.
92. 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. *Mutat Res*, 1999, 443: 37-52.
93. Fraga C, Shigenga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 4533-4537.
94. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J*, 2003, 7: 1195-1214.
95. Karakoc A. Hipertiroidili Sıçanların Kalp Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2015.
96. Shigenaga MK, Ames BN. Assay for 8-hydoxy-2'-deoxyguanosine; a biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med*, 1991, 10: 211-216.
97. Chen HI, Liou SH, Ho SF, Wu KY, Sun CW, Chen MF, Chenq LC, Shilh TS, Loh CH. Oxidative DNA damage estimated by plasma 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG): influence of 4, 4'-methylenebis (2-chloroaniline) exposure and smoking. *J Occup Health*, 2007, 49: 389-398.
98. Calderon-Garciduenas L, Wen-Wang L, Zhang YJ, Rodriguez-Alcaraz A, Osnaya N, Villarreal-Calderon A, Santella RM. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a majör

mutagenic oxidative DNA lesion, and DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium of children exposed to urban pollution. *Environ Health Perspect*, 1999, 107: 469-474.

99. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants. *Cancer Lett*, 1998, 132: 219-227.
100. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J Clin biochem*, 2005, 47: 119-129.
101. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J Clin biochem*, 2004, 37: 112-119.
102. Shanholtz C. Acute life-threatening toxicity of cancer treatment**.** *Crit Care Clin*, 2011, 7: 483-502.
103. Celebi F, Gelen V, Cınar A, Sengül E. The effect of rutin on overactive contractility of bladder smooth muscle in the model of cyclophosphamide-induced cystitis in rats . *The FASEB J,* 2014, 28: 690-715.
104. Demirkaya M. Ratlarda Siklofosfamid Nedenli Hepatoksisite Üzerine Karvakrol'ün Koruyucu Etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2012.
105. Şengül E, Gelen V, Gedikli S, Özkanlar S, Gür C, Kara A, Çelebi F, Çınar A. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide Induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 303–307.
106. Rezvanfar MA, Sadrkhanlou RA, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H. Protection of cyclophosphamide induced toxicity in reproductive tract histology, sperm

characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. *Hum Exp Toxicol,* 2008, 27: 901-910.

107. Bayramoglu G. Sıçanlarda Siklofosfamid İle Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Silimarinin Olası Koruyucu Etkileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, 2007.
108. Demirkaya E. Doksorobusine Bağlı Kardiyak Toksisitenin Önlenmesinde Bitkisel Antioksidanların Etkinliklerinin İn Vivo Olarak Araştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı, Uzmanlık Tezi, Ankara: T.C. Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, 2003.
109. Göktepe M. Quercitin Uygulamasının Egzersiz, Serbest Radikal ve Antioksidan Enzim Düzeyleri Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Entitüsü, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi, 2012.
110. Dong Q, Chen L, Lu Q, Sharma S, Li L, Morimoto S, Wang G. Quercetin attenuates doxorubicin cardiotoxicity by modulating Bmi-1 expression. *Br J Pharmacol*, 2014, 171: 4440-4454.
111. Aristatile B, Al-Numair KS, Al-Assaf AH, Veeramani C, Pugalendi KV. Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular dna damage ınduced by uvb ırradiation in human peripheral lymphocytes. *J Biochem Mol Toxicol*, 2015, 29: 497-507.
112. Gore PR, Prajapati CP, Mahajan UB, Goyal SN, Belemkar S, Ojha S, Patil CR. Protective effect of thymoquinone against cyclophosphamide-ınduced hemorrhagic cystitis through ınhibiting DNA damage and upregulation of nrf2 expression. *Int J Biol Sci*, 2016, 12: 944-953.

113. Khedr NF. Protective effect of mirtazapine and hesperidin on cyclophosphamide-induced oxidative damage and infertility in rat ovaries. *Exp Biol Med*, 2015, 240: 1682-1689.

114. Cariño-Cortés R, Alvarez-González I, Martino-Roaro L, Madrigal-Bujaidar E. Effect of naringin on the DNA damage induced by daunorubicin in mouse hepatocytes and cardiocytes. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33: 697-701.

115. Gürsul C, Ekinci Akdemir FN, Akkoyun T, Can İ, Gül M, Gülçin İ. Protective effect of Naringin on experimental hindlimb ischemia/reperfusion injury in rats. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31: 56-61.

116. 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. *Chem Biol Interact*, 2015, 239: 76-86.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: İslam CENGİZ
Doğum tarihi	: 24/08/1990
Doğum yeri	: ERZURUM / MERKEZ
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, 25240 ERZURUM
Tel	: 5370639880
Faks	:
E-mail	: islam.cengiz@hotmail.com
Eğitim	
Lise	: Adnan Menderes Lisesi
Lisans	: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2009-2014)
Yüksek Lisans	: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	: Orta derecede
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Kitap okumak, spor yapmak, seyehat etmek	

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU

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

Sayı : 75296309-050.01.04-E.1600158898 12.07.2016
Konu : HADYEK Kararı.

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 17.06.2016 tarihli ve 36643897-000-E.1600142788 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.06.2016 tarih ve 4 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 123 no'lu karar ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcut oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz ederim.

Toplantı Tarihi: 30.06.2016

Toplantı Sayısı : 4

KARAR N0 123: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığının Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuarında yürütülecek olan **"Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda, Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Üzerine Naringinin Protektif Etkileri"** başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 17.06.2016 tarih ve 36643897-000-E.1600142788 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

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

Prof.Dr. Devriş ÖZDEMİR
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: http://www.atauni.edu.tr/#?birim=veteriner-fakultesi
Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr
Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr