

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ (VETERİNER)**  
**DOKTORA PROGRAMI**  
**VFT-2019-0001**

**RATLARDA EPİRUBİSİN ve SİKLOFOSFAMİD**  
**KOMBİNASYON SAĞALTIMINDA OLEUROPEİN**  
**UYGULAMASININ ETKİLERİ**

**METİN DENİZ KARAKOÇ**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç.Dr. Selim SEKKİN**


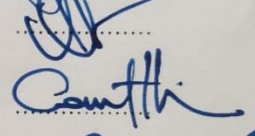
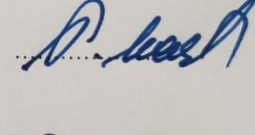
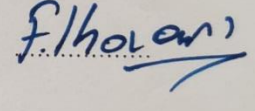

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-18003 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2019**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Metin Deniz KARAKOÇ tarafından hazırlanan “**Ratlarda epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon sağaltımında oleuropein uygulamasının etkileri**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/06/2019

Üye (TD) : Doç. Dr. Selim SEKKİN	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye : Prof. Dr. Ayşegül BİLDİK	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye : Prof. Dr. Cavit KUM	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye : Prof. Dr. Asım KART	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	
Üye : Doç. Dr. Fatma KOCASARI	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi	

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün .....tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan .....no'lu yönetim kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sırasında akademik açıdan yetiŐmemde büyük katkısı olan, danışman hocam Doç. Dr. Selim SEKKİN'e tezimin hazırlanması boyunca gösterdiği özveri ve bilimsel katkıdan dolayı teşekkür ederim. Anabilim Dalı baŐkanımız Prof. Dr. Cavit KUM'a ve Anabilim Dalımızın diğer değerli hocalarından Doç. Dr. Murat BOYACIOĞLU'na doktora eğitimim boyunca yaptıkları akademik katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Eğitimim sırasındaki sabır ve desteklerinden dolayı eŐime ve kızıma ayrıca teşekkür ederim.

Uz.Ecz.Metin Deniz KARAKOÇ

# İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
RESİMLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser ve Toplumsal Önemi.....	3
2.2. Kanser Hastalığında Genel Sağaltım Yöntemleri.....	4
2.2.1. Cerrahi.....	4
2.2.2. Radyoterapi.....	4
2.2.3. Kemoterapi ve Hedefe Yönelik Tedaviler.....	5
2.2.4. Hormonoterapi.....	9
2.2.5. İmmünoterapi.....	10
2.2.6. Kök Hücre Tedavisi ve Diğer Yöntemler.....	11
2.3. Meme Kanserlerinde Risk Faktörleri ve Epidemiyoloji.....	12
2.4. Meme Kanseri Türleri.....	16
2.5. Meme Kanserlerinde Tanı ve Evreleme.....	17
2.6. Meme Kanseri Kemoterapisinde Kullanılan Antineoplastik Ajanlar.....	20
2.7. Epirubisin ve Siklofosamid Kombinasyon Tedavisi.....	22

2.7.1. Epirubisinin Kullanımı ve Özellikleri.....	22
2.7.2. Siklofosfamidin Kullanımı ve Özellikleri.....	26
2.8. Epirubisin ve Siklofosfamid Kombinasyon Tedavisine Bağlı Yan Etkiler.....	28
2.9. Kemoterapiye Bağlı Yan Etkilerin Tedavisinde Mevcut Uygulamalar.....	28
2.10. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	29
2.11. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkileri.....	32
2.12. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkileri.....	33
2.13. Oksidatif Stresin Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri .....	34
2.14. Kemoterapiye Bağlı Yan Etkilerde Oksidatif Stresin Etkisi.....	36
2.15. Antioksidanlar.....	37
2.15.1. Endojen Antioksidanlar.....	38
2.15.1.1 Enzimatik antioksidanlar.....	38
2.15.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	38
2.15.2. Eksojen Antioksidanlar.....	40
2.15.2.1. Vitaminler.....	40
2.15.2.2. Polifenolik bileşikler.....	41
2.15.2.2.1. Oleuropein.....	42
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	47
3.1. Gereçler.....	47
3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları.....	47
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar.....	49
3.2. Yöntemler.....	50
3.2.1. Comet Analizi.....	51
3.2.2. Antioksidan ve Oksidan Parametre Analizleri.....	55
3.2.2.1. Dokuların homojenizasyonu.....	55
3.2.2.2. Total protein analizi.....	55
3.2.2.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi.....	55

3.2.2.4. <i>Katalaz</i> (CAT) analizi.....	56
3.2.2.5. İndirgenmiş glutatyon (GSH) analizi.....	56
3.2.2.6. Malondialdehit (MDA) analizi.....	57
3.2.3. Hemogram ve Biyokimyasal Analizler.....	57
3.2.4. Sitokin (TNF- $\alpha$ ve IL-6) Analizleri.....	58
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	58
4. BULGULAR.....	59
4.1. Canlı Ağırlık Ölçüm Sonuçları.....	59
4.2. Comet Analizi .....	60
4.3. Antioksidan ve Oksidan Parametrelerin Analizleri .....	61
4.4. Hemogram Bulguları .....	64
4.5. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	65
4.6. Sitokin Analizi (TNF- $\alpha$ ve IL-6) Sonuçları.....	67
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	79
KAYNAKLAR.....	80
EKLER.....	98
ÖZGEÇMİŞ.....	99

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AJCC:</b>	American Joint Committee on Cancer
<b>ALT:</b>	<i>Alanin aminotransferaz</i>
<b>AST:</b>	<i>Aspartat aminotransferaz</i>
<b>BPA:</b>	Bisfenol A
<b>CAT:</b>	<i>Katalaz</i>
<b>CK-MB:</b>	<i>Kreatinin kinaz izoenzim 3</i>
<b>CK:</b>	<i>Kreatinin kinaz</i>
<b>DMSO:</b>	Dimetil sülfoksit
<b>DNA:</b>	Deoksiribo nükleik asit
<b>EDTA:</b>	Etilen diamin tetra asetik asit
<b>fl:</b>	Femto litre
<b>GGT:</b>	Gamma glutamil transferaz
<b>GPx:</b>	<i>Glutasyon peroksidaz</i>
<b>GR:</b>	<i>Glutasyon redüktaz</i>
<b>g:</b>	Gram
<b>GRA:</b>	Granülosit
<b>GSH:</b>	İndirgenmiş glutasyon
<b>HCl:</b>	Hidroklorik asit
<b>HCT:</b>	Hemotokrit
<b>HGB:</b>	Hemoglobin
<b>IL-6:</b>	İnterlökin 6
<b>IUPAC:</b>	International Union of Pure and Applied Chemistry
<b>iNOS:</b>	İndüklenebilir <i>nitrik oksit sentaz</i>
<b>i.v.:</b>	<i>İntra venöz</i>
<b>i.p.:</b>	<i>İntra peritoneal</i>
<b>kDA:</b>	Kilo dalton
<b>KLL:</b>	Kronik lenfositik lösemi
<b>l:</b>	Litre
<b>LDL:</b>	Düşük dansiteli lipoprotein
<b>LPO:</b>	Lipid peroksidasyonu
<b>LYM:</b>	Lenfosit sayısı

<b>M:</b>	Molar
<b>MCH:</b>	Mean corpus hemoglobin (ortalama hücre hemoglobini)
<b>MCHc:</b>	Ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu
<b>MCV:</b>	Mean corpus volume (ortalama hücre hacmi)
<b>MDA:</b>	Malondialdehit
<b>mg:</b>	Miligram
<b>ml:</b>	Mililitre
<b>mM:</b>	Milimolar
<b>MONO:</b>	Monosit sayısı
<b>MPV:</b>	Mean platelet volume (ortalama platelet hacmi)
<b>N:</b>	Normalite
<b>NaCl:</b>	Sodyum klorür
<b>NO:</b>	Nitrik oksit
<b>p.o.:</b>	<i>per os</i>
<b>PBS:</b>	Fosfat tamponu
<b>PCT:</b>	Platelet sayısı/diğer hücre % oranı
<b>PDWc:</b>	Platelet distrubition width (platelet dağılım genişliği)
<b>PLT:</b>	Trombosit sayısı
<b>RBC:</b>	Red blood cell (eritrosit sayısı)
<b>RDWc:</b>	Eritrosit dağılım genişliği konsantrasyonu
<b>RNA:</b>	Ribo nükleik asit
<b>ROB:</b>	Reaktif oksijen bileşikleri
<b>rpm:</b>	Round per minute (dakikadaki tur sayısı)
<b>SOD:</b>	Süper oksid dismutaz
<b>TBA:</b>	Tiyobarbitürik asit
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b>	Tümör nekrozis faktör alfa
<b>UICC:</b>	Union for International Cancer Control
<b>X<sup>2</sup>:</b>	Ki kare değeri
<b>WBC:</b>	White blood cell (lökosit sayısı)
<b>VEGF:</b>	Vasküler endotelyal büyüme faktörü



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Epirubisinin ( $C_{27}H_{29}NO_{11}$ ) kimyasal yapısı.....	22
Şekil 2. Epirubisin semikuinon radikali ve etkileri.....	24
Şekil 3. Epirubisinin serbest radikal oluşturma süreci ve enzimatik oksidasyonu .....	25
Şekil 4. Siklofosfamidin ( $C_7H_{15}N_2O_2P$ ) kimyasal yapısı.....	26
Şekil 5. Siklofosfamidin biyotransformasyon ile metabolitlerine dönüşümü.....	27
Şekil 6. Serbest radikal ve antioksidan dengesinin bozulması ve sonuçları.....	29
Şekil 7. Serbest oksijen radikalinin oluşumu.....	31
Şekil 8. DNA'da meydana gelen oksidatif stres kaynaklı değişiklikler.....	32
Şekil 9. Oksidatif stres kaynaklı 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumu .....	33
Şekil 10. 2, 4-dinitrofenilhidrazinin oksidasyonu ile dinitrofenol oluşumu.....	34
Şekil 11. Lipid peroksidasyonu ve bozunma ürünleri.....	35
Şekil 12. TBA ve MDA reaksiyonu.....	36
Şekil 13. Antioksidanların elektron transferi ile serbest radikali nötralize etmesi.....	37
Şekil 14. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı.....	41
Şekil 15. Oleuropeinin ( $C_{25}H_{32}O_{13}$ ) Kimyasal Yapısı.....	42
Şekil 16. Oleuropein biyosentezi.....	43
Şekil 17. Oleuropeinin $\beta$ -glukozidaz ve esteraaz ile enzimatik hidrolizi.....	43
Şekil 18. Oleuropeinin hücre içi antikanser etki mekanizmaları.....	46

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Işık mikroskopunda Thoma lamı ile hücre sayımı.....	53
<b>Resim 2.</b> Comet analizi ile DNA örneklerine ait floresan mikroskop görüntüleri.....	54



## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Dünyada en yüksek insidansa sahip 10 kanser türü.....	13
<b>Tablo 2.</b> Dünyada kadınlarda en sık görülen kanserlere ait insidans ve mortalite.....	14
<b>Tablo 3.</b> Ülkemizde kadınlarda en sık görülen kanserlere ait insidans ve mortalite.....	14
<b>Tablo 4.</b> Meme kanseri türleri.....	16
<b>Tablo 5.</b> UICC ve AJCC'ye göre meme kanserlerinin TNM sistemi tanımları.....	19
<b>Tablo 6.</b> UICC ve AJCC'ye göre meme kanserlerinde TNM evrelemesi.....	20
<b>Tablo 7.</b> Meme kanseri kemoterapisinde kullanılan protokoller.....	21
<b>Tablo 8.</b> Bazı reaktif oksijen bileşikleri (ROB).....	30
<b>Tablo 9.</b> Araştırmadaki deney gruplarının teşkili.....	48
<b>Tablo 10.</b> Çalışma sırasında kullanılan cihaz ve gereçler.....	49
<b>Tablo 11.</b> Çalışma sırasında kullanılan kimyasal maddeler.....	50
<b>Tablo 12.</b> Ratlara ait haftalık ağırlık ölçümü sonuçları.....	59
<b>Tablo 13.</b> Deney gruplarına ait comet analizi sonuçları .....	60
<b>Tablo 14.</b> Doku örneklerine ait SOD, CAT, GSH ve MDA değerleri .....	61
<b>Tablo 15.</b> Deney gruplarına ait hemogram değerleri.....	64
<b>Tablo 16.</b> Deney gruplarına ait biyokimyasal analiz değerleri .....	66
<b>Tablo 17.</b> Deney gruplarına ait serum TNF- $\alpha$ ve IL-6 değerleri.....	67

## ÖZET

### RATLARDA EPİRUBİSİN ve SİKLOFOSFAMİD KOMBİNASYON SAĞALTIMINDA OLEUROPEİN UYGULAMASININ ETKİLERİ

**Karakoç MD. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner) Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2019.**

Oleuropein, zeytin bitkisinin (*Olea europaea* L.) tüm kısımlarında farklı oranlarda yer alan; antioksidan, antiinflamatuvar, antitümoral, antiviral ve antimikrobiyal etkinliğe sahip polifenolik yapıya sahip bir bileşiktir. Çalışma kapsamında meme tümörlerinin sağaltımında kombine olarak kullanılan antineoplastik ajanlardan epirubisin ve siklofosfamide bağlı toksisiteye karşı oleuropeinin etkinliği dişi Sprague-Dawley ratlarda (n=56) araştırıldı. Çalışmada; kontrol, epirubisin, siklofosfamid, epirubisin+siklofosfamid, epirubisin+oleuropein, siklofosfamid+oleuropein ve epirubisin+siklofosfamid+oleuropein olmak üzere yedi grup (n=8) oluşturuldu. Ratlara dört kür 2.5 mg/kg/hafta epirubisin (i.p.), 16 mg/kg/hafta siklofosfamid (i.p.) ve 150 mg/kg/hafta dozunda oleuropein (p.o.) eş zamanlı olarak uygulandı. Oleuropeinin etkinliği Comet yöntemi, hemogram ve biyokimyasal analizler, ELİSA testi ile TNF- $\alpha$  ve IL-6 miktar tayinleri, ayrıca kalp, böbrek ve karaciğer dokularında antioksidan/oksidan parametrelerin seviyelerinin analizleri yoluyla araştırıldı. Çalışma sonucunda oleuropeinin antineoplastik ilaçlara bağlı kilo kaybını engellediği; ayrıca lenfosit DNA'ları üzerindeki hasarı önemli oranda azalttığı saptandı. Oleuropeinin dokulardaki SOD, CAT ve GSH seviyelerini arttırdığı ve oksidatif hasarın bir göstergesi olan MDA seviyelerini ise azalttığı belirlendi. Oleuropeinin nötrojeni ve organ hasarları ile ilişkili olan çoğu kan parametresine ait değerleri iyileştirerek kontrol grubuna benzer seviyelerde dengelediği saptandı. ELİSA testi sonucunda antineoplastik ilaçlar nedeniyle artan TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinde önemli oranda düşme sağlayarak bu değerleri sağlıklı kontrol grubu seviyelerine kadar indirebildiği belirlendi. Çalışmanın sonuçları oleuropeinin epirubisin ve siklofosfamid kombinasyonu sağaltımında görülen toksisiteye karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** epirubisin, oksidatif stres, oleuropein, siklofosfamid

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF OLEUROPEIN ON EPIRUBICIN AND CYCLOPHOSPHAMIDE COMBINATION TREATMENT IN RATS.

**Karakoç MD. Aydın Adnan Menderes University Graduate School of Health Sciences Pharmacology and Toxicology (Veterinary) Programme, PhD Thesis, Aydın, 2019.**

Oleuropein is a polyphenolic compound with antioxidant, anti-inflammatory, antitumoral, antiviral and antimicrobial activities and found in all parts of the olive plant (*Olea europaea* L.) with different amounts. In the study, we investigated the effects of oleuropein on the epirubicin and cyclophosphamide combination treatment in female Sprague-Dawley rats (n=56). Rats were divided into seven equal groups (n=8) as control, epirubicin, cyclophosphamide, epirubicin+cyclophosphamide, epirubicin+oleuropein, cyclophosphamide+oleuropein and epirubicin+cyclophosphamide+oleuropein. Four cycles of 2.5 mg/kg/week epirubicin (i.p.), 16 mg/kg/week cyclophosphamide (i.p.) and 150 mg/kg/week oleuropein (p.o.) were administered to the rats simultaneously. Effects of oleuropein were investigated via using Comet assay, hemogram and biochemical analyzes, ELISA tests for determining serum TNF- $\alpha$  and IL-6 levels, and also analysis of oxidant/antioxidant parameter levels in heart, kidney and liver tissues. It is determined in the study that oleuropein prevented the weight loss which caused by antineoplastic drugs and reduced the damage on lymphocyte DNA significantly. Oleuropein led to an increase in SOD, CAT and GSH levels in tissues and decreased the MDA levels which is an indicator of oxidative damage. It was determined that oleuropein ameliorated most of the blood parameters which are associated with neutropenia and organ damages, and balanced these values to the similar levels with the control group. According to the results of ELISA tests, it was determined oleuropein led to a significant decrease in both TNF- $\alpha$  and IL-6 levels which elevated due to the antineoplastic drugs and reduced these values to healthy control group levels. Results of the study indicates that oleuropein might be a protective agent against toxicity in epirubicin and cyclophosphamide combination treatment.

**Key words:** cyclophosphamide, epirubicin, oleuropein, oxidative stress

# 1. GİRİŞ

Kanser, tüm dünyada önemli bir sağlık problemidir. Kanser, sebebi bilinen ölümler arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır ve beraberinde getirdiği sağlık sorunlarının yanı sıra, gerek ekonomik gerekse psikolojik açıdan uzun süreli mücadele gerektiren bir hastalıktır (Reidy ve ark, 2018). Beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı, bazı ilaçlar, genetik faktörler, çevresel kimyasallar, tütün ürünleri, alkol, virüsler ve radyasyon kanserin etiolojisinde rol oynayan başlıca faktörlerdir (Trendowski, 2014). Cerrahi, radyoterapi, immünoterapi ve hormonoterapi gibi diğer tedavi seçenekleri de sıklıkla kullanılmakla birlikte, kemoterapi tüm yöntemler içerisinde dünya genelinde en yoğun uygulanan tedavi biçimi olarak öne çıkmaktadır (Breugom ve ark, 2015).

Kemoterapide kullanılan antitümoral ilaçların kanser hücresine karşı seçicilikleri genellikle azdır (Meade, 2014). Antineoplastik ilaçların pek çoğunun terapötik indeksleri dar ve diğer ilaçlara göre yan etkileri nispeten daha fazladır. Kanserli hücelere zarar verdikleri gibi sağlıklı hücelere de zarar verme potansiyelleri mevcuttur. Bu ilaçların pek çoğunun immünosüpresif, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik yan etkileri bulunmaktadır (Sadowska ve ark, 2013; Barreto ve ark, 2014).

Kanser tedavisinde uygulanan antineoplastik ilaçların toksik etkilerini azaltmak maksadı ile pek çok madde kullanılmakta ve araştırılmaya devam edilmektedir. Kullanılan ürünler arasında ise vitaminler, bitkisel kaynaklı polifenolik bileşikler ve antioksidan etkili minerallerin (çinko, selenyum, vb.) yaygın olduğu görülmektedir (Sweet ve ark, 2013; Smith ve ark, 2014). Diğer taraftan bilim dünyasında bu konu hakkında birbirinden oldukça farklı görüşler bulunmaktadır. Antioksidanların antitümoral etkileri nedeniyle çeşitli kanser türlerinde iyileşme sağladığını, metastazları önleyerek kanserin ilerlemesini durdurduğunu ve antineoplastik ilaç kaynaklı bazı toksik etkilerin şiddetini azalttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (Temraz ve ark, 2013; Han ve ark, 2015; Yeh ve ark, 2017; Radomska-Lesniewska, 2017). Ancak, günümüzde halen hangi antioksidan bileşiğin hangi kanser türünde veya hangi kemoterapi ilaçları sonucu görülen yan etkilerin yönetiminde ne şekilde uygulandığında etkili olacağına dair rutin tedavi protokolüne girmiş bir uygulama bulunmamaktadır (Vincent ve ark, 2013; Li ve ark, 2017; Losada-Echeberria ve ark, 2017). Diğer taraftan antioksidan kullanımının antineoplastik bileşiklerin etkilerini azalttığı ve tedaviyi olumsuz yönde

etkilediğini belirten bazı çalışmalar da mevcuttur (Watson, 2013; Bonner ve Arbiser, 2014; Giorgio, 2015) Antioksidan bileşiklerin kanser tedavisinde veya yan etkilerin azaltılması amacıyla kullanılması bilim insanları tarafından yoğun olarak araştırılmaya ve tartışılmaya devam edilen bir konudur. Bu tez kapsamında zeytin bitkisinin (*Olea Europaea* L.) temel antioksidan bileşeni olan oleuropeinin çeşitli kanser türlerinin tedavisinde tek ajan olarak da kullanılabilmeyle birlikte özellikle adjuvan, neoadjuvan ve metastatik meme tümörlerinin kemoterapisinde birlikte kullanılan epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon sağaltımı protokolüne bağlı olarak oluşan toksik etkilerin şiddetini azaltmadaki etkinliği araştırılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser ve Toplumsal Önemi

Kanser, çevresel ve genetik etkenlerle, hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmasdır. Tümör hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayıran en temel özellik “kontrolsüz çoğalma” olmakla birlikte, başka biyolojik karakteristikleri de bulunmaktadır (Lutgendorf ve Andersen, 2015). Bunlar arasında hücre kültürlerinde kontakt inhibisyonundan kaçabilme, bölünebilmek için dış uyaranlara ihtiyaç duymama, çoğalmayı inhibe edici sinyallere duyarsızlık, apoptozis mekanizmalarından kaçabilme, anjiyogenezi uyararak metastaz yapabilme gibi özellikler sayılabilir (Aftimos ve ark, 2014; Ribas, 2015). Kanser, histolojik açıdan karsinoma, sarkom, lösemi, lenfoma, miyelom ve santral sinir sistemi kanserleri olmak üzere altı temel gruba ayrılır. Karsinoma, cilt veya iç organları kaplayan hücrelerde görülen kanserlerdir. Sarkomlar kemik, kıkırdak, yağ, kas, damarlar ve diğer bağ ve destek dokuda gelişen kanser tipidir. Lösemi beyaz kan hücreleri, kemik iliği hücrelerinin anormal sayıda çoğalması ve dolaşıma katılması ile karakterize kanser tipidir. Lenfatik sistemi etkileyen immün sistem hücrelerinin aşırı çoğaldığı kanser tipleri lenfomalar olarak adlandırılır. Miyelom antikor oluşumunda görev alan B lenfositlerin kontrolsüz çoğalması ile karakterize kanser tiplerine verilen addır. Beyin ve spinal kord'da lokalize kanser tipine ise santral sinir sistemi kanserleri adı verilmektedir (Prat ve ark, 2015).

Kanser gelişimi uzun bir süreç sonunda meydana gelmektedir. Kanserin erken teşhis edilmesi tedavide büyük öneme sahiptir. Ancak, kanserin karmaşık bir etiopatolojiye sahip progresif bir hastalık olması, aynı zamanda kanser alt tiplerindeki heterojenlik tanı ve tedavi sürecini zorlaştırmaktadır (Wardle ve ark, 2015).

Kanser son yıllarda tüm dünyada insidansı artış gösteren önemli bir sağlık problemidir. Dünyada 2020 yılında kanser tanısı konan yeni hasta sayısının yılda 17 milyona, 2030 yılında ise 24 milyona çıkacağı ve 17 milyon insanın aynı yıl kanser sebebiyle yaşamını yitireceği, 2030 yılında 75 milyon insanın kanserle yaşıyor olacağı tahmin edilmektedir (Miller ve ark, 2016). Ülkemizde ise günümüzde kanser tedavisi görmekte olan yaklaşık 750.000 dolayında hasta bulunmakta ve yılda ortalama 163.500 yeni hastaya kanser teşhisi konulmaktadır (Bakar, 2017).



## **2.2. Kanser Hastalığında Genel Sağaltım Yöntemleri**

Kanserin 100'den fazla türü olduğu bilinmesine ve çoğu kanser türü için tedavide mümkün olduğunca standart yaklaşımlar geliştirilmesine rağmen her kanser aslında hastaya özgü bir hastalıktır. DNA yapısındaki bireye özgü farklılıklar nedeniyle hastalar arasında benzer tedavilere farklı yanıtlar alınması karşılaşılan bir durumdur. Teknolojinin ilerlemesi ve kanser üzerine yapılan yoğun araştırmalar neticesinde günümüzde var olan tedavilerin yanında yeni tedavi yöntemleri de geliştirilmeye devam edilmektedir. Standart olarak kabul edilen kemoterapi, cerrahi ve radyoterapiye ek olarak aşılarda, hormon terapileri, hedefe yönelik biyolojikler ve gen terapileri her geçen gün giderek artan bir oranda tedaviye girmektedir (Pavlopoulo ve ark, 2015). Bu yöntemler kimi hastalarda tek başlarına kullanılabilir de çoğu hastada diğer tedavi yöntemlerine destek amacıyla kullanılmaktadırlar. Her yöntemin kendine özgü çeşitli avantaj ve dezavantajlarının bulunması ve tedavilerin bireyler arasında farklılık gösterebilmesi nedeniyle tek bir kesin tedavi yönteminin varlığından bahsetmek mümkün değildir (Tsimberidou ve ark, 2014).

### **2.2.1. Cerrahi**

Cerrahi yöntemler, kemoterapi ve radyoterapi gibi yöntemlerle eş zamanlı veya bir sıra dahilinde kullanılabilir gibi, tek başına da yaygın olarak başvurulmuş bir yoldur. Metastazı olmayan hastaların üçte biri cerrahi ve radyoterapiye duyarlıdır. Erken dönem kanserlerde cerrahi ve radyoterapinin birlikte uygulandığı hastalarda %50'ye varan bir başarı oranı sağlanır. Tanı için biyopsi örneği alınmasında, kanserli kitlenin vücuttan çıkarılarak hastanın şifaya kavuşması amacıyla ve hasta yaşam kalitesini etkileyen metastatik kanserlerde palyatif olarak sıklıkla yararlanılmaktadır (Cata ve ark, 2014). Bazı durumlarda cerrahi müdahale öncesinde tümör çapını küçültmek amacıyla öncelikle kemoterapi veya radyoterapi ile kitlenin küçültülmesi tercih edilebilir (Yu ve ark, 2013).

### **2.2.2. Radyoterapi**

Radyoterapi, sodyum-131, sodyum-223, stronsiyum-89 vb. radyoaktif maddeler vasıtasıyla oluşan yüksek enerjili ışınları kullanarak tümörü yok etmeyi ya da çapını küçültmeyi

amaçlayan tedavi yöntemidir. Vücudun hemen hemen her bölgesindeki birçok kanser tipinde radyoterapi kullanılmaktadır (De Felice ve ark, 2018). Hastalığın ve hastanın özelliklerine bağlı olarak konformal proton ışın radyasyon terapi, üç boyutlu konformal radyoterapi, görüntü rehberliğinde radyoterapi ve yoğunluk aracılı radyoterapi gibi çeşitli radyoterapi teknikleri uygulanmaktadır. Geliştirilen bu farklı yöntemlerin ortak noktası hedef alınan kanser hücreleri üzerine azami terapötik etki göstermek ancak sağlıklı hücrelere ise asgari oranda zarar vermektir. Yoğunluk ayarlı radyoterapi sistemleri genelde prostat, meme, beyin ve baş-boyun kanserlerinde kullanılmakta olup hastalıklı bölgeye farklı kuvvette radyasyon verilmesini ve bu sayede sağlıklı dokuların korunmasını sağlayan bir yöntemdir (Fisher ve Rabinovitch, 2014). Uygulanan ışın dozunu azaltmak veya antitümoral aktiviteyi arttırmak amacıyla radyoterapi, kemoterapi ile eş zamanlı olarak da uygulanabilmektedir. Bazı tümör tiplerinde ameliyat öncesinde tümör boyutlarının küçültülmesi amacıyla da radyoterapi verilebilir. Ancak radyoterapinin en büyük dezavantajlarından birisi kemoterapide olduğu gibi tümör hücrelerini öldürürken sağlıklı dokulara da zarar vermesidir. Ayrıca, halsizlik, iştah kaybı, ishal, kusma ve nötropeni gibi sık görülen yan etkiler de hastanın tedaviye uyumunu etkileyebilir. Bu nedenle tedavi planlaması yapılırken verilecek ışın dozunu azaltmaya yönelik diğer tedavi yöntemleri ile kombinasyon seçenekleri de göz önünde bulundurulmalıdır (Bie ve ark, 2015).

### **2.2.3. Kemoterapi ve Hedefe Yönelik Tedaviler**

Kemoterapi, kanser tedavisinde en fazla uygulanan tedavi biçimidir. Kemoterapide temel amaç sitotoksik özellikte olan antineoplastik ajanlar kullanarak kanser hücrelerini yok etmektir. Türü ve evresine bakılmaksızın kanser teşhisi konulan hastaların yaklaşık yarısına kemoterapi verilmekte ve %10-15 civarında bir kür oranı elde edilmektedir (Lemanne ve ark, 2013). Kemoterapide genel kural olarak farklı mekanizmalarla etki eden, farklı rezistans mekanizmalarına sahip, doz kısıtlayıcı toksisiteleri farklı olan birkaç ilacın kombinasyonu, bir protokol kapsamında kullanılmaktadır. Radyoterapi veya cerrahi tedaviden önce tümör çapını küçültmek ve hastanın tümöre bağlı şikayetlerini azaltmak için verilen tedaviye neoadjuvan tedavi adı verilirken total ya da parsiyel cerrahi rezeksiyon sonrası mikrometastazları yok etmek için verilen tedavi adjuvan kemoterapi olarak adlandırılır. Antineoplastik ilaçlar genellikle hücum tedavisi şeklinde yüksek dozda bir veya birkaç günlük kürler halinde uygulanırlar. Kemik iliği üzerindeki depresyonun geçmesi için kürler arasında genellikle 3-6 haftalık interval bırakılır (Hudis ve Dang, 2015). İlaç seçimi esas olarak, teşhis edilen tümör türünün ilaca

duyarlılığına göre yapılır. Antineoplastik ilaçlar az sayıdaki belirli kanser türlerinde tek başlarına kullanılırken pek çok malignitenin tedavisinde ise iki ya da daha fazlası kombine edilerek kullanılırlar. Antineoplastik ilaç dozları hesaplanırken hastanın cinsiyeti, yaşı, kilosu, boyu, böbrek ve karaciğer fonksiyonları gibi pek çok ölçüt göz önüne alınarak karar verilir. Vücut yüzey alanına göre alınabilecek uygun doz belirlenerek diğer fonksiyonların durumuna göre hekim tarafından gerekli doz azaltmaları, sıvı artırımı ve infüzyon süresi uzatımı gibi tercihler değerlendirilir (Pai, 2012). Vücut yüzey alanı (VYA) hesabında Mosteller formülü ve DuBois & DuBois formülü kullanılır. Buna göre metrekare cinsinden VYA, hastanın boyu (cm) ve kilosunun (kg) çarpımının 3600'e bölünmesinden elde edilen sonucun kareköküdür.

Belli bir tümör tipinin kemoterapisinde uygulanan tek ya da birkaç ilaçtan oluşan bir uygulama rejiminin kabul görmüş bir protokol haline gelebilmesi için yalnız denendiği kliniklerde olumlu sonuçlar alındığının gözlenmesi yeterli değildir (Righi, 2015). Yeni bir ilacın veya farklı bir kanserin tedavisinde kullanılan bir ilacın yeni bir kanser türü için denenmesi ya da mevcut bir protokoldeki ilaç kombinasyonu dozlarının ve uygulama sıklığının değiştirilerek geniş bir hasta grubunda kısa ve uzun vadeli yan etkilerinin ortaya konmasının ardından mevcut kemoterapi protokollerine göre avantaj ve dezavantajları değerlendirilir (Garrido ve ark, 2014). Ardından, araştırma sonuçları bilimsel dergilerde makale olarak yayımlanır. Bu aşamadan sonra söz konusu ilaç rejimi başta Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa Birliği ülkelerindeki kanser araştırma merkezleri olmak üzere dünya genelinde çeşitli kliniklerde uygulanarak farklı coğrafyalarda yaşayan, farklı ırklardan hastalar üzerindeki uygulama dozları, etki ve yan etkilerinin avantaj ve dezavantajlarına ait bilgiler birkaç yıl boyunca derlenir. Ardından faydası kanıtlanmış olan rejimler uluslararası kabul görmüş kanser veri tabanlarına girilir ve bir protokol haline gelir.

Kemoterapi amacıyla verilen ilaçları farmakolojik etki mekanizmalarına göre alkilleyici ajanlar, sitotoksik antibiyotikler, antimetabolitler, bitkisel alkaloidler, platin türevleri, *topoizomeraz* inhibitörleri, monoklonal antikorlar ve *tirozin kinaz* inhibitörleri şeklinde sınıflandırmak mümkündür (Venkatakrisnan ve ark, 2015). Alkilleyici ajanlar, DNA'nın transkripsiyonunu engelleyerek protein sentezini ve dolayısı ile tümör proliferasyonunu baskılayan ajanlardır. İlaça ait alkil grupları hücre DNA'sı üzerinde yer alan hidrojen atomları ile yer değiştirir ve karsinojenik aktivite gösterirler (Bordin ve ark, 2013). Kemoterapi tedavisinde sık kullanılan bazı alkilleyici ajanlara örnek olarak siklofosamid, ifosamid, bendamustin ve dakarbazin verilebilir. Bu ilaçlar akciğer, over, meme kanserleri,

multipl miyelom, lösemi dışında çeşitli hematolojik malignitelerde ve romatizmal hastalıklarda da kullanılmaktadırlar Bu gruba ait ilaçların en yaygın görülen yan etkileri enfeksiyonlara yatkınlık, miyelosüpresyon, immünosüpresyon, karaciğer fonksiyon bozukluğu, alopesi, ateş, sistit, mikrohematüri ve spermatogenezde bozukluktur (Trendowski ve Fondy, 2015).

Antimetabolitler, insan vücudunda enzimlerin uyarılması veya baskılanması ile sinyal iletiminden sorumlu olan çeşitli ara basamaklarda görev alan moleküllerin baskılanmasını sağlayarak antineoplastik etki gösteren maddelerdir. Hücrenin normal etkinliğine müdahalede bulunabilir ve hücrede apoptozu tetikleyebilirler. Anti-metabolitler nükleotid analogları, pürin ve pirimidin analogları, antifolatlar ve nükleozid analogları olarak alt gruplara ayrılabilir (Polk ve ark, 2014). Antimetabolit antineoplastik ajanlara örnek olarak 5-florourasil, gemsitabin, fludarabin ve metotreksat verilebilir. Antimetabolit ajanlar pek çok kanser türünün tedavisinde tek başlarına veya diğer etki mekanizmalarına sahip ajanlarla kombine olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Lökopeni, anemi, trombositopeni, febril nötropeni, anoreksi, baş ağrısı, uykusuzluk, dispne, bulantı, kusma, karaciğer enzimlerinde yükselme, alerji, alopesi, sırt ağrısı ve grip benzeri sendrom bu grup ilaçlara ait sık görülen yan etkilerdir (Hamed ve ark, 2013).

Epirubisin, doksorubisin, daunomisin ve bleomisin gibi antitümoral aktivite gösteren antibiyotik kökenli ajanlar yüksek oranda serbest reaktif radikaller ve süper oksitler oluşturmak vasıtasıyla DNA, RNA ve protein sentezini inhibe edici etkilerini gösterirler. Meme, mide lösemi, akciğer ve mesane kanserlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılırlar (Khasraw ve ark, 2012). Güçlü ve aynı zamanda seçici olmayan etkileri nedeniyle birçok yan etkiden sorumludurlar. Bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, ağız yaraları, alopesi, deri döküntüleri, ateş, halsizlik, üşüme, Elektrokardiyografi (EKG) anomalileri bu gruba ait ilaçların en sık görülen yan etkilerdir (Segura ve ark, 2015).

Mikrotübüller hücre şeklinin oluşmasından ve bölünmede görev alan proteinlerdir. Bu proteinleri baskılayarak mikrotübül oluşumunu engelleyen ajanlara mitotik inhibitör adı verilir. Mikrotübüller düzgün oluşamayınca hücreler doğru şekilde bölünememekte, oluşmakta olan kromozomlar hücrelerin karşı kutuplarına doğru şekilde çekilemeyerek, hücre daha oluşmadan hasar görmektedir (Barbee ve ark, 2014). Mikrotübül inhibisyonu yoluyla antitümoral aktivite gösteren dosetaksel, paklitaksel ve kabazitaksel gibi doğal ya da yarı sentetik taksan alkaloidleri ile vinkristin, vinblastin ve vinorelbin gibi doğal ya da yarı sentetik vinko alkaloidleri meme, akciğer, over, baş-boyun, mide ve prostat gibi birçok kanser türünün tedavisinde

kullanılmaktadır. Alopesi, stomatit, tümör bölgesinde ağrı, kabızlık, hipertansiyon, lökopeni, nöropati, enfeksiyonlara yatkınlık ve aritmi en yaygın olarak karşılaşılan yan etkilerdir (Moudi ve ark, 2013).

Kanser tedavisinde kullanılan platin bileşikleri sisplatin, karboplatin ve okzaliplatin'dir. Bu ajanlar inorganik ağır metallerdir. DNA zincirinin içerisinde ve zincirler arasında çapraz bağlanmalar oluşturarak DNA sentezine engel olurlar. Bunun yanında daha düşük derecede protein ve RNA sentezini de inhibe ederler. Sisplatin ayrıca antimikrobiale ve radyasyona duyarlılaştırıcı etkilere de sahiptir (Kang ve ark, 2015). Bu grup bileşikler arasında özellikle sisplatin geniş bir kullanım alanına sahiptir. Platin bileşikleri over, testis, akciğer, mesane, baş-boyun, lenfoma, sarkom, mide, serviks ve prostat kanserlerinde kullanılırlar. Lökopeni, sepsis, trombositopeni, anemi, nörotoksikite, ototoksikite, bradikardi, flebit, bulantı-kusma ve ağızda metalik tat hissi bu grup ilaçlara ait en fazla karşılaşılan yan etkilerdir (Hato ve ark, 2014).

DNA'nın doğru şekilde transkripsiyonunun yapılabilmesi için sırasıyla *topoizomera z I* ve *topoizomera z II* adlı enzimler tarafından süper döngüler yapılarak katlanmış iğciklerin açılarak düz bir pozisyona gelmesi gerekir. *Topoizomera z* inhibitörleri, söz konusu bu enzimleri inhibe ederek DNA'nın eşlenmesini engeller. DNA'da meydana gelen geri dönüşümsüz hasar nedeniyle hücrenin apoptozis sürecine girmesine yol açan bir mekanizma başlamış olur (Pommier, 2013). Topotekan ve irinotekan *topoizomera z I*'i inhibe ederken, teniposid ve etoposid gibi ajanlar ise *topoizomera z II* inhibisyonu yaparak antitümoral aktivite gösterirler. Bu gruba ait ilaçlar akciğer, testis, kolorektal ve over kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Tromboz, kardiyak iskemi, miyelosupresyon, bulantı, kusma, alopesi, hipotansiyon ve alerjik reaksiyonlar bu gruba ait ilaçların sık karşılaşılan yan etkileridir (Hu ve ark, 2016).

Antineoplastik ilaçların verilmesinden sonra malign hücre sayısında gözlenen azalma ekspanansiyel niteliktedir; farmakokinetik açıdan birinci derece kinetiğine uyar. Diğer bir deyişle, uygulanan her bir doz, hücre sayısında her seferinde aynı sayıda değil, aynı oranda azalma yapar. Bu nedenle tümör hücrelerinin tümünü ilaçla yok etmek teorik olarak mümkün değildir (Narayan ve Vaughn, 2015). İlacın etkinliğinin hücre döngüsünün belirli bir dönemine özgü olup olmaması antineoplastik ajanların kullanımını kısıtlayan diğer bir durumdur. Döneme-özü ilaçlar, vücutta terapötik konsantrasyon sınırlarında buldukları müddetçe o esnada hücre bölünmesinin ilgili safhasında bulunan hücreler üzerinde etki gösterirler. Döneme

özgü olmayan antikanser ilaçlar ise hücre ister bölünme safhasında ister istirahat safhasında olsun, tüm dönemlerde etkinlik gösterirler (Hudis ve Dang, 2015).

#### **2.2.4. Hormonoterapi**

Prostat, meme ve endometriyum gibi cinsiyete özgü bazı kanserlerinin tedavisinde hormon tedavisi seçeneği kullanılabilir. Hormon tedavisine duyarlı tümörlerde hormon reseptör antagonistleri, hormon replasman ajanları ve hormon sentez inhibitörleri ve olmak üzere üç ayrı grup ilaç kullanılmaktadır. Hormon replasmanında amaç tümörde anjiogenezi indükleyen hormonun zıt etkisi verilerek tümör çapının küçülmesini sağlamak veya metastazları engellemektir. Prostat kanserinin tedavisinde diethylstilbestrol ve progesterin kullanılarak testosteron üretimi baskılanmaktadır. Meme ve endometriyum kanserlerinin tedavisinde progesterin kullanılarak bu tümörlerin büyümesi ve metastaz yapması engellenmektedir. Hormon sentez inhibitörleri ise aromataz baskılayıcı ajanlar ve gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) analogları olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Aromataz enzimi androjenlerin östrojene çevrilmesinden sorumlu olan enzimdir. Anastrozol, letrozol gibi sentetik aromataz baskılayıcı ajanlar bu dönüşümü engelleyerek östrojen seviyesini düşürür ve hücre büyümesini engeller. Goserelin ve löprolid gibi GnRH analogları ise over ve prostat kanserlerinin tedavisinde kontrollü kimyasal kastrasyon sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu yolla erkeklerde testosteron dişilerde ise östrojen üretimi baskılanır ( Redden ve ark, 2013; Anderson ve ark, 2014).

Hormonal tedavide kullanılan üçüncü grup ise hormon reseptör antagonistleridir. Bunlar hücrede belli bir hormon reseptörüne bağlanarak antagonistik etki gösteren ve böylece hücre içine büyüme sinyali gitmesini engelleyen moleküllerdir. Östrojen ve androjen antagonistleri olmak üzere ikiye ayrılırlar. Tamoksifen ve fulvestrant anti-östrojenik etkileri nedeniyle meme kanserli hastalarda; enzalutamid ve bicalutamid ise anti-androjenik etkileri nedeniyle prostat kanserli hastalarda kullanılan hormon antagonistlerine örnek olarak verilebilir (Cedloni ve ark, 2014).

### 2.2.5. İmmünoterapi

İmmünoterapi, hastanın kendi bağışıklık sisteminin kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla mücadele için yararlanılan bir tedavi yöntemidir. Amaç immün sistem hücrelerinin kanser hücrelerini sağlıklı hücrelerden ayırt ederek onları hedef almalarını ve yok etmelerini sağlamaktır. İmmünoterapi farklı mekanizmalarla etki eden tedavileri içermektedir (Yang ve ark, 2015). Kanser immünoterapisinde temel hedef, tümör hücrelerinin çeşitli mekanizmalarını modüle ederek kendisine karşı duyarsız hale getirdiği immün sistemi kanser hücrelerine karşı yeniden duyarlı hale getirmektir. Bu mekanizmalar konusunda üç ana yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan birincisi tümör antijenlerini tanıyabilen monoklonal antikolar aracılığı ile gerçekleşen apoptozis, ikincisi yardımcı T (T helper) ve sitotoksik T hücrelerini uyarırken aynı zamanda doğru antikoların oluşumunun tetikleyen terapötik kanser aşılı; üçüncüsü ise antijenik olmayan bağışıklık sistemi modülatörleri olan immün sistem kontrol noktası (check point inhibitörleri) inhibitörleridir (Wang ve ark, 2015).

Monoklonal antikolar, kanser immünoterapisi yöntemlerinden klinik uygulamada en sık kullanılanlardır. Antineoplastik ajanların genel olarak pek çok yan etkilere sahip olmaları, tümör biyolojisinin zaman içerisinde daha iyi anlaşılması ve rekombinant DNA teknolojilerindeki gelişmeler son yıllarda monoklonal antikoların hızla klinik kullanıma girmesine olanak sağlamıştır. Monoklonal antikoların yan etkileri klasik antineoplastik ilaçlara kıyasla oldukça azdır. Monoklonal antikolar antitümörojenik etkilerini bağlandıkları reseptör üzerinden sinyalizasyonu inhibe ederek etki gösterirler (Jarboe ve ark, 2014). Monoklonal antikor teknolojisi ile üretilen, belirli bir antijeni spesifik olarak tanıyarak bağlanan antikolara monoklonal antikor denir. Monoklonal antikolar genellikle tümör hücre zarındaki antijenlere bağlanarak etki ederler; ancak bazıları sağlıklı hücrelerdeki antijenlere veya serbest proteinlere bağlanarak etki etmektedir (Yang, 2015) Antikolar farklı yollarla çalışırlar. Kronik lenfositik lösemi (KLL) hastalığında kullanılan alemtuzumab lenfosit zarında yer alan CD52 antijenlerine bağlanır. Bağlanan antikolar tümörlü hücreleri yok etmek için bağışıklık sistemini aktive ederler. Kolon kanseri tedavisinde kullanılan bevasizumab vasküler endotelial büyüme faktörüne (VEGF) bağlanır ve VEGF'nin reseptörüne bağlanmasını inhibe ederek anjiyogenezi durdurur. Diğer bir monoklonal antikor olan trastuzumab, meme ve mide tümörlü bireylerde eksprese olan HER2'ye bağlanarak bu tip tümörlü hastalarda anjiyogenezi engeller (Verma ve ark, 2012; Yang, 2015).

Kanser immünoterapisi amacıyla kullanılan diğer bir yöntem olan aşılar, antijenlerden ölü tümör hücrelerinden ya da çeşitli hücre bölümlerinden oluşmaktadır. Aşı kullanımında temel amaç hastalığı önlemek değil; mevcut hastalığa karşı bağışıklık sistemini harekete geçirmektir (Ye ve ark, 2016). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından prostat kanserli hastalarda kullanımı onaylanmış bir ajan olan Sipuleucel-T, bu kanser aşılara bir örnektir. Aşı, tamamen kür sağlamamakta ancak ortalama sağ kalım süresini ve hasta yaşam kalitesini olumlu yönde etkilemektedir. Kansere neden olduğu düşünülen viral enfeksiyonları önleyerek kanserden korunma sağlamayı amaçlayan aşılar da mevcuttur. Hepatit B virüsünün karaciğer kanseri ile human papilloma virüsün ise servikal, anal ve diğer bazı kanserlerle ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu virüslere karşı geliştirilen aşılar, bu kanserlerin önlenmesinde yardımcıdırlar (Wong ve ark, 2016).

İmmünoterapi uygulamalarından üçüncüsü olan immün sistem kontrol inhibitörlerinin (check point inhibitörleri) amacı, immün sistemin tümör hücrelerini tanıyarak harekete geçmesini sağlamaktadır. T hücreleri üzerinde bulunan PD-1 (Programlı hücre ölümü proteini 1), immün sistemin bir kontrol proteini. İmmün sistemdeki görevi T hücrelerinin vücudun kendi hücrelerine saldırmasını engellemektedir (Trivedi ve ark, 2015). Melanom ve renal hücreli kanserlerin tedavisinde kullanılan nivolumab ve küçük hücreli akciğer kanserleri ve melanomların tedavisinde kullanılan pembrolizumab PD-1 inhibitörlerine örnek olarak gösterilebilir. Yine melanom tedavisinde kullanılan ipilimumab CTLA-4 (sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein 4) yolağıyla indüklenen T hücresi inhibe edici sinyalleri bloke eden bir CTLA-4 immün kontrol noktası inhibitörüdür ve tümör hücrelerine karşı doğrudan bir T hücresi immün saldırısına geçmek için harekete geçen reaktif efektör T hücrelerinin sayısını arttırmaktadır. CTLA-4 blokajı, düzenleyici T hücrelerinin işlevini de azaltarak anti-tümör immün yanıtına da katkıda bulunabilir (Larkin ve ark, 2015; Madina ve Adams, 2016).

## **2.2.6. Kök Hücre Tedavisi ve Diğer Yöntemler**

Kök hücreler, diğer vücut hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Kök hücreler multipotent, unipotent pluripotent, oligopotent ve totipotent kök hücreler şeklinde sınıflandırılabilirler ve kanserin de içerisinde bulunduğu birçok hastalığın tedavisinde kullanım alanı bulurlar (Ahmad ve Amiji, 2017). Ancak her zaman doku uyumunun sağlanamaması en büyük dezavantajlardan biridir. Kök hücre tedavisi öncesinde veya tedavi sırasında hastalara



radyoterapi ve/veya kemoterapi uygulaması yapılarak tedavinin etkinliği artırılabilir veya bağışıklığı baskılayan güçlü ilaçlar ile uyum reddi azaltılır. Lösemi, meme, miyelom, lenfoma, testis ve böbrek kanserlerinde kök hücre tedavisi sıklıkla uygulanmaktadır (Wang ve ark, 2015).

Kanser tedavisinde son yıllarda önemi artan bir diğer tedavi yöntemi gen tedavisidir. Gen mutasyonları sebebiyle protein yapısında meydana gelen değişiklikler sonucu hücre metabolizmasında bozukluklar oluşabilmektedir. Bu nedenle hastalık etkeni olan genin saptanarak gen terapisi yöntemleriyle tedavi edilmesi birçok hastalıkta olduğu gibi kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Husain ve ark, 2015).

Gen transferi amacıyla kullanılan materyaller vektör olarak adlandırılmaktadır. Genelde vektör olarak herpes simplex virüs (HSV), adeno ilişkili virüs, retrovirüs, vaccinia ve lentivirüs gibi çeşitli virüsler kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda virüslere göre daha uzun etkili ve daha az toksisiteye sahip olan çıplak plazmid DNA'ları, peptoidler, DNA/stearil polilizin kaplı lipidler ve katyonik moleküller gibi viral olmayan çeşitli sentetik veya yarı sentetik sistemler de geliştirilmiştir (Wirth ve Yla-Herttuala, 2014). Günümüzde gen tedavisi özellikle diğer dokulara metastaz yapmamış ve genetik mutasyon sonucu geliştiğine dair kanıtlar bulunan çoğu kanser türünün tedavisinde kendisine kullanım alanı bulmuştur (Wirth ve Yla-Herttuala, 2014; Husain ve ark, 2015).

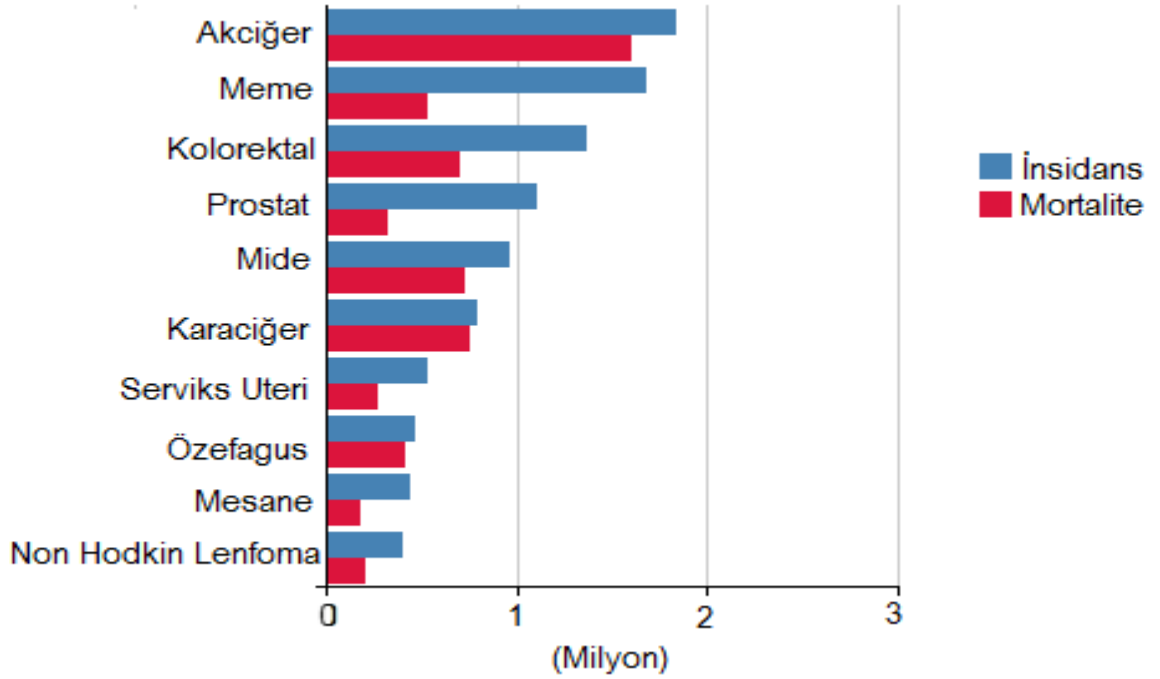
Yukarıda değinilen tedavi yöntemleri dışında henüz rutin tedavi uygulamaları olarak kabul edilmeyen, bazı tümör tiplerinde kısmi faydaları gösterilmiş ancak etkinliği ve yan etkileri henüz tam olarak aydınlatılmamış radyofrekans ablasyon tedavisi, yüksek doz C vitamini tedavisi, fotodinamik tedavi ve hiperbarik oksijen tedavisi gibi farklı tedaviler de bulunmaktadır (Wang ve ark, 2015).

### **2.3. Meme Kanserlerinde Risk Faktörleri ve Epidemiyoloji**

Meme kanseri tarihteki bilinen en eski kanser türlerinden birisidir. Meme kanseriyle ilgili keşfedilen en eski kaynak Mısır'da bulunmuştur ve milattan önce yaklaşık 1600 yıllarına dayanmaktadır. Günümüzde meme kanseri, özellikle ekonomik refah düzeyi yüksek ülkelerde yaşayan kadınlarda en fazla görülen ve ölüme sebep olan kanser tipi olarak önemini korumaktadır. Kadınlardaki tümörlerin yaklaşık %23'ünden ve kansere bağlı ölümlerin

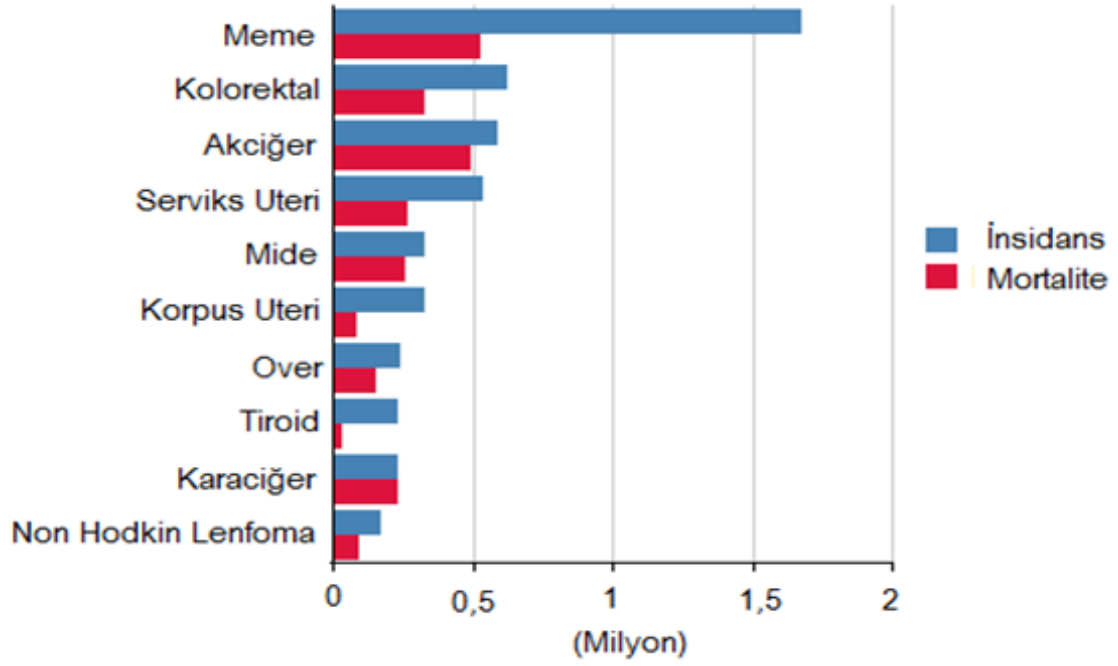
yaklaşık %14'ünden sorumludur. Gelişmiş ülkelerde yaşayan kırk yaşından büyük her sekiz kadından birinin meme kanserine yakalanacağı düşünülmektedir. (Baum, 2013). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansının son verilerine göre cinsiyet ayrımı gözetmeksizin bakıldığında meme tümörleri dünyada akciğer tümörlerinden sonra ikinci en sık görülen kanserdir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Dünyada en yüksek insidansa sahip 10 kanser türü (WEB\_1, 2019)

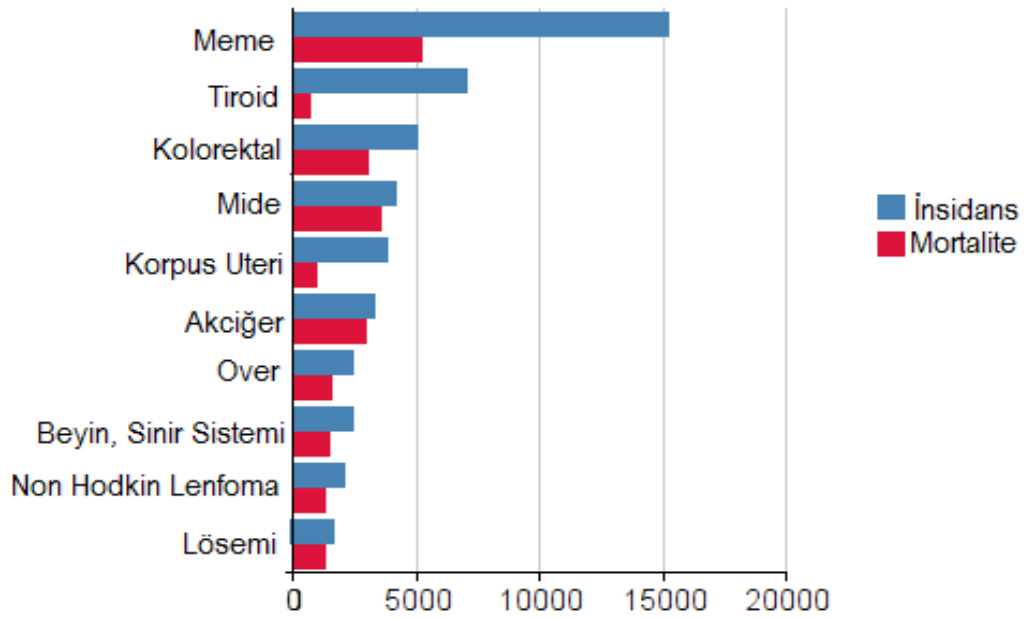


Meme kanseri dünyada olduğu gibi ülkemizde de kadınlar arasında en sık görülen ve ölüme sebep olan kanser türüdür. Özellikle gelişmiş ülkelerde son yıllarda insidanda artış olmakla birlikte, erken tanı olanaklarının ilerlemesi ve tedavi yöntemlerindeki yenilikler sayesinde mortalite oranlarında azalma kaydedilmektedir. Hastalığın insidansındaki artışın 2001 yılından sonra azalma eğilimi göstermeye başladığı; 2004 yılından itibaren ise bu azalma biraz yavaşlayarak da olsa devam etmekte olduğu bildirilmiştir (DeSantis ve ark, 2016). Diğer taraftan DSÖ'nün 2012 yılında açıkladığı son verilere göre dünyada her yıl yaklaşık 1,7 milyon kadına meme kanserine teşhisi konulmakta ve 522.000 kişi bu hastalık nedeniyle hayatını kaybetmektedir (Tablo 2). Ülkemizdeki meme kanseri yükü incelendiğinde ise her yıl yaklaşık 15.200 hastaya meme kanseri teşhisi konulduğu ve 5.200 civarında hastanın meme kanseri nedeniyle hayatını kaybettiği görülmektedir (Tablo 3). Türkiye'de meme kanseri tanısı konulan kadınların %40.4'ü 25-49, %44.5'i ise 50-69 yaş aralığında yer almaktadır (WEB\_2, 2019).

**Tablo 2.** Dünyada kadınlarda en sık görülen kanserlere ait insidans ve mortalite (WEB\_1,2019)



**Tablo 3.** Ülkemizde kadınlarda en sık görülen kanserlere ait insidans ve mortalite (WEB\_1, 2019)



Meme kanserinin etiyolojisinde rol oynayan pek çok faktör bulunmaktadır. Meme tümörlü hastaların çoğunda etiyoloji tam olarak saptanamamıştır. Ancak hastalığın gelişmesinde pek çok risk faktörü olduğu belirlenmiştir. Bu risk faktörleri çevresel etmenler,

demografik özellikler, genetik faktörler ve reproduktif öykü başlıklarında sınıflandırmak mümkündür (Rojas ve Stuckey, 2016).

Demografik özellikler arasında cinsiyet en önemli risk faktörüdür. Çok nadir olarak erkeklerde de meme kanseri görülebilmektedir. Ancak kadınlardaki risk erkeklere göre yüz kat daha fazladır. İleri yaş meme kanserinde diğer önemli bir risk faktörüdür. Hastalık en fazla 50 - 69 yaş aralığındaki kadınlarda görülmektedir. Hastalığın beyaz ırk kadınlarda insidansı daha fazladır. Ancak mortalite oranı ise zencilerde daha yüksektir (Garcia-Closas ve ark, 2014). Meme kanserinin gelişmekte olan ülkelere göre Batı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkeleri gibi sosyoekonomik düzeyi yüksek ülkelerde daha fazla insidansa sahip olduğu bilinmektedir (Rojas ve Stuckey, 2016).

Uzun süre östrojen içerikli oral kontraseptif ilaç kullanmak meme kanseri için risk artırıcı faktördür (Gierisch ve ark, 2013). 12 yaş öncesinde menarş, 55 yaşından sonra girilen menapoz, hiç doğurmamış olmak ve 35 yaşından sonra yapılan ilk doğum gibi faktörlerin meme kanserine yakalanma konusunda risk artışına neden olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan emzirmenin, meme kanserinde risk azaltıcı bir faktör olduğu bildirilmiştir (Anderson ve ark, 2014). Meme kanseri riskini arttırdığı çalışmalarla gösterilen çevresel faktörler ise tütün ve alkol tüketimi, uzun süre yüksek yağ ağırlıklı diyet ile beslenmek, obezite, memenin aktif gelişim döneminde radyasyon maruziyeti, hava kirliliği ve hormon replasman tedavisi olarak sayılabilir (Garcia-Closas ve ark, 2014).

Meme kanseri teşhisi konulan kişinin birinci ve ikinci derece yakınları da ileri zamanlarda meme kanserine yakalanma konusunda genetik yatkınlığa sahiptirler. 17. kromozomda bulunan BRCA1 ve BRCA2 genlerinde mutasyon olan kadınların meme kanserine yakalanma riski mutasyon bulunmayan bireylere göre %40 ila %80 arasında artmaktadır (Filippini ve Vega, 2013). BRCA1 geni östrojen reseptörlerinin aktivitesini modüle ederek meme dokusunda östrojen hormonunu kontrol eder. Bunun yanında DNA hasarlarının tamirinde ve kromatinin yeniden şekillenmesinde rol oynar. BRCA2 geni ise sadece DNA'yı onarır ve kromatinin yeniden şekillenmesinde görev alır (Romaglano ve ark, 2015). BRCA1 ve BRCA2 genleri hücrelerin anormal bölünmelerini engelleyerek tümör baskılayıcı etki gösterirler (Filippini ve Vega, 2013). BRCA mutasyonları dışında 10. kromozomda yer alan bir tümör baskılayıcı gen olan PTEN, protein tirozin fosfataz aktivitesi üstlenen bir proteini kodlar. Bu protein vücutta neredeyse tüm dokularda bulunduğundan PTEN geni mutasyonları vücutta

meme kanseri de dahil olmak üzere birçok kansere zemin hazırlar (Kobayashi ve ark, 2013). Diğer bir tümör baskılayıcı gen olan p53, apoptoziste görev alan bir gen transkripsiyon faktörüdür. p53 geninde meydana gelen mutasyonlar artmış meme kanseri riski ile ilişkilidir (Duffy ve ark, 2014).

#### 2.4. Meme Kanseri Türleri

Memede meydana gelen kitlelerin büyük bir çoğunluğu epitel ve bağ doku kaynaklı karsinomlar veya süt bezi ve kanallarından kaynaklanan adenokarsinomlardır. Kanser hücrelerinin meme ve çevre dokulara yayılmalarına göre non-invaziv (*in situ*) ya da invaziv kanserler olarak sınıflandırılabilir (Mirshahidi ve Abraham, 2009). Meme kanserlerinin sınıflandırılması Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 4.** Meme Kanseri Türleri (Özbaş ve ark, 2012).

<b>1. İn-Situ</b>	İntraduktal (İn situ duktal) karsinom İn situ lobüler karsinom	
<b>2. İnvaziv</b>	İnvaziv duktal karsinom Mikroinvaziv karsinom Tübüler karsinom İnvaziv kribriform karsinom Müsinöz karsinom Papiller karsinom İnvaziv lobüler karsinom İnvaziv mikropapiller karsinom Medüller karsinom Taşlı yüzük hücreli karsinom	Metaplastik karsinom Apokrin karsinom Histiositoid karsinom Lipidten zengin karsinom Berrak hücreli karsinom Sekretuar (juvenil) karsinom Adenoid kistik karsinom Metastatik karsinom İnvaziv lobüler karsinom İnflamatuvar meme karsinomu

Duktal tümörler meme kanallarındaki epitel dokulardan köken alan kanserlerdir (Özbaş ve ark, 2012). Duktal karsinoma *in situ*, duktus içerisindeki hücrelerin kansere dönüşmesi ile meydana gelir. Mamografide sıklıkla mikrokalsifikasyonlar şeklinde görülür. Tedavi edilmediklerinde invaziv duktal karsinomaya dönüşme potansiyelleri vardır (Cedolini ve ark, 2014). İnvaziv (infiltratif) duktal tümörler meme kanserinin en sık görülen türüdür. Tüm meme kanserlerinin yaklaşık %75-80'ini oluştururlar. Duktuslarda başlayan tümör hücresi önce çevre dokulara infiltre olur, ardından kan ve lenf yoluyla vücudun diğer bölümlerine metastaz yaparlar (Mirshahidi ve Abraham, 2009).

Lobüler kanserler meme lobüllerindeki epitel dokudan köken alan tümörlerdir. Noninvazif lobüler kanserler lobüler karsinoma *in situ* ve invazif lobüler kanserler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Lobüler karsinoma *in situ* memenin lobüllerinden köken almaktadır. Genellikle belirti vermezler ve mamografide görülmeyebilirler (Mirshahidi ve Abraham, 2009). Kesin tanı kitleden yapılan biyopsiyle konulur. Diğer bir lobüler tümör tipi olan invaziv (infiltratif) lobüler karsinomlar ise meme kanserlerinin %10-15'ini oluştururlar. Mamografi ile her zaman fark edilemeyebilirler. Tümör, lobüllerin epitelinden köken alarak çevre dokulara infiltre olur, ardından lenfatik sistem ve kan yoluyla vücudun diğer bölümlerine metastaz yaparlar. Genellikle bilateral ve çok merkezli tümörlerdir (Özbaş ve ark, 2012).

İnflamatuvar meme kanseri tüm meme tümörleri içerisinde %1-3 oranında karşılaşılan nadir tiplerindedir. İnflamatuvar meme tümörleri diğer meme kanserlerinden farklı olarak mastit bulgularına benzer bulgular gösterirler. Bu nedenle hekimlerce sıklıkla karıştırılabilir. Memede inflamatuvar meme kanserine bağlı ağrı olabilir fakat bu durum her hastada görülmeyebilir (Mirshahidi ve Abraham, 2009). İnflamatuvar meme kanserlerinde semptomlar genelde aniden ortaya çıkmaktadır. Kanser hücreleri meme içerisindeki küçük lenf kanallarını bloke eder. Bunun sonucunda memede kızarıklık, şişlik, sıcaklık hissi, deride kalınlaşma ve sertleşme meydana gelir (Cedolini ve ark, 2014).

Meme'de görülen paget hastalığı aerola ve çevresinde meydana gelen, invaziv meme kanseri ya da intraduktal karsinoma *in situ* adı verilen nadir bir meme kanseri türüdür. Meme kanserlerinin yaklaşık %1'ini oluşturur (Özbaş ve ark, 2012). Meme başı ve aerolada kırmızı görünüm, yanma, kaşıntı hissi, ülserasyon ve kanama gibi belirtiler görülür. Kesin tanı biyopsi ile konulur. Bu alt türe ait prognozun diğer duktal ve lobuler tümörlere oranla daha iyi olduğu bildirilmiştir (Mirshahidi ve Abraham, 2009).

## **2.5. Meme Kanserlerinde Tanı ve Evreleme**

Meme dokusunda en sık kansere rastlanan bölge fazla miktarda meme dokusu içermesi münasebetiyle üst dış kadrandır. Meme tümörlerinin yaklaşık yarısı bu bölgede meydana gelir. Diğerleri sırası ile meme ucu çevresinde %18, üst iç bölümde %15, alt dış bölümde %11 ve alt iç bölümde %6 oranındadır (Özbaş ve ark, 2012). Diğer pek çok tümör tipinde olduğu gibi meme tümörlerinde de boyutların küçük ve kolay tedavi edilebildiği dönemlerde genellikle

herhangi bir belirti görülmez. Meme kanseri hissedilebilir derecede büyüdüğünde ise en sık görülen belirti genellikle ağrısız şişliktir. Sık görülebilen diğer belirti bulgular; meme başı akıntısı, ağrı, memelerde asimetri, meme derisinde ödem ve ülserasyonlar, portakal kabuğu görünüm, meme başında retraksiyon, meme derisinde çukurlaşma, lenf nodullerinde büyüme ve üst kolda şişmedir (Mirshahidi ve Abraham, 2009).

Meme kanserinde erken tanı hastalığın tedavisinde son derece önemlidir. Klinik meme muayenesi ve mamografi meme kanserinin en sık kullanılan erken tanı yöntemlerindedir (Oktay, 2012). Yüksek riskli bireylerde manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bazı durumlarda (yoğun meme dokulu bireylerde) ultrasonografi (USG) erken tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır (Tunacı, 2012). Hastalığın tanısının ve alt türünün belirlenmesinde bu yöntemlerin yanında şüpheli kitlelerde kesin tanıyı saptamak için biyopsi de kullanılmaktadır. Meme cerrahisinde kullanılan biyopsi çeşitleri; perkütan biyopsi, kor (kesici iğne) biyopsisi, vakum destekli kor biyopsi ve cerrahi biyopsidir (Aksaz, 2012).

Tedavide erken tanı kadar hastalığın bulunduğu doğru evrenin saptanması da son derece önem arz etmektedir. Evrenin belirlenmesi kanser tanısı alan bir hastada izlenecek yolu belirleyen ana ölçütlerden birisidir. Evreleme; her bir kanser evresi için en uygun tedavinin belirlenmesine, farklı tedavi şekilleri arasında kıyaslama yapmaya ve prognoz tahmin edilmesine olanak tanır (Ejlertsen, 2016).

Eski Mısır yazıtlarında bulunan bilgilerden M.Ö. 1600'lü yıllarda meme kanserlerinin yalnızca ameliyat edilebilir ve ameliyat edilemez şeklinde sınıflandırıldığı anlaşılmaktadır. 20. yüzyılın başlarına kadar tüm dünyada kabul gören bu sınıflandırma 20. yüzyıldan itibaren hekimlerin tüm meme kanserlerinin aynı prognoz ya da tedaviye sahip olmadığını fark etmesiyle değişmeye başlamıştır. 1904 yılında Alman hekim Steinthal meme kanserlerini üç evreye ayırarak o tarihe kadar kabul gören anlayışın ilk defa yıkılmasını sağladı. Steinthal'ın sınıflandırmasına göre meme'de lokalize küçük tümörler 1. evre tümörleri, aksiller lenf nodu tutulumu olan büyük tümörler 2. evre tümörleri ve meme etrafındaki dokulara yayılımı olan tümörlerde 3. evre tümörleri oluşturmaktadır (Singletary ve Connolly, 2006). 1928 yılında Lee ve Stubenbord isimli araştırmacılar bu bilgilere ilaveten tümör büyüme hızını da içeren bir sınıflandırma yayımladılar. Bu sınıflandırma ile ilk kez her tümörün farklı biyolojik karaktere ve büyüme hızına sahip olabileceği fikri ortaya konulmuştur (Santillan ve ark, 2009). Bu tarihten 1980'li yıllara kadar farklı kurumlar ve araştırmacılar tarafından tümörlerin çeşitli

özelliklerine göre birçok kanser evreleme modeli sunulmuştur. Bu modeller içerisinde Uluslararası Kanserle Mücadele Birliğinin (UICC) 1958 yılında ve Amerikan Ortak Kanser Komitesinin (AJCC) 1977 yılında yayımladıkları evreleme modelleri arasındaki farklılıklar giderilerek 1987 yılında TNM evreleme sistemi adıyla ortak, tek tip bir evreleme sistemi yayımlanmıştır. TNM evreleme sistemi günümüzde dünyada en çok kullanılan evreleme sistemidir (Friese ve ark, 2009; Edge ve Compton, 2010). Tanımda yer alan “T” tümörün boyutunu, “N” tümör tutulumu olan lenf bezlerinin sayısını ve “M” ise tümörün çevre dokulara yayılıp yayılmadığını gösterir. Kanserlin evresini, tümörün boyu ve kanserlin yayılımını tanımlar. TNM evreleme sistemine göre meme kanseri 4 evreye ayrılmaktadır. Meme tümörlerinde TNM sistemi ile ilgili tanımlar Tablo 5’te, meme tümörlerinde TNM sınıflandırması ise Tablo 6’da sunulmuştur.

**Tablo 5.** UICC ve AJCC’ye göre meme kanserlerinin TNM sistemi tanımları.

---

**Primer Tümör (T)**

Tx: Primer tümör değerlendirilememesi.

T0: Primer tümör bulgusu yok.

Tis: Karsinoma *in situ* (Duktal Karsinoma İn Situ, Lobuler Karsinoma İn Situ, meme parankiminde eşlik eden invaziv karsinom ya da karsinoma *in situ* bulunmayan meme başının Paget hastalığı).

T1: Tümör çapı  $\leq 20$  mm

T2: Tümör çapı  $> 20$  mm ve  $\leq 50$  mm

T3: Tümör çapı  $> 50$  mm

T4: Boyutuna bakılmaksızın göğüs duvarına ve/veya cilde direkt uzanım gösteren tümör

**Lenf Nodu (N)**

Nx: Bölgesel lenf nodu değerlendirilemiyor.

N0: Bölgesel lenf nodu metastazı yok.

N1: Mobil ipsilateral seviye 1-2 aksiller lenf nodlarına metastaz

N2: Fikse ipsilateral seviye 1-2 aksiller lenf nodlarına metastaz veya klinik olarak aksiller lenf nodu metastazı bulgusu olmadan ipsilateral internal mamarian lenf nodlarına metastaz

N3: Seviye 1-2 aksiller lenf nodu metastazı olsun veya olmasın ipsilateral infraklaviküler lenf nodlarına metastaz

**Uzak Metastaz (M)**

M0: Klinik veya radyolojik olarak uzak metastaz bulgusu yok.

M1: Klasik klinik ve radyolojik bulgularla tespit edilmiş ve/veya histolojik olarak 0,2 mm’den büyük olduğu kanıtlanmış uzak metastaz

---



**Tablo 6.** UICC ve AJCC'ye göre meme kanserlerinde TNM evrelemesi

Evre	Tümör	Nod	Metastaz
0	Tis	N0	M0
1A	T1*	N0	M0
1B	T0	N1mikroinvazyon	M0
	T1*	N1 mikroinvazyon	M0
2A	T0	N1**	M0
	T1*	N1**	M0
2B	T2	N0	M0
	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
3A	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
3B	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
3C	Herhangi bir T	N3	M0
4	Herhangi bir T	Herhangi bir N	M1

\* T1mikroinvazyon dahil, \*\* Nodal mikrometastazlar ile birliktelik gösteren T0 ve T1 tümörler evre 2A'ya dahil edilmez ve evre 1B olarak sınıflandırılırlar.

## 2.6. Meme Kanseri Kemoterapisinde Kullanılan Antineoplastik Ajanlar

Kemoterapi, diğer kanserlerde olduğu gibi meme kanserinde de en sık başvurulan tedavi yöntemidir. Radyoterapi veya cerrahi tedaviden önce tümör çapını küçültmek ve hastanın tümöre bağlı şikayetlerini azaltmak için verilen tedaviye neoadjuvan tedavi adı verilir. Total ya da parsiyel cerrahi rezeksiyon sonrası mikrometastazları yok etmek için verilen tedavi ise adjuvan kemoterapi olarak adlandırılır (Redden ve Fuhrman, 2013). Adjuvan kemoterapide amaç tanı anında dolaşım sisteminde bulunan mikrometastazları bertaraf ederek, hastalığın tekrarlamasını engellemek ve sağ kalım süresini uzatmaktır. Belirli bir kemoterapi protokolü hem adjuvan hem de neoadjuvan tedavi amacıyla kullanılabilir. Hastalığın evresi, tümör büyüklüğü, hastanın yaşı ve komorbid faktörlerinin varlığı, aksillanın durumu, metastazlı lenf düğümü sayısı, hormon reseptörlerinin (estrojen ve progesteron) ve HER-2/neu onkogen ekspresyonunun saptanması, tümörün farklılaşma derecesi, Ki-67 skoru ve lenfovasküler invazyon varlığı tedavide ilaç seçimini belirleyen önemli risk faktörleri olarak kabul edilmektedir. Uygulamada genel kural olarak farklı mekanizmalarla etki eden, farklı rezistans

mekanizmalarına sahip, doz kısıtlayıcı toksisiteleri farklı olan birkaç ilaç kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Esposito ve ark, 2014). Adjuvan ve neoadjuvan meme kanseri kemoterapisinde kullanılan tedavi protokolleri Tablo 7’de sunulmuştur.

**Tablo 7.** Meme kanseri kemoterapisinde kullanılan protokoller (Mirshahidi ve Abraham, 2009).

Tedavi	İlaçlar	Uygulama	Siklus Sayısı
<b>CMF</b>	Siklofosfamid 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 gün arayla, 8 kür
	Metotreksat 40 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	5 Fluorourasil 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>AC</b>	Doksorubisin 60 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 4 kür
	Siklofosfamid 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>TC</b>	Taxotere 75 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 4 kür
	Siklofosfamid 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>FAC</b>	Fluorourasil 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 6 kür
	Doksorubisin 50 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	Siklofosfamid 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>FEC</b>	Fluorourasil 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 6 kür
	Epirubisin 100 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	Siklofosfamid 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>TAC</b>	Dosetaksel 75 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 6 kür
	Doksorubisin 50 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	Siklofosfamid 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>EC</b>	Epirubisin 75 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 4 kür
	Siklofosfamid 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>AC →P</b>	Doksorubisin 60 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 4 kür (Yoğun dozda 14 günde bir)
	Siklofosfamid 600 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	ardından Paklitaksel 175 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
<b>FEC→D</b>	Fluorourasil 500 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 3 kür
	Epidoksorubisin 100 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	
	Siklofosfamid 500 mg/m <sup>2</sup>		
	ardından Dosetaksel 100 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir, 3 kür
	Eribulin 1.4 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1- 8 i.v.	21 günde bir
<b>*Tek</b>	Ixabepilone 40 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir
	Epirubisin 60-90 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir
<b>Ajanlı</b>	Doksorubisin 60-75 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir
	Sisplatin 75 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	21 günde bir
<b>Tedaviler</b>	Siklofosfamid 50 mg	Gün 1-21, p.o.	28 günde bir
	Paklitaksel 80 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	Haftada bir
	Gemsitabin 800-1200 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, 8, 15, i.v.	28 günde bir
	Vinorelbin 25 mg/m <sup>2</sup>	Gün 1, i.v.	Haftada bir

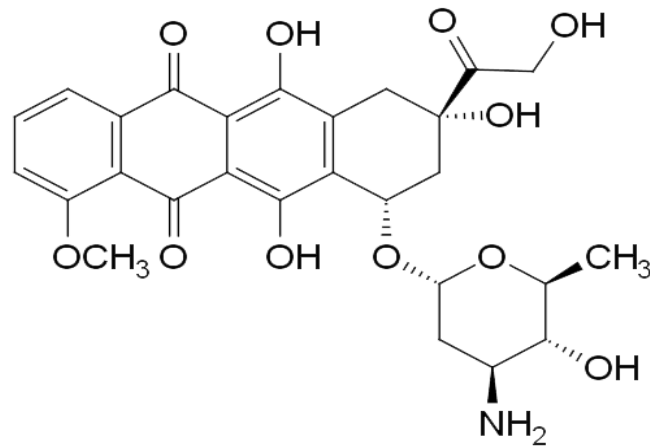
\*Diğer tüm protokoller adjuvan, neoadjuvan kemoterapide kullanılırken tek ajanlı tedaviler yalnızca nüks eden veya metastatik meme kanserlerinde progresyona kadar kullanılmaktadır.

## 2.7. Epirubisin ve Siklofosfamid Kombinasyon Tedavisi

Kanser tedavisinde genel kural olarak farklı mekanizmalarla etki gösteren, farklı rezistans mekanizmalarına sahip, doz kısıtlayıcı toksisiteleri farklı olan birden çok ilacın birlikte kombine olarak kullanıldığı önceki bölümlerde aktarılmıştı. Tablo 7’de görüldüğü üzere gerek adjuvan gerekse neoadjuvan meme tümörlerinin kemoterapisinde epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon halinde 21 gün aralıklarla kullanıldığı gibi metastatik veya nüks etmiş olgularda progresyona kadar ayrı ayrı tek ajan olarak da uygulanmaktadırlar. Çalışmamızda epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon sağaltımında antioksidan etkili bir bileşik olan oleuropeinin etkileri araştırıldığından her iki antineoplastik ilacın da etkileri ve özelliklerinin irdelenmesinde fayda görülmüştür.

### 2.7.1. Epirubisinin Kullanımı ve Özellikleri

Antrasiklin türevi bir antineoplastik ajan olan epirubisin, doksorubisinin 4'-epimeri (4' epidokсорubisin) olup daunorubisinin yarı sentetik bir türevidir. Molekül ağırlığı 543.52 g/mol, kapalı formülü  $C_{27}H_{29}NO_{11}$ , açık formülünün IUPAC sistemine göre okunuşu (8S,10S)-10-((2R,4S,5R,6S)-4-Amino-5-hidroksi-6-metiltetrahidropiran-2-dihidroksi)-6,8,11-trihidroksi-8-(2-hidroksiasetil)-1-metoksi'dir. Epirubisinin kimyasal yapısı Şekil 1’de sunulmuştur.

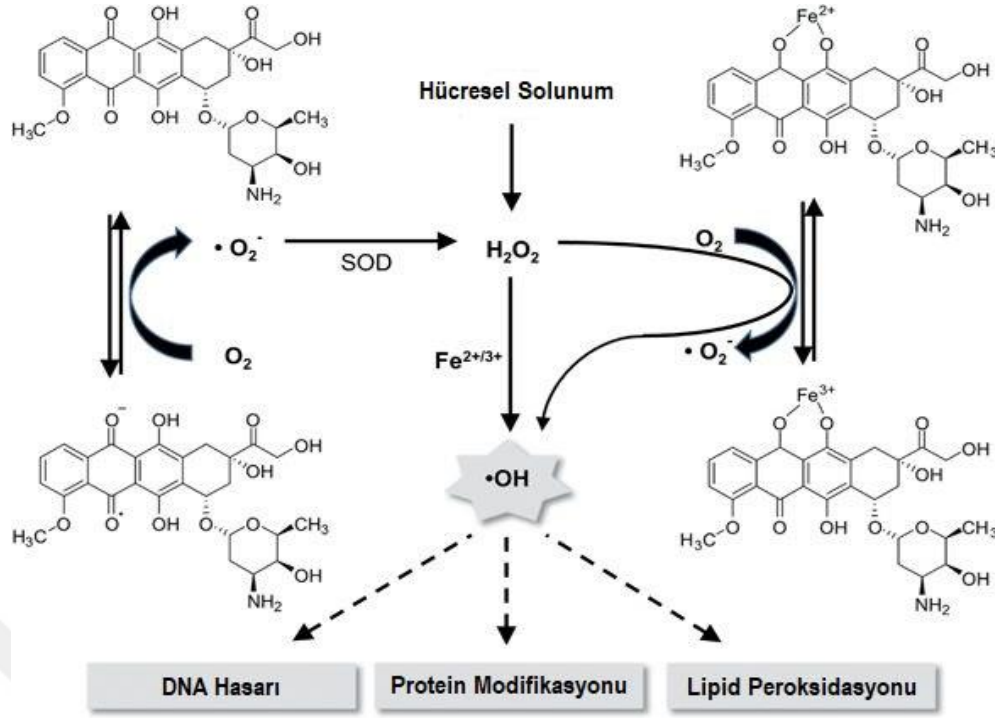


Şekil 1. Epirubisinin ( $C_{27}H_{29}NO_{11}$ ) kimyasal yapısı (Khasraw ve ark, 2012).

Epirubisin, dokсорubisin ile aktivite ve toksisite spektrumu bakımından benzer özelliklere sahiptir. Meme kanseri tedavisinde dokсорubisin-siklofosfamid-flurourasil ve

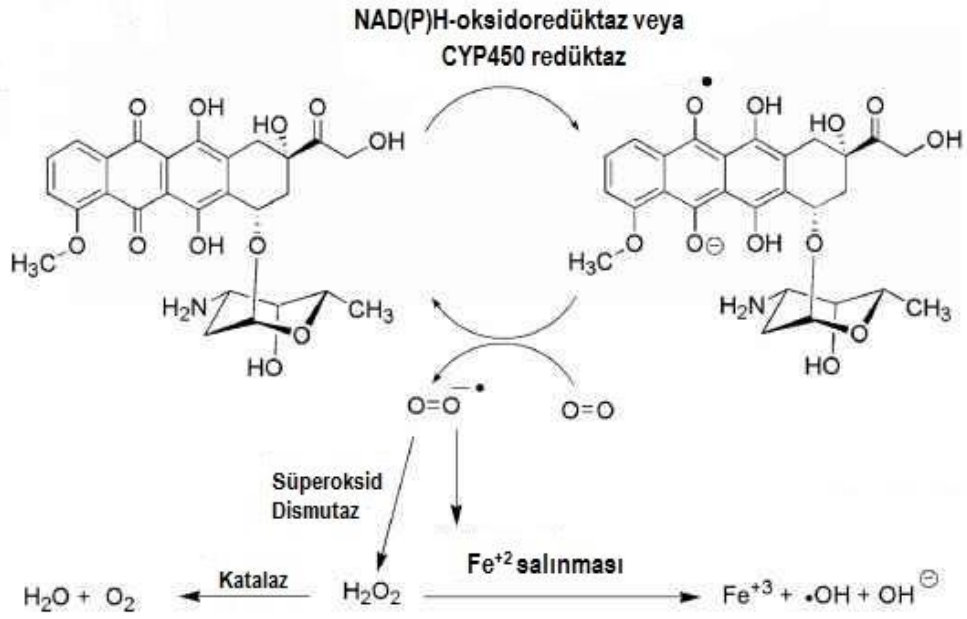
epirubisinin-siklofosfamid-flurourasil kombinasyonlarını karşılaştıran iki ayrı faz III çalışmasında, epirubisin ile tedavi edilen hastaların doksorubisinle tedavi edilenler ile benzer yanıt ve hayatta kalma oranlarına sahip oldukları gösterilmiştir (Khasraw ve ark, 2012). Epirubisin, meme kanseri dışında hodgkin hastalığı, akciğer kanseri, non hodgkin lenfoma, malign lenfoma, mesane kanseri, mide kanseri, multipl myelom ve over kanserlerinin tedavisinde de kullanılan bir ilaçtır. Epirubisin küçük ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, Non-Hodgkin lenfoma, gastrik kanser, over kanseri ve hepatoselüler karsinomda doksorubisinle benzer yanıt oranlarına sahiptir. Doksorubisin ve epirubisinin etki spektrumları benzer olmakla birlikte, toksisiteleri birbirinden farklılık göstermektedir. Epirubisin doksorubisine göre daha az miyelotoksiktir ve daha düşük kardiyotoksikite insidansına sahiptir (Jamieson ve ark, 2014).

Epirubisinin göstermiş olduğu antineoplastik aktivite hücre döngüsünün sadece belirli bir aşamasına özgül değildir. Epirubisin, DNA baz çiftleri arasında interkalasyonla DNA ile kompleks oluşturarak heliks şeklindeki yapının değişmesine neden olur. DNA konformasyonunda meydana gelen bu değişiklik, *DNA polimerazın* inhibe olması sebebiyle DNA zincirinin uzamasını etkileyebilir ve *RNA polimerazın* da baskılanması nedeniyle protein sentezi inhibe edilir. Epirubisin ayrıca bakır ve demir iyonlarıyla bağlanarak kompleks oluşturabilir. Yüksek bağlanma gücüne sahip bu komplekslerin mitokondri ve membran hasarına neden olan redoks döngüsündeki değişimler nedeniyle, epirubisinin kardiyotoksik etkiler oluşturmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Danesi ve ark, 2012). Diğer taraftan epirubisin, transkripsiyon aşamasında *topoizomerez II* enzimini etkileyerek başlangıçtaki enzim-DNA kompleksinin stabilizasyonuna ve çift zincir kırıklarına neden olabilir. Epirubisin tek elektron ile indirgenerek serbest oksijen radikalleri de oluşturabilir. Epirubisin,  $Fe^{+2}$  ve oksijen gibi katalizörler varlığında indirgenerek semikuinon radikali oluşturur. Oksijen varlığında semikuinon radikali, daha sonra hidrojen peroksid ( $H_2O_2$ ) varlığında hidroksil radikaline dönüşebilen süperoksid anyonlarının oluşmasına neden olabilir. Bahsedilen sürecin şematize sunumu Şekil 2’de gösterilmiştir. Epirubisinin oluşturduğu serbest radikaller DNA zincirinin ayrılmasına, membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve tiol gruplarının, pürin/pirimidin bazları ile aminlerin direkt oksidasyonuna neden olabilir (Khasraw ve ark, 2012).



**Şekil 2.** Epirubisin semikuinon radikali ve etkileri (Danesi ve ark, 2002).

Epirubisin ile indüklenen serbest radikal oluşumu ilacın kardiyotoksik etkilerinde rol oynar. Epirubisin kalp hücrelerinde indirgenerek bir antrasiklin serbest radikaline dönüşür. Normalde, süperoksit radikalleri *glutasyon peroksidaz* ile oksijene geri dönüştürülür. Ancak, kalpte *glutasyon peroksidaz* enzimi esansiyel olarak bulunmadığından epirubisin uygulaması, kalp hücrelerinde mevcut *glutasyon peroksidaz* aktivitesini de yok eder. Sonuçta, ortamdaki  $H_2O_2$ , demir iyonlarıyla ( $Fe^{+2}$ ) reaksiyona girmek durumunda kalarak, şiddetli lipid peroksidasyonuna ve yaygın mitokondrial yıkıma neden olan yüksek derecede toksik süperhidroksit radikalini oluşturur (Danesi ve ark, 2002). Epirubisinin serbest radikal oluşturma süreci ve enzimatik oksidasyonuna ait şema Şekil 3'te sunulmuştur. Kalp hücreleri ve malign hücreler mitokondri açısından zengin hücrelerdir. Ayrıca, serbest radikaller, kalsiyum kanallarındaki sülfhidril grupları ile çapraz bağlar yaparlar, kalsiyum-ATPaz'ı inhibe ederek sarkoplazmik retikulumdaki kalsiyum depolarının büyük oranda boşalmasını sağlarlar ve kalsiyum depolarının yeniden dolmasını da engellerler. Epirubisinin, doksorubisin ile karşılaştırıldığında klinik olarak daha düşük düzeyde kardiyotoksik etki göstermesinin nedeni, yüksek olasılıkla epirubisinin glukuronik asit ile konjuge olması ve vücuttan daha hızlı bir şekilde uzaklaştırılmasıdır (Khasraw ve ark, 2012).



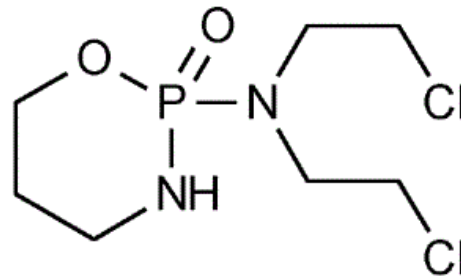
**Şekil 3.** Epirubisinin serbest radikal oluşturma süreci ve enzimatik oksidasyonu (Danesi ve ark, 2002).

Epirubisin i.v. olarak uygulanan bir ilaçtır ve uygulamayı takiben dokulara geniş bir şekilde dağılır. Epirubisin kan proteinlerine, özellikle de albumine, %77 oranında bağlanır. Vücuttan itrahi karaciğer ve böbrek fonksiyonları normal olan bireylerde, ilacın i.v. verilışinden sonraki plazma seviyeleri, yaklaşık 40 saatlik ortalama yarı ömürle eksponansiyel düşüş modeli gösterir (Saji ve ark, 2007). Epirubisin, karaciğer ve kırmızı kan hücreleri de dahil olmak üzere birçok doku tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilir. Metabolizasyon temelde dört yolak ile gerçekleşir: İlk olarak C-13 keto grubu indirgenir ve epirubisinol (epirubisin'in 13(S)-dihidro türevi) oluşur. Ardından epirubisinolün ve değişmemiş ilacın glukuronik asit ile konjugasyonu gerçekleşir. Daha sonra hidrolizle amino şeker grubunun uzaklaştırılması ve aglikonların oluşması meydana gelir. Son aşamada ise şeker grubu bir redoks reaksiyonu ile uzaklaştırılır ve 7-deoksi-doksorubisin aglikonunu oluşur (Danesi ve ark, 2002). Epirubisinol, epirubisinin sitotoksik aktivitesinin %10'una sahip olduğundan, epirubisinin genel sitotoksik aktivitesinde önemli bir artış yapmaz. Epirubisinol ve epirubisinin glukuronit metabolitleri inaktiftirler, ancak glukuronit metabolizması epirubisinin serbest radikal oluşturma özelliğinin değişmesine neden olarak kardiyotoksik etkilerinin azalmasını sağlayabilir. İlacın diğer metabolitlerinin bilinen herhangi bir aktivitesi bulunmamaktadır. Epirubisin ve ana metabolitleri büyük oranda safra, daha düşük miktarda ise idrarla itrah edilirler. Epirubisinin

metabolizması ve itrahi karaciğer bozuklukları olan hastalarda azalmaktadır. İlacın vücuttan uzaklaştırılması *aspartat aminotransferaz* (AST) enzimi yüksek olan hastalarda %30, AST ve bilirubini yüksek olan hastalarda ise %50 oranında azalmaktadır. Kadınlarda yaş arttıkça epirubisinin vücuttan uzaklaştırılma hızı da azalmaktadır. Karaciğer ya da böbrek bozukluğu olan hastalarda epirubisinin dozu ayarlanmalıdır (Lindman ve ark, 2007).

### 2.7.2. Siklofosfamidin Kullanımı ve Özellikleri

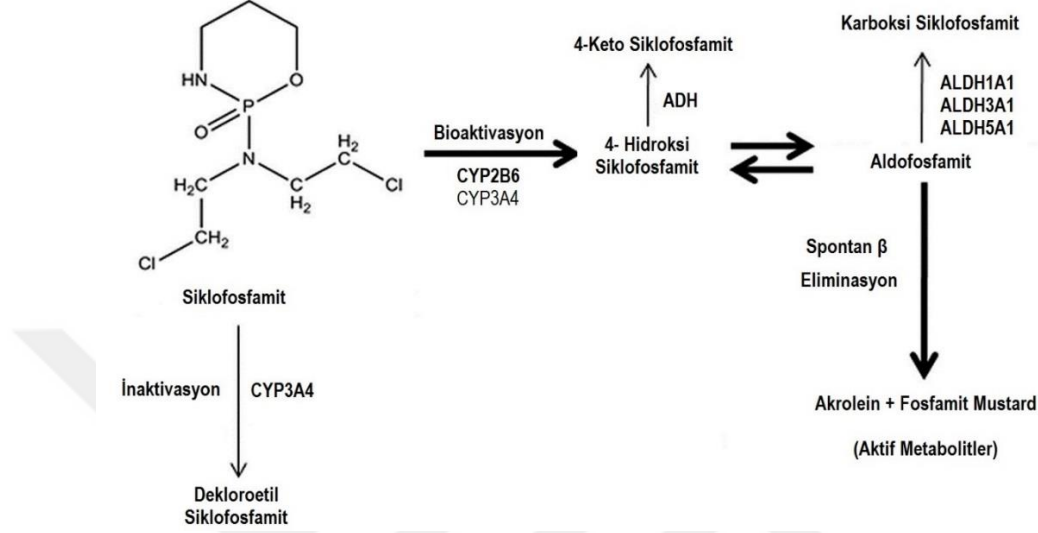
Siklofosfamid döneme özgü olmayan bir antineoplastik ilaçtır. İmmünoşüpresif etkili, oda sıcaklığında beyaz veya beyaza yakın renkte kristalize halde toz halde bir bileşiktir. Erime derecesi 45-53°C arasındadır. Molekül ağırlığı 279.10 g/mol, kapalı formülü  $C_7H_{15}N_2O_2P$ , açık formülünün IUPAC sistemine göre açılımı (RS)-2-[Bis(2-kloretil)amino]-2H-1,3,2-oksazafosfinan-2-oksit'dir. Siklofosfamide ait kimyasal yapı Şekil 4'te verilmiştir. Siklofosfamid, meme kanseri dışında akut lenfositik lösemi, hodgkin hastalığı, akciğer kanseri, non-hodgkin lenfoma, over kanseri, multipl miyelom, sarkoma, kronik lenfositik lösemi, mikozis fungoides, nöroblastoma ve retinoblastoma gibi malignitelerin tedavisinde de kullanılan alkilleyici bir ajandır. Etki mekanizması busulfan, melfalan, klorambusil, mekloremin, tiyotepa ve ifosfamid gibi diğer alkilleyici ajanlarla benzerlik gösterir (Emadi ve ark, 2009).



**Şekil 4.** Siklofosfamidin ( $C_7H_{15}N_2O_2P$ ) kimyasal yapısı (Emadi ve ark, 2009).

Siklofosfamid bir ön ilaçtır ve sitotoksik etkisini gösterebilmesi için sitokrom P450 enzim sistemi ile aktive edilmesi gerekir. Hepatik mikrozomal sistem, siklofosfamidi aldofosfamid ve 4-hidroksisiklofosfamide dönüştürür. Bu metabolitler de DNA'nın güçlü alkilleyicisi olan akrolein ve fosforamid mustarda (fosforamid hardalı) dönüşerek etki gösterir. Antineoplastik etki akrolein ve fosforamid mustardın DNA molekülüne kovalent olarak

bağlanması sonucu ortaya çıkar. Siklofosfamid, DNA molekülü ile çapraz bağlanarak DNA sentez sürecinin durmasına ve dolayısı ile hücre ölümüne neden olur (Wang ve ark, 2013). Siklofosfamidin biyotransformasyon ile aktif ve inaktif metabolitlerine dönüşmesine ilişkin yollar Şekil 5’te sunulmuştur.



**Şekil 5.** Siklofosfamidin biyotransformasyon ile metabolitlerine dönüşümü (Wang ve ark, 2013).

Siklofosfamid oral yolla 100 mg ve daha düşük dozlarda verildiğinde hemen hemen tamamıyla absorbe olur. 300 mg veya daha yüksek dozlarla verildiğinde ise biyoyararlanımı %75 civarındadır. Siklofosfamidin aktif metabolitleri vücuda yaygın şekilde dağılır. Ancak, ilaç serebrospinal sıvıda meningeal lösemiye tedavi etmeye olanak sağlayacak derecede yüksek konsantrasyonlara ulaşamaz (Emadi ve ark, 2009). Siklofosfamid anne sütüne yüksek oranda geçer. Gebelik süresince siklofosfamid kullanımı D kategorisinde sınıflandırılmıştır. Amniyotik sıvıda plazma konsantrasyonlarının %25'i düzeyine ulaşır. Plazma proteinlerine çok düşük oranda bağlanır (Saji ve ark, 2007). Ana ilaç, karaciğerdeki CYP450 enzim sistemi tarafından aktif ve inaktif metabolitlerine çevrilir. Siklofosfamidin klirensi vücut ağırlığıyla zıt yönde ilişkilidir. Verilen ilaç dozunun yaklaşık %15'i idrarda değişmemiş ilaç olarak atılır. Değişmemiş ilaç ve metabolitlerinin ana itrah yolu da böbreklerdir (Wang ve ark, 2013).



## **2.8. Epirubisin ve Siklofosfamid Kombinasyon Tedavisine Bağlı Yan Etkiler**

Epirubisin kullanımına bağlı olarak bozulan hematopoetik sistem ile ilgili nütropeni ve trombositopeni; ayrıca gastrointestinal sistem ile ilgili bulantı, kusma, ishal ve kabızlık gibi şikayetler en belirgin yan etkilerdir. Epirubisin özellikle meme kanseri kemoterapisinde olduğu gibi belli aralıklarla tekrarlayan kullanımında en yaygın görülen yan etkiler miyelosupresyon, granülositopeni, lökositopeni, trombositopeni, nütropeni, enfeksiyon, anemi, hemoraji ve intravesikal uygulama sonrası alerjik reaksiyonlardır (Emadi ve ark, 2009).

Siklofosfamid tedavisinde enfeksiyonlar, miyelosüpresyon, hemolitik üremik sendrom, immün supresyon, karaciğer fonksiyon bozuklukları, alopesi, sistit, mikrohematuri, makrohematüri, spermatogenezde bozukluk, ateş, asteni ve mukozal enflamasyonlar en sık görülen yan etkilerdir (Lindman ve ark, 2007). Epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon tedavisine bağlı olarak her ilaca ait tüm yan etkiler doza ve hastaya göre değişen oranlarda görülmektedir. Diğer taraftan kombine kullanımda her iki ilacın da ortak yan etkileri olan miyelosupresyon, immünosupresyon, enfeksiyonlar ve nütropeni hasta yaşam kalitesini düşüren, bir sonraki kemoterapi kürünün ertelenmesine dolayısı ile kanser tedavisinin sekteye uğramasına neden olan ve önlem alınmazsa hastanın yaşamını tehdit eden ciddi yan etkilerdir (Hansson ve ark, 2010).

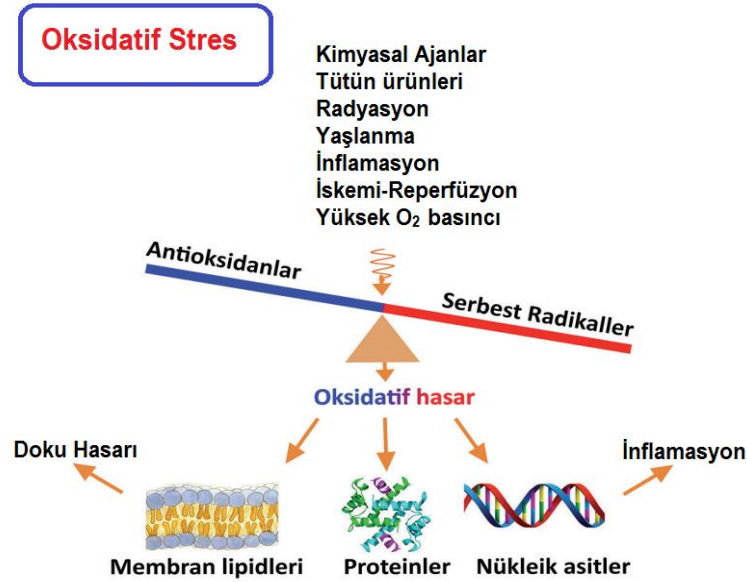
## **2.9. Kemoterapiye Bağlı Yan Etkilerin Tedavisinde Mevcut Uygulamalar**

İştahsızlık, tat ve koku değişiklikleri, bulantı, kusma, mukozit, diyare, konstipasyon, yorgunluk ve halsizlik kemoterapi almakta olan kanserli hastalarda en sık görülen ortak yan etkilerdir (Arslan ve ark, 2006). Kontrol altına alınamayan yan etkiler tedaviye uyumu güçleştirmekte ve yaşam kalitesini bozmaktadır. Yan etki yönetiminde muhtelemen elde kullanılabilecek fazla bir seçenek olmadığı için daha ziyade semptomatik tedaviler uygulanmaktadır. Bulantıya karşı antiemetikler, ağız yaralarına karşı antiseptik gargaralar, diyare veya konstipasyon durumlarına karşı antidiyareikler, laksatifler ve beslenme önerileri; kemik iliği baskılanması nedeniyle gelişen halsizlik ve bitkinliğe karşı immünostimülan etkili filgrastim gibi koloni stimüle ediciler, sıvı replasmanı ve vitamin takviyesi uygulamaları bunlara örnek olarak gösterilebilir (Blum ve ark, 2014).

Bazı antioksidan bileşiklerin belli kanser türlerinin tedavisinde yapılan *in vitro* ve hayvan deneyi çalışmalarında belli kısmi faydalar sağladığı gösterilmiş olmasına rağmen günümüzde rutin uygulama şemasına giren bir uygulama bulunmamaktadır. Ancak, yan etkilerin şiddeti ve hastalığın mortalite oranının yüksek oluşu hastaları çoğu zaman hekimlerinin bilgisi dışında bu tür ürünlere yönelmelerine neden olmaktadır (Ebel ve ark, 2015). Bilimsel çalışmaların sonuçlarına göre antioksidanların kanser tedavisinde fayda sağlayıp sağlamadığı konusunda çelişkili sonuçlar bulunmakta ve tartışmalar devam etmektedir (Rosignoli ve ark, 2016; Losada-Echeberría ve ark, 2017; Chikara ve ark, 2018).

## 2.10. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Serbest radikaller en dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron içeren bileşiklerdir. Canlılarda serbest radikaller ile bu bileşiklerin etkilerini nötralize eden antioksidanlar arasındaki denge oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikallerin antioksidan sistemlerle dengesinin bozulması sonucu gelişen oksidatif stresin nedenleri ve sonuçları Şekil 6'da özet halinde sunulmuştur.



Şekil 6. Serbest radikal ve antioksidan dengesinin bozulması ve sonuçları (Özcan ve ark, 2017).

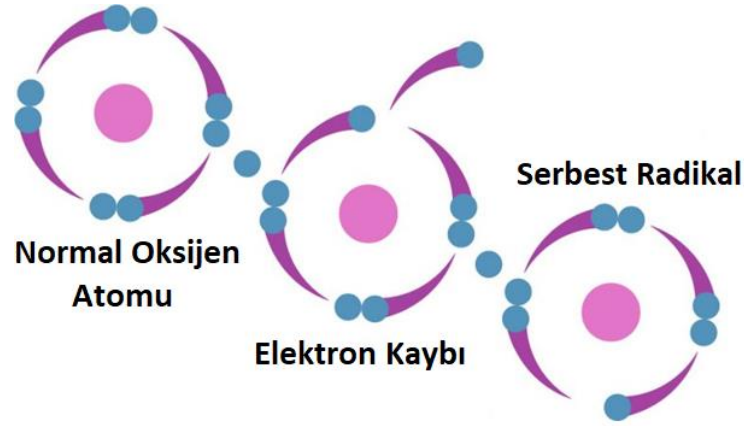
Reaktif oksijen bileşikleri yüksek enerjiye sahip moleküller olup hücre organellerinde gerçekleşen metabolizma faaliyetleri sonucunda veya radyasyon, yaşlanma, iskem-reperfüzyon, yüksek oksijen basıncı, tütün ürünleri kullanımı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara

maruz kalma gibi sebeplere bağılı olarak üretilirler. Oksidatif stres, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, inflamatuvar bozukluklar ve kanser gibi pekçok hastalığın gelişmesinde rol oynamaktadır (Kelly, 2003). Reaktif oksijen türleri ve yapıları Tablo 8’de sunulmuştur.

**Tablo 8.** Bazı reaktif oksijen bileşikleri (ROB)

Radikal ROB’lar	Radikal Olmayanlar ROB’lar
Süperoksit anyon radikali ( $O_2^- \bullet$ )	Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )
Hidroksil radikali ( $OH \bullet$ )	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Peroksil radikali ( $RO_2 \bullet$ )	Hipohalöz asit (HOX)
Alkoksil radikali ( $RO \bullet$ )	N- Halojenli aminler (R-NH-X)
Semikinon radikali ( $HQ \bullet$ )	Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )
Organik radikaller ( $R \bullet$ )	Ozon ( $O_3$ )
Nitrik oksit radikali ( $NO \bullet$ )	Azot Dioksit ( $NO_2$ )
Organik peroksit radikali ( $^1O_2$ )	Hipokloröz asit (HOCl)
Hemoproteinlere bağılı radikaller	Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )

Serbest radikaller yüksek enerjili ve kısa ömürlüdürler. Fizyolojik metabolizma işlevleri sırasında veya patolojik olaylar sonucu meydana gelebilmektedirler (Costa ve ark, 2014). Serbest radikallerin temelde 3 şekilde meydana geldiği düşünülmektedir. Bunlardan ilki  $X:Y \rightarrow X \bullet + Y \bullet$  denklemi ile şematize edildiği gibi kovalent bağılı normal bir molekülün, her bir elementinde ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesi; ikincisi  $X-e^- \rightarrow X \bullet + e^-$  denklemi gibi nötr bir molekülün bir elektron kaybına uğraması ve son olarak  $X + e^- \rightarrow X \bullet$  denklemi ile gösterildiği gibi normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesidir. Serbest radikal oluşumu ile ilgili görsel Şekil 7’de sunulmuştur. Meydana gelen bu serbest radikallerin membran lipidlerine, proteinlere ve nükleik asitlerle etkileşerek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonlarını bozduğu ve hücrel hasara neden olduğu bilinmektedir (Kelly, 2003).



**Şekil 7.** Serbest oksijen radikalinin oluşumu (Kelly, 2003 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).

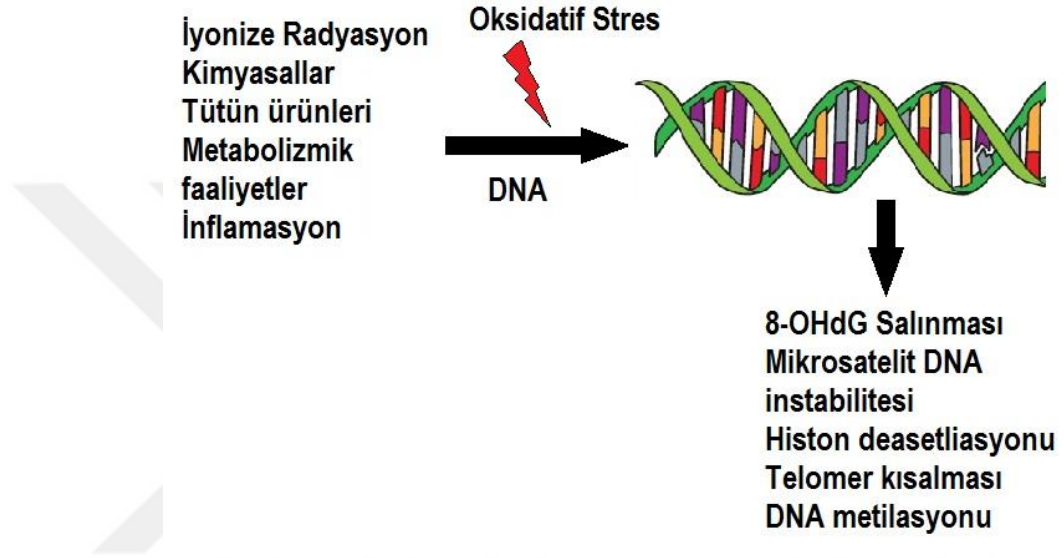
Atmosferde bulunan oksijen, moleküler oksijen ( $O_2$ ) şeklindedir. Oksijenin bir kısmı hücre içersindeki metabolizmik olaylar sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerini oluştururlar (Costa ve ark, 2014). Başlıca reaktif oksijen türleri hidrosil radikali ( $OH\bullet$ ), süperoksit radikali ( $O_2\cdot^-$ ) ve  $H_2O_2$  'dir. Süperoksit radikalleri aerobik hücrelerde moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşurlar. Özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında ve bir flavoenzim olan *ksantin oksidaz* gibi enzimlerce endojen olarak oluşurlar. Bunlara ilave olarak indirgenmiş geçiş metallere oksidasyonu da süperoksit radikali meydana getirebilir (Kelly, 2003).

$H_2O_2$ , serbest radikal olmadığı halde ROB kapsamına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Hücresel kompartmanlarda bulunan glikoz oksidaz, ürat oksidaz ve *D-aminoasit oksidaz* gibi birçok enzim tarafından iki elektronun oksijene transferi ile doğrudan  $H_2O_2$  oluşturulur.  $H_2O_2$ , süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözünebildiği için oluştuğu yerden uzakta olan ve  $Fe^{+2}$  içeren hücre membranında da hasar yaratabilir (Rigoulet ve ark, 2011).

Metabolizma reaksiyonları sırasında  $H_2O_2$ 'den oluşan  $OH\bullet$ , çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluşturur (Kelly, 2003). ROB'ların hücre içi konsantrasyonlarının yukarıda anılan sebepler sonucu artması veya vücuttaki antioksidanların herhangi bir sebeple azalması sonucu denge bozulur ve hücresel hasar oluşur (Kelly, 2003).

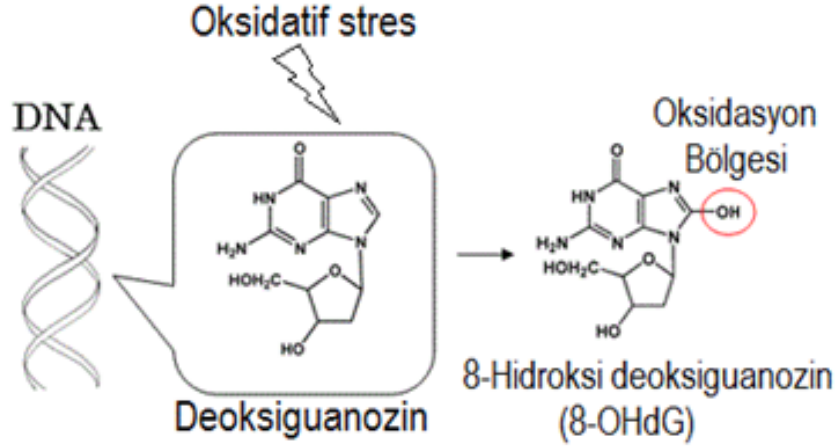
## 2.11. Oksidatif Stresin DNA Üzerine Etkileri

Oksidatif stres kaynaklı hasar sonucu DNA'da en sık görülen lezyon tek sarmal kırıklarıdır. Ardından baz çifti mutasyonları, dizi amplifikasyonu, baz katılımı ve delesyon gibi yapısal değişiklikler meydana gelir (Pylvas ve ark, 2009). DNA düzeyinde meydana gelen oksidatif stres kaynaklı değişimler Şekil 8'de özet halinde sunulmuştur.



**Şekil 8.** DNA'da meydana gelen oksidatif stres kaynaklı değişiklikler (Pylvas ve ark, 2009 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).

$\text{OH}\cdot$ , lipid ve proteinlerde olduğu gibi DNA bazlarındaki çift bağlara da bir proton vererek DNA molekülü ile reaksiyona girer (Breen ve Murphy, 1995). Bu reaksiyon sonucunda timin peroksil radikalleri indirgenir ve timin glikol, hidroksihidroperoksit, 5-hidroksimetilurasil, 5 -hidroksi 5-metilhidantoin ve 5-formilurasil gibi çeşitli oksidasyon ürünlerine dönüşürler. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin guaninin timin, adenin ve sitozine kıyasla oksidasyona daha yatkın olması nedeniyle en fazla karşılaşılan DNA baz mutasyon tipidir. Bu mutasyon  $\text{OH}\cdot$  radikalinin, guanin molekülünün 8. pozisyonu ile etkileşerek oksidasyona neden olması neticesinde gerçekleşir (Şekil 9). DNA hasarının en önemli patolojik sonucu olan kanser hastalığında oksidatif hasarın karsinogenezisin başlangıcında, maligniteye dönüşme safhasında ve diğer dokulara yayılma hızı üzerinde önemli bir rol sahibi olduğu düşünülmektedir.



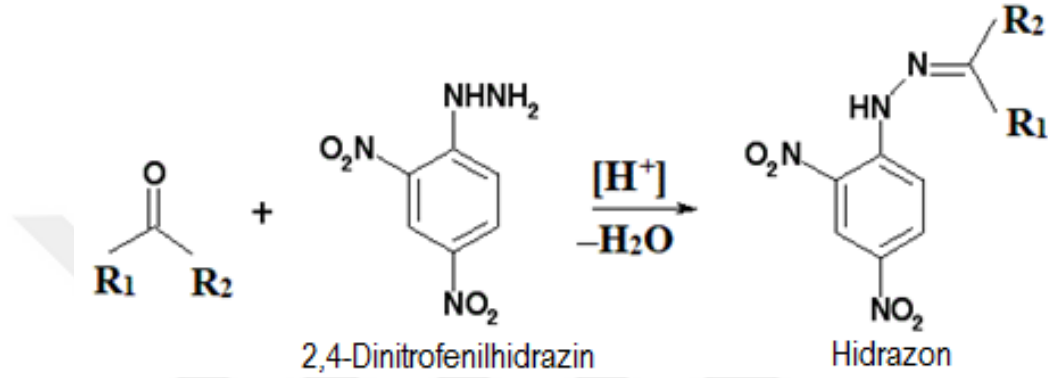
**Şekil 9.** Oksidatif stres kaynaklı 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin oluşumu (Breen ve Murphy, 1995 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).

Plazma ve idrarda yükselmiş 8-hidroksiguanozin düzeyleri DNA yapısındaki oksidatif stresin biyokimyasal göstergesi olarak kabul edilmektedir (Helbock ve ark, 1999). Reaktif radikallerin DNA'da yarattığı hasar sonucu meydana gelen ürünlerin tayininde çeşitli kromatografik yöntemler, spektrofotometrik analizler, comet yöntemi ve bir immünoassay yöntemi olan ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) metodu yaygın olarak kullanılmaktadır (Pylvas ve ark, 2009).

## 2.12. Oksidatif Stresin Proteinler Üzerine Etkileri

Başta hidroksil radikali olmak üzere ROB; hidrojen çıkarılması, elektron transferi, elektron eklenmesi, dimerizasyon, dismutasyon ve substitusyon tepkimeleri gibi çeşitli reaksiyonlarla hücre içi protein yapılar üzerinde oksidatif hasara yol açarlar. Proteinlerde yapısal hasara neden olan başlıca moleküler mekanizmalar nitrotirozin ve ileri oksidasyon protein ürünlerinin oluşumu, protein-tiyol gruplarının kaybı ve metal katalizli protein oksidasyonu olarak sıralanabilir (Federova ve ark, 2014). Protein-karbonil yapısı aynı zamanda glutamil yan zincirlerin oksidasyonu ve  $\alpha$ -amidasyon yolağı sonucunda proteinlerin parçalanması ile de ortaya çıkar. Ayrıca protein yan zincirleri üzerindeki aminoasit kalıntılarının peroksidasyonu sonucu oluşan 4-Hidroksinonenal (HNE) ve MDA gibi aldehidler ve proteinlerin lizin rezidülerinin oksidasyon ürünleri ile sekonder reaksiyona uğramaları sonucunda protein yapısı üzerinde karbonil grupları oluşabilir. Bu değişiklikler alzheimer,

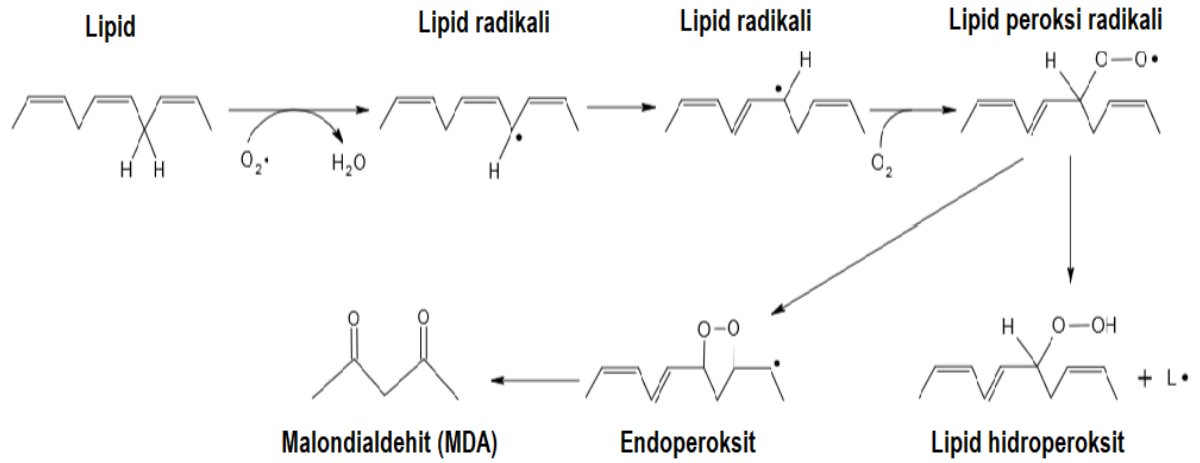
parkinson, kanser, kistik fibrozis, katarakt, kronik böbrek yetmezliği, iskemi ve reperfüzyon hasarı, romatoid artrit, sepsis ve diyabet gibi birçok hastalıktan sorumludur (Kalousova ve ark, 2002). Oksidatif stres ile doğru orantılı olarak oluşan protein-karbonil deriveleri oksidatif stresin ölçülmesinde sık başvurulan bir belirteçtir. İlgili reaksiyon şeması Şekil 10'da sunulmuştur. Son ürün, ELİSA, Western Blot ve spektrofotometrik yöntemlerle ölçülebilir (Federova ve ark, 2014).



**Şekil 10.** 2, 4-dinitrofenilhidrazinin oksidasyonu ile dinitrofenol oluşumu (Kalousova ve ark, 2002 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).

### 2.13. Oksidatif Stresin Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkileri

Reaktif oksijen türleri hücre membranlarında bulunan çoklu doymamış (poliansature) yağ asitlerinde oksidasyona yol açarak peroksidasyon sürecini başlatırlar. Metilen grubundan bir elektron kopması sonucunda karbon üzerinde eşleşmemiş bir elektron kalır. Yağ asidi üzerinde bulunan çift bağın, kendisine komşu karbon atomu ile hidrojen arasındaki bağı zayıflatması nedeniyle (C-H) hidrojenin koparılması kolaylaşmış olur (Gupta ve ark, 2014). Bu aşamada yağ asidi konformasyonel olarak konjuge bir alken yapısı oluşturur. Bu yapı oksijenle bağ yaparak lipid peroksil radikalleri (LOO•) oluşturur. LOO• diğer yağ asitlerinden aynı şekilde birer hidrojen atomu kopararak zincirleme peroksidasyon reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Lipid peroksidasyon (LPO) reaksiyonları sonucunda oluşan lipid peroksit önce siklik peroksit ve siklik endoperoksit gibi kararsız ara ürünlere, daha sonra da sekonder ürünler olan malondialdehit (MDA), hekzenal ve HNE isimli aldehitlere dönüşür (Ray ve ark, 2012; Valko ve ark, 2014). Lipid molekülünün peroksidasyon süreci ve bozunma ürünleri Şekil 11'de sunulmuştur.

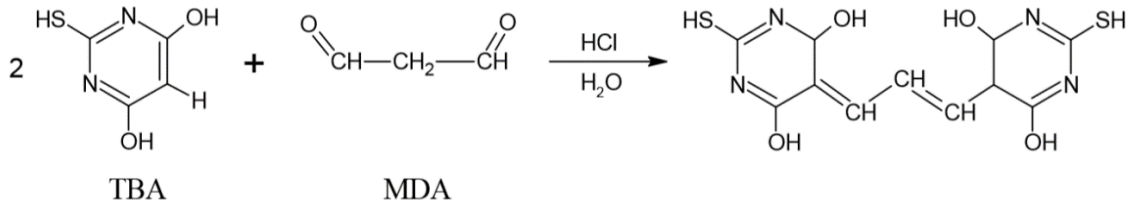


**Şekil 11.** Lipid peroksidasyonu ve bozunma ürünleri (Ray ve ark, 2012 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).

LPO'nun son safhasında oluşan en önemli ürün, çeşitli yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'dır. MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmalarına ve polimerizasyonuna sebep olur. Diğer taraftan deformabilite, enzim aktivitesi, hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu ve iyon transportu gibi membran özelliklerini de değiştirebilir. Bunların dışında MDA, DNA'nın azotlu bazları ile tepkimeye girmekte ve DNA zincirlerinde kopmalar meydana getirmektedir (Gupta ve ark, 2014). Ortamda antioksidan bulunmaması durumunda peroksil radikalleri birbirleriyle çapraz kovalent bağlar kurarak membran yapısının bozulmasına ve hasarlanmaya yatkın hale gelmesine neden olurlar (Ray ve ark, 2012).

MDA miktarı ile LPO derecesi pozitif bir korelasyon göstermektedir. Bu sebeple LPO düzeyinin belirlenmesi için MDA ölçümü sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Metod MDA ile tiyobarbitürik asitin (TBA) reaksiyona girerek pembe renk veren bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. Bu çözeltinin absorbans değerinden yararlanılarak LPO'nun derecesi tayin edilmektedir (Valko ve ark, 2014). TBA ve MDA reaksiyonu ve oluşan komplekse ait detaylar Şekil 12'de sunulmuştur.





**Şekil 12.** TBA ve MDA reaksiyonu (Valko ve ark, 2014).

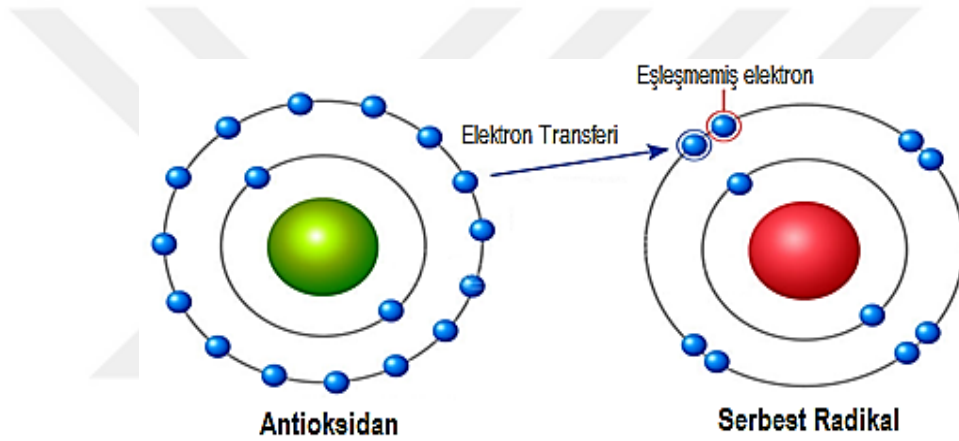
#### 2.14. Kemoterapiye Bağlı Yan Etkilerde Oksidatif Stresin Etkisi

Yapılan çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla birçok antineoplastik ajanın serbest radikaller oluşturmak suretiyle de antitümoral etkinlik gösterdikleri kanıtlanmıştır. Antineoplastik ilaçların  $\text{O}_2^- \cdot$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  üretimini *in vitro* ortamda tedavi öncesine göre belirgin derecede arttırdığı gösterilmiştir. Farklı çalışmalarda, kemoterapi sonucunda lipid peroksidasyonu ürünlerinin miktarının arttığı ve plazma antioksidan düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (Giorgio, 2015). Kemoterapi alan hastalarda, plazma LPO ve TBA konsantrasyonundaki artış da, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığını gösteren diğer bir kanıttır. Kemoterapi aracılığı ile oluşan ROB, yalnız tümör hücrelerinde değil, sağlıklı hücrelerin DNA, RNA, protein ve lipid gibi makromoleküllerinde de hasara neden olabildiği bildirilmiştir (Patra ve ark, 2012). Bu tür etkilerin en sık görülen örneklerinden biri olarak kemoterapi sonucu artan serbest radikal konsantrasyonu ile indüklenen oral mukozit verilebilir. Oral mukozit özellikle radyoterapi ile eş zamanlı yüksek doz kemoterapi alan bireylerde oldukça sık karşılaşılan istenmeyen etkilerden biridir (Saito ve ark, 2014).

Artan serbest radikal konsantrasyonu ve lipid peroksidasyon ürünlerinin, sekonder kanserlerin gelişmesinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Siklofosfamid'in ROB oluşturma yolu ile oksidatif stres seviyesini artırarak kemoterapinin en yıkıcı etkilerinden olan miyelosupresyona neden olduğu bildirilmiştir (Patra ve ark, 2012). Doksorubisinin de yine ROB seviyesini arttırarak genitoüriner ve kardiyovasküler sistemde toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir (Hajra ve ark, 2018).

## 2.15. Antioksidanlar

Antioksidanlar, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği hasarların detoksifikasyonunu sağlayarak hücrel hasarı engelleyebilen maddelerdir. İnsanlar ve hayvanlarda bulunan antioksidanlar ya endojen olarak üretilebileceği gibi bazıları diyetle ekzojen olarak alınmaktadır. Antioksidanlar, en dış yörüngelerindeki bir elektronu çeşitli metabolizma faaliyetleri sırasında vücutta oluşan serbest radikalın dış yörüngesindeki eşleşmemiş elektrona aktararak kararlı elektron çiftinin oluşmasını ve serbest radikalın nötralizasyonunu sağlarlar. Antioksidanlar bu serbest radikal süpürücü etkileri nedeniyle oksidatif hasar kaynaklı pek çok hastalığa karşı koruyucu etki gösterirler (Laukkanen, 2016). Antioksidan ve serbest radikal etkileşmesine ait görsel Şekil 13’de sunulmuştur.



**Şekil 13.** Antioksidanların elektron transferi ile serbest radikali nötralize etmesi (Laukkanen, 2016 kaynağından özetlenerek Türkçeye çevrilmiştir).

Antioksidanları kimyasal yapılarına, kaynaklarına, vücutta depolanma durumları gibi pek çok farklı bakımdan sınıflandırmak mümkündür. Diğer taraftan antioksidanların kaynaklarına göre incelenmesi en sık kullanılan sınıflandırmalardan birisidir (Karabulut ve Gülay, 2016). Bu nedenle ilerleyen bölümlerde antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olarak ayrı başlıklar altında irdelenmiştir.

### **2.15.1. Endojen Antioksidanlar**

Kendisi ya da öncül maddesi organizmada bulunan antioksidanlara endojen antioksidanlar denilmektedir. Bu gruba ait antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki ana başlık halinde sınıflandırılabilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

#### **2.15.1.1 Enzimatik antioksidanlar**

*Glutasyon redüktaz (GR), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT)* endojen enzimatik antioksidanlardır. SOD reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma noktasını oluşturur. SOD, ( $O_2^{\cdot-}$ 'yi,  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) katalizleyen enzimdir. Oluşan  $H_2O_2$  daha sonra, GPx ya da CAT enzimleri aracılığı ile ortamdan uzaklaştırılır (Karabulut ve Gülay, 2016). İnsanlarda SOD enziminin üç farklı formu bulunmaktadır. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren SOD (Cu/Zn SOD) sitozolde, mangan (Mn) taşıyan SOD (Mn SOD) mitokondride ve ekstraselüler SOD (ES SOD) ise hücre dışı sıvılarda bulunur. ES SOD, her bir alt ünitesinde bir Cu ve bir Zn atomu içerir. Bu durum yapı-etki ilişkisinde enzimatik aktivite için şarttır (Laukkanen, 2016). ES SOD, glia, fibroblast ve endotel hücreleri tarafından sentezlenirler. Ekstraselüler sıvı ile hücre yüzeyleri ES SOD'un öncelikli buldukları yerlerdir ve bu bölgelerde plazmada bulunandan daha yoğun miktarlarda bulunur. Akciğer epitel hücreleri, solunum yolları ve damarları çevreleyen düz kas hücrelerinin bulunduğu ekstraselüler sıvıda ES SOD seviyeleri yüksektir. Ekstraselüler düzeyde enzimatik olarak süperoksit radikalini etkisiz hale getirebilen tek antioksidan olması sebebiyle, ES SOD oksidatif stres kaynaklı pek çok akciğer hastalığından korunmada önemli bir role sahiptir (Karabulut ve Gülay, 2016).

#### **2.15.1.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar**

Enzim yapısında olmayan endojen antioksidanların başlıcaları arasında glutasyon, melatonin, ürik asit, seruloplazmin, albümin, bilirubin, koenzim  $Q_{10}$ ,  $\alpha$ -lipoik asit ve transferrin sayılabilir (Valko ve ark, 2014). Glutasyon, ökaryotik hücrelerin neredeyse tamamında sentezlenen enzimatik yapıda olmayan en önemli endojen antioksidandır. Glutasyonun %85-

90'ı sitoplazmada bulunur. Az bir kısmı ise sitoplazmada sentezlendikten sonra çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizomlarda bulunabilir. Antioksidan aktivite yanında hücrenin redoks döngüsünü korumada, eikozonoidlerin sentezinde, hücre sinyal mekanizmalarının modülasyonunda, apoptoziste ve bazı genlerin ekspresyonunda da görev alır (Blokhina ve ark, 2003).

Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), başka dokularda da kısmen üretilmekle birlikte temel olarak pineal bezden karanlık ortamda triptofandan hareketle üretilir ve dolaşıma salınır. Antioksidan aktivitesinin haricinde organizmada günlük sirkadian ritmin düzenlenmesinde, cilde renginin verilmesinde ve uykunun düzenlenmesinde rol alır. Melatonin, protein ve lipidlerin dışında çekirdek ve mitokondriyel DNA'yı da korur. Melatonin  $H_2O_2$ ,  $^1O_2$  ve  $OH\cdot$ ,  $ONOO^-$  ve  $NO\cdot$  gibi reaktif türleri nötralize eder. Bunlara ek olarak, SOD, GPx, GR ve CAT içeren antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırır. Melatonin,  $\gamma$ -glutamilsistein sentetazı stimüle ederek hücre içi glutatyon seviyesinde artışa neden olurken nitrik oksit sentaz ve lipooksijenaz gibi prooksidatif enzimleri baskılar. Melatonin farklı bir mekanizma ile hücre membranlarını sağlamlaştırır ve böylece oksidatif hasara karşı direnci artırır (Tan ve ark, 2015).

Organizmanın bir atık ürünü olarak da kabul edilen ürik asit, kanda bulunan önemli bir antioksidan bileşiktir. Ürik asit,  $^1O_2$ ,  $OH\cdot$ ,  $ONOO^-$  ve  $NO\cdot$  gibi reaktif türleri etkisizleştirir ve geçiş metalleri ile şelat kompleksleri oluşturur. Lipid peroksidasyonunu azaltarak koruyucu olarak görev yapabilir. Ürik asit gibi bilirubin de esasında organizmanın bir atık ürünüdür. Ömrünü tamamlayan eritrositlerin parçalanmasıyla içlerinde bulunan hem proteinlerinin yıkılmasıyla meydana gelir.  $RO_2\cdot$  radikallerininin detoksifikasyonunda görev alır (Becker ve ark, 1991).  $\alpha$ -Lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit güçlü antioksidan etkili maddelerdir.  $\alpha$ -Lipoik asit,  $^1O_2$  ve  $OH\cdot$ ,  $ONOO^-$  ve  $NO\cdot$ , HOCl gibi radikalleri süpürür (Ghibu ve ark, 2009). Dolaşım sisteminde ozmotik dengenin sürdürülmesinde görevli bir protein olan albümin, plazmadaki en önemli antioksidan maddelerden biridir. Albümin dolaşımında bulunan HOCl oksidanlarını süpürebilir ve bu yolla oksidatif hasarın azaltılmasına katkıda bulunur (Valko ve ark, 2014).

## 2.15.2. Eksojen Antioksidanlar

Endojen antioksidan maddeler ve enzimler normal fizyolojik koşullarda vücutta bulunan serbest radikallerin tamamını detoksifiye etmek için genellikle yetersiz kalırlar. Bu nedenle vücutta sentezlenemeyen vitamin, mineral ve çoğu bitkisel kaynaklı olan polifenolik yapıları çeşitli eksojen antioksidanlar diyetle alınmak zorundadır. Serbest radikal hasarına karşı güçlü antioksidan etkisi bulunan başlıca mineraller arasında çinko, magnezyum, bakır ve demir gibi mineraller yer almaktadır. Bu mineraller serbest radikallerle etkileşim sonucu indirgenerek serbest radikale bağlı hasarı engellerler. Selenyum ise endojen bir antioksidan olan GPx enziminin yapısına katılır (Radomska-Lesniewska ve ark, 2017). Minerallere göre eksojen antioksidanların çok daha geniş bir yelpazesini oluşturan vitaminler ve polifenolik bileşikler ayrı başlıklar halinde incelenmiştir.

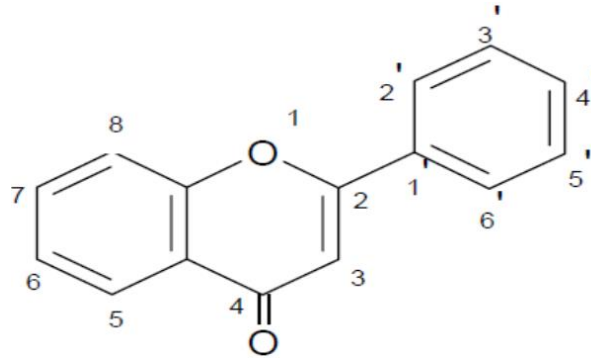
### 2.15.2.1. Vitaminler

$\beta$ -karoten (A vitamini), askorbik asit (C vitamini),  $\alpha$ -Tokoferol (E vitamini) ve folik asit (B<sub>9</sub> vitamini) dışarıdan alınan antioksidan vitaminlerdir.  $\beta$ -karoten, karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesidir ve A vitamininin öncül maddesidir (provitamin). Karotenoidler, meyve ve sebzelere kendilerine özgü renklerini veren maddelerdir.  $\beta$ -karoten, güçlü bir antioksidan ve kuvvetli bir <sup>1</sup>O<sub>2</sub> süpürücüsüdür (Alpsoy ve Yalvac, 2011). Vitamin C (askorbik asit) suda çözünebilen bir vitamindir. Vücutta depolanmaz. Vitamin C reaktif oksijen ve nitrojen türleri üzerinde süpürücü etki gösterir. Vitamin C ayrıca oksidan bileşiklerle reaksiyon sonucu indirgenmiş durumda olan  $\alpha$ -tokoferölü yeniden yükseltgeyerek bir koantioksidan olarak da hareket edebilir (Grosso ve ark, 2013). Vitamin E, yağda çözünen ve güçlü antioksidan etkisi olan bir vitamindir. Bu vitamin, sekiz stereoizomere sahip asimmetrik bir bileşiktir. İnsanlarda en etkin form  $\alpha$ -tokoferoldür.  $\alpha$ -tokoferol, hücre membranını serbest radikal hasarından korur.  $\alpha$ -tokoferölün antioksidan olarak esas görevi lipid peroksidasyonuna karşı korumaktır. Vitamin E, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>'nin çoğunlukla OH• ya da O<sub>2</sub><sup>-</sup>• şeklinde indirgenmesini sağlar ve peroksidasyon zincirini kırar. Vitamin E, radikallerin süpürülmesi, peroksidasyon zincirinin kırılması, radikal oluşumunu baskılama ve endojen savunma sistemlerinin güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamı yoluyla etki ettiğinden antioksidan etki kapasitesi çok yüksektir (Niki, 2015). Folik asit; folat, vitamin B<sub>9</sub> ya da vitamin M isimleri ile de bilinen, suda çözünebilen bir vitamindir. Folik

asit, hücre yenilenmesi ve DNA sentezi için gereklidir. Ayrıca, çocukluk ve gebelik gibi büyüme periyodları ile hücre bölünmesinde görev alır. Erkeklerde spermatogenezis sırasında da önemli rol oynar. Folik asit reaktif oksijen türlerini temizleyen güçlü bir antioksidandır (Stanger ve Wonisch, 2012).

### 2.15.2.2. Polifenolik bileşikler

İçerdiği halka sayısı ve diğer yapısal unsurlara göre isimlendirilen polifenolik bileşikler bitkiler içerisinde oldukça yaygın olup sebze ve meyvelerde değişik miktarlarda bulunmaktadır. Polifenolik bileşikler pek çok alt gruba ayrılmakla birlikte temelde kumarinler, antosiyaninler, flavonoidler, tanenler, stilbenler ve lignanlar şeklinde sınıflandırılmaktadırlar. Polifenolik bileşikler meyvelere kendilerine özgü renk ve lezzetin verilmesinden sorumludurlar. Birçok polifenolik bileşiğin antioksidan, antimutajenik ve antikarsinogenik etkileri bulunmaktadır. Flavonoidler, bitkisel polifenolik bileşiklerin en fazla üyesi bulunan ve en önemli grubudur. Günümüze kadar tanımlanan 8.000'den fazla polifenolik bileşiğin yarısından fazlası flavonoiddir. Flavonoidler, C6-C3-C6 düzeninde yerleşmiş onbeş karbonlu bileşiklerdir (Myburgh, 2014). Flavonoidlere ait 2-fenol- benzo-dihidro-piran genel yapısı Şekil 14'de verilmiştir.



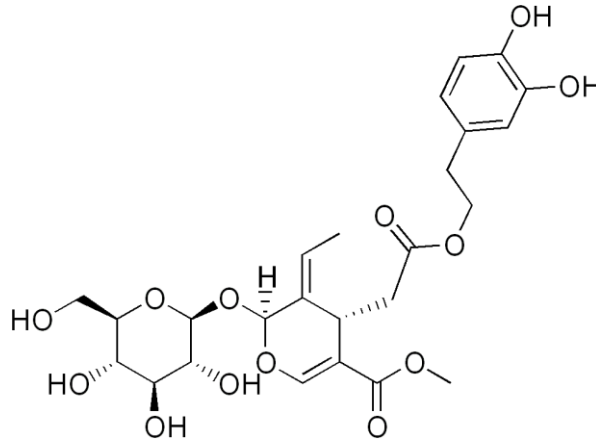
Şekil 14. Flavonoidlerin genel kimyasal yapısı (Myburgh, 2014).

Flavonoidler, piran halkasında meydana gelen değişmelere göre flavonoller, flavonlar, flavononlar, izoflavonlar ve antosiyanidinler olarak çeşitli alt bileşik gruplarına ayırır. Flavonoidler lipofilik özellikte antioksidanlardır. Ancak lipofiliklik dereceleri  $\alpha$ -tokoferole

kıyasla daha azdır. Diğer taraftan bu antioksidanların birlikte kullanıldığında serbest radikaller üzerindeki etkilerinin sinerjik olduğu bildirilmiştir (Losada-Echeberria ve ark, 2017).

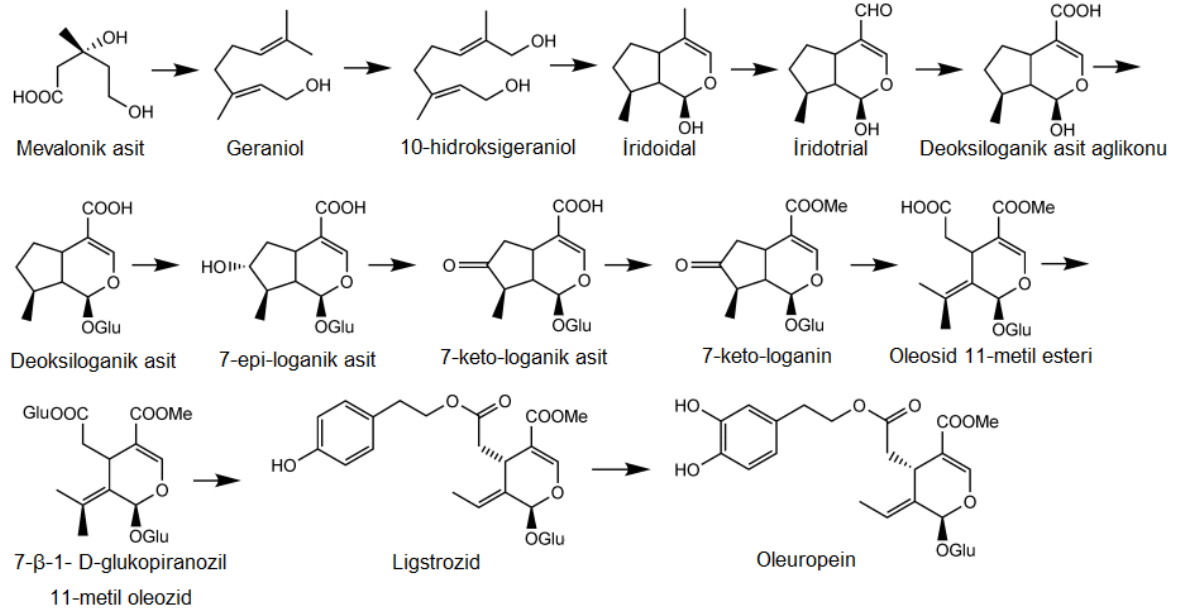
### 2.15.2.2.1. Oleuropein

Dünyanın birçok bölgesinde yetişen zeytin ağacı (*Olea europaea* L.) önemli biyolojik özelliklere sahip pekçok polifenolik madde içermekte olup, bunların başlıcası oleuropeindir. 1908 yılında keşfedilen oleuropeinin kimyasal yapısı (Şekil 15) 1960 yılında aydınlatılmıştır (Obied ve ark, 2008). Oleuropein sekoiridoid grubu bir bileşik olup zeytin meyvesine acı tadını veren maddedir. Zeytin bitkisinde oleuropein dışında luteolin, gallik asit, epikateşin, hesperidin, resveratrol, rosmarinik asit, kuersetin, naringenin, naringin, juglon, elajik asit, çikoric asit gibi otuzdan fazla polifenolik bileşik bulunmaktadır. Oleuropein zeytin bitkisinin tüm kısımlarında değişik oranlarda yer almakla birlikte en fazla yapraklarda bulunur. Zeytin yaprakları içerisindeki oleuropein miktarı zeytin ağacının cinsine, ağacın bulunduğu bölgenin özelliklerine ve yaprakların toplanma mevsimine göre farklılıklar göstermektedir (Parkinson ve Cicerale, 2016).



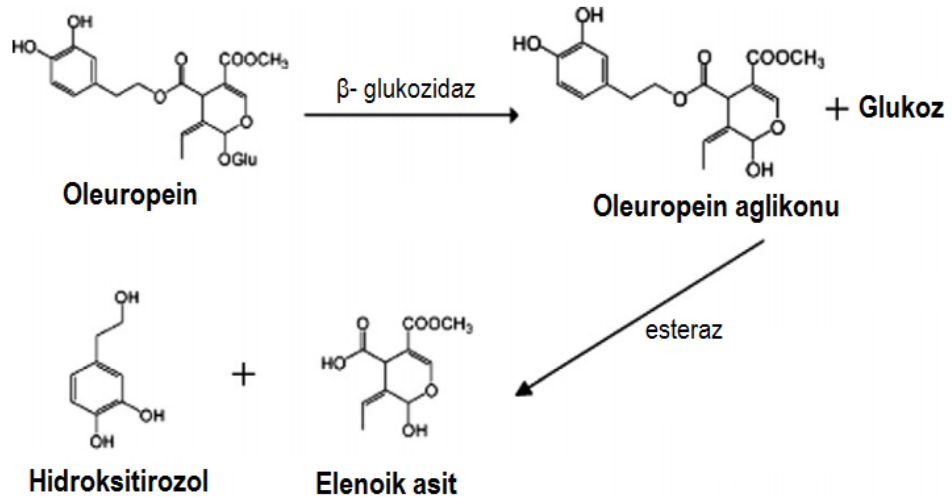
Şekil 15. Oleuropeinin ( $C_{25}H_{32}O_{13}$ ) Kimyasal Yapısı (Obied ve ark, 2008).

Oleuropein biyosentezi mevalonik asitten hareketle oldukça kompleks bir süreçle gerçekleşmektedir. Oleuropein Oleaceae (zeytingiller) familyası dışında Gentianaceae (kantorongiller) ve Cornaceae (kızılcıkçiller) familyalarına ait bitkilerde de çeşitli oranlarda bulunmaktadır. Bitkilerde oleuropein biyosentezi Şekil 16'da sunulmuştur (Obied ve ark, 2008).



Şekil 16. Oleuropein biyosentezi (Obied ve ark, 2008 çalışmasından Türkçeleştirilmiştir).

Olgunlaşma sırasında ve zeytinyağı üretimi aşamasında yapılan ezme, yoğurma gibi işlemler neticesinde oleuropein önce endojen  $\beta$ -glukozidaz ardından da *esteraz* enzimlerinin etkisi ile yine antioksidan bir bileşik olan hidroksitirozol ve güçlü antiviral aktivite gösteren elenoik asit'e hidrolize olur (Khoufi ve ark, 2011). Oleuropeinin  $\beta$ -glukozidaz ve *esteraz* ile enzimatik hidrolizi ve oluşan sonuç ürünler Şekil 17'de gösterilmiştir.



Şekil 17. Oleuropeinin  $\beta$ -glukozidaz ve *esteraz* ile enzimatik hidrolizi (Khoufi ve ark, 2011 çalışmasından Türkçeye çevrilmiştir).



Oleuropeinin antioksidan, antiinflamatuvar, antitümoral, nöroprotektif, kardiyoprotektif, antiviral, antimikrobiyal ve hepatoprotektif etkileri bulunduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Oleuropeinin antioksidan etkileri farklı mekanizmalarla ortaya çıkmakta ve vücudun verdiği toplam antioksidan cevapta artışa neden olmaktadır (Pantano ve ark, 2017). Oleuropeinin antioksidan potansiyeli temel olarak hidroksil grubunun serbest hidrojeni ve fenoksil radikalleri arasında bir molekül içi hidrojen bağı oluşumu yoluyla radikal stabiliteyi geliştirme yeteneğiyle ilgilidir. 2, 2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile oluşturulan oksidatif stres modelinde oleuropeinin askorbik asit ve  $\alpha$ - tokoferol ile benzer antioksidan potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir. Oleuropeinin lipid oksidasyonu üzerindeki koruyucu etkileri, TBA ile reaksiyona giren maddelerin ve MDA ile 4-hidroksinonenal (4-HNE) gibi lipid peroksid yan ürünlerinde meydana gelen azalma gösterilerek kanıtlanmıştır. Bunun yanında inflamasyon bölgesinde nötrofillerde bulunan *myeloperoksidaz* tarafından üretilen güçlü bir oksidan bileşik olan hipokloröz asiti süpürücü etkisi de gösterilmiştir (Barbaro ve ark,2014). Oleuropein ayrıca nitrik oksit (NO) süpürücü etkiye sahiptir ve hücre içi indüklenebilir *nitrik oksit sentaz*'ın (iNOS) ekspresyonuna neden olur. Oleuropeinin 30 dakika süre ile perfüzyonu kesilerek iskemi yaratılan ve ardından yeniden perfüze edilen izole rat kalbinde  *kreatinin kinaz* (CK) ve glutasyon salınımını azalttığı ve kalp hasarını azaltıcı etki sağladığı gösterilmiştir (Khalatbary ve Zarrinjoei, 2012).

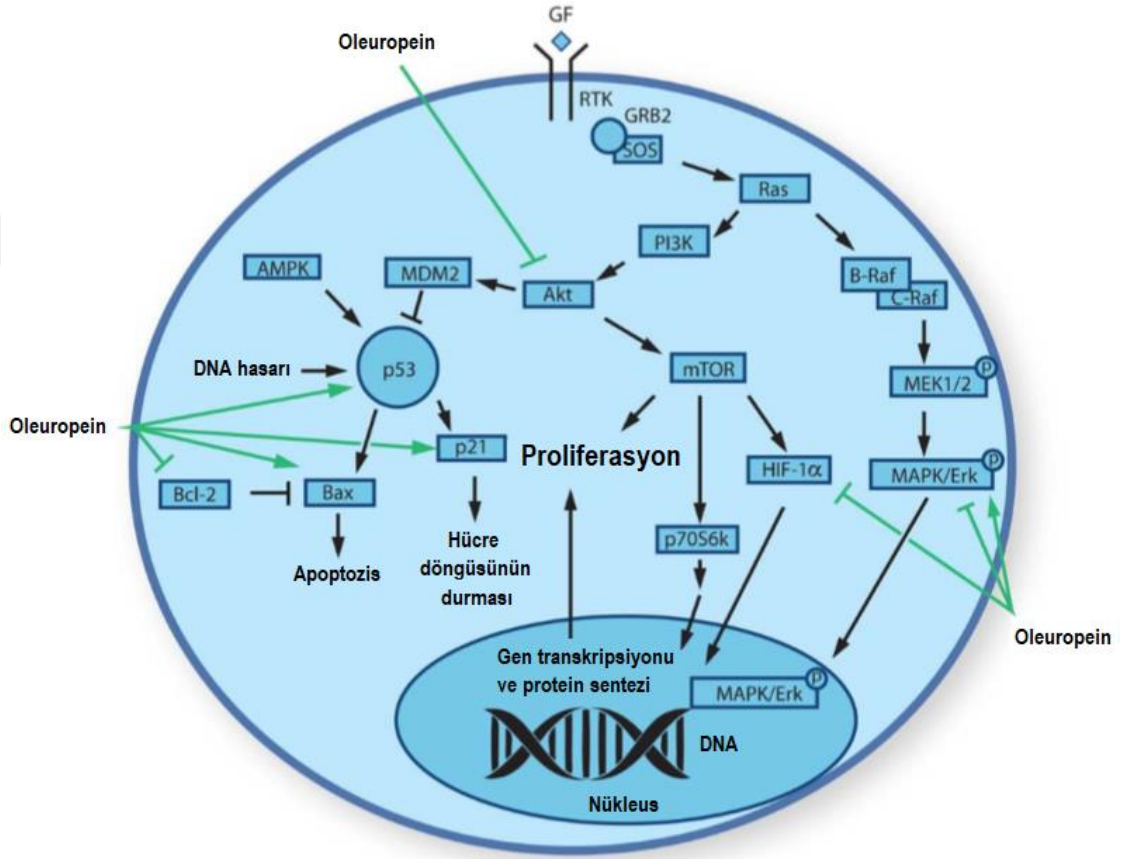
Çeşitli çalışmalarda oleuropeinin lipoksijenaz aktivitesi, lökotrien B4 (LTB<sub>4</sub>) üretimi ve pro-inflamatuar sitokinlerin biyosentezini inhibisyonu veya inflamatuvar parametreleri modüle ederek antiinflamatuvar etki sağladığı gösterilmiştir. Farelerde karregenana ile oluşturulan plörezi modelinde oleuropeinin tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve NO miktarlarında önemli azalma sağladığı gösterilmiştir. Bir çalışmada oleuropeinin, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonlarını anlamlı bir şekilde azaltarak iNOS ve siklooksijenaz 2 (COX-2) ekspresyonlarında da azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Bogani ve ark, 2007). Oleuropein antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle antitrombotik ve antiaterojenik özellikler göstermektedir. Oleuropein, platelet agregasyonunu ve nötrofillerin süperoksit anyonları, tromboksan ve LTB<sub>4</sub> üretimini inhibe ederek hücre düzeyinde patofizyolojik süreçleri modifiye eder (Omar, 2010). Bir çalışmada oleuropein uygulamasının serum lipid düzeylerini ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunu azaltarak sırasıyla monosit kemotaktik protein-1 ve vasküler hücre adezyon molekülünün ekspresyonlarında da azalmaya neden olduğu ve ateroskleroz gelişimini baskıladığı bildirilmiştir. Sonuç olarak oleuropeinin lipid seviyelerini düşürerek, LDL

oksidasyonunu inhibe ederek, inflamatuvar faktörleri baskılayarak ve makrofaj aktivasyonunu önleyerek anti aterosklerotik etki gösterdiği bildirilmiştir (Khalatbary ve Zarrinjoei, 2012).

Kanser hücreleri gelişmiş proliferasyon oranına sahiptirler ve apoptoza karşı direnç gösterirler. Epidemiyolojik çalışmalar, zeytinyağı kullanımı ile kanser riskinin azaltılması arasında bir ilişkili olduğunu göstermektedir. Çeşitli araştırmalar oleuropeinin tümör hücresi proliferasyonunu inhibe ettiğini ve farklı kanser hücre hatlarında apoptozisi indüklediğini göstermiştir (Ahmad Farooqi ve ark, 2017). Ayrıca, çeşitli hayvan çalışmalarında da oleuropeinin antikanser etkileri görülmüştür. Baş-boyun, pankreas, karaciğer, kolorektal, meme, prostat, tiroid, lösemi, osteosarkom, nöroblastom, mesotelyoma ve glioblastoma gibi farklı kanser türleri üzerinde yapılan çeşitli *in vitro* hücre kültürü çalışmalarında ve *in vivo* hayvan deneyleri ile oleuropeinin tümör proliferasyonunu ve metastazları değişik oranlarda baskıladığı belirtilmektedir. Bu etkiler, oleuropeinin çeşitli genlerin ekspresyonunu, apoptozisi ve proliferasyonda rol oynayan farklı sinyal proteinlerinin aktivitesini modüle etme yeteneği ile ilişkilidir (Shamshoum ve ark, 2017).

Meme tümörlerinin araştırıldığı *in vitro* çalışmalarda oleuropeinin HER2 reseptör aktivitesini, HER2 gen ekspresyonunu, Erk 1/2 yolağını, Bcl-2 proteinini, siklin D1 geni ve *matriks metalloproteinaz 2* (MMP2) enzim aktivitesini inhibe ettiği; diğer taraftan *Poli (ADP-riboz) polimeraz* (PARP-1) ve *kaspaz* enzimleri aktivitelerini, p21, p53 ve Bax genlerinin ekspresyonlarını da arttırarak apoptozisi indüklediği, hücre proliferasyonunda azalma sağladığı, antimetastatik etki gösterdiği ve trastuzumab'a karşı zamanla gelişen direnci engellediği gösterilmiştir. Kolon, karaciğer, prostat, pankreas, tiroid, osteosarkom, mezotelyoma gibi kanser türlerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda hücre döngüsünü S ve/veya G<sub>2</sub>-M fazlarında durdurduğu, HIF-1 $\alpha$  (hipoxia inducible factor), Bcl-2, p-Akt, p-Erk, CCDN1-2-3 ile CDK4-6 genlerinin ekspresyonunu ve dokularda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunu azalttığı; diğer taraftan p53, Bax, kaspaz-3-8-9, PARP genleri ekspresyonunda, ROB oluşumunda, hem oksijenaz 1 enzim aktivitesi, tiol grubu modifikasyonu,  $\gamma$ -glutamilsistein sentaz aktivitesinde, *Cyclin dependent kinase* (CDK) inhibitörleri aktivitesinde ve sitozolik Ca<sup>+2</sup> miktarında artış sağlayarak apoptozisi indüklediği ve hücre proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Shamshoum ve ark, 2017). Proinflamatuvar sitokinlerden inflamasyon ve apoptozisin indüklenmesinde rol alan TNF- $\alpha$ 'nın ve immün sistem, inflamasyon ve hematopoezin düzenlenmesinde rol oynayan IL-6'nın serum düzeylerindeki artışların inflamasyonla yakından ilişkili olduğu bilinen meme tümörlerinin prognozu ile ilişkili bulunduğu bildirilmiştir (Ma ve

ark, 2017). Oleuropeinin antikanser etkilerinin değerlendirildiği *in vivo* çalışmalarda Ki-67, IL-6, IL-17A, TNF- $\alpha$ , COX-2, nükleer p65 NF- $\kappa$ B,  $\beta$ -katenin, p-STAT3, p-Akt, VEGF, MMP-2-9-13 gen ekspresyonlarında azalma; Bax proteini ekspresyonunda da artış sağlanarak tümör insidansı, tümör hacmi, tümör ağırlığını azalttığı, intra ve peripulmoner metastazları engellediği belirtilmiştir (Ahmad Farooqi ve ark, 2017; Shamshoum ve ark, 2017). Oleuropeinin hücrede modülasyonu ile gerçekleşen antikanser etkiler Şekil 18’de gösterilmiştir.



**Şekil 18.** Oleuropeinin hücre içi antikanser etki mekanizmaları (Shamshoum ve ark, 2017 kaynağından özetlenerek Türkçeye çevrilmiştir)

Oleuropein yukarıda açıklandığı üzere antioksidan etkilerinin yanında çeşitli mekanizmalar aracılığı ile antitümöral etkiler de göstermekte ve kemoterapiye bağlı yan etkilerin azaltılmasında umut vaat etmektedir (Leon-Gonzalez ve ark, 2015; Shamshoum ve ark, 2017). Çalışmamızın amacı epirubisin ve siklofosamid kombinasyon kemoterapisi nedeniyle oluşan toksisiteye karşı polifenolik yapıli bir bileşik olan oleuropeinin etkilerini hemogram analizleri, biyokimyasal testler, comet yöntemi ve kalp, karaciğer ve böbrek dokularında antioksidan/oksidan parametrelerin analizleri yoluyla ratlarda araştırmaktır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan her iki antineoplastik ilacın ayrı ayrı ve kombine kullanımı sırasında meydana getirdiği moleküler ve biyokimyasal değişiklikleri inceleyerek kıyaslama yapabilmek amacıyla bir kontrol grubuna karşı iki antineoplastik ajan için iki ayrı grup ve kombinasyon ilaç uygulama modeli için bir grup oluşturulmuştur. Diğer taraftan oleuropeinin etkilerini gözlemlenmesi amacıyla bu üç ilaç uygulama grubu ile aynı doz ve uygulama şemasına sahip; ancak, ilaveten oleuropein uygulanan üç ayrı grup daha oluşturulmuştur. Buna göre araştırmadaki toplam grup sayısı yedi olmuştur. G power analizinde; G power gücü %80 alınmış ve analiz sonucuna göre her bir çalışma grubunda bulunması gereken minimum denek sayısı sekiz (n=8) olarak belirlenmiştir.

Çalışma öncesinde Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan yazılı izin alındı (etik kurul izin no: 64583101/2017/117). Araştırmada Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları ünitesinden temin edilen 3 ay  $\pm$  5 günlük, ortalama 220 gr  $\pm$  20 gr ağırlığında gebe olmayan 56 adet sağlıklı dişi Sprague-Dawley rat kullanıldı. Çalışmaya başlanmadan önce ratların ağırlıkları tartıldı ve rastgele şekilde yukarıda açıklanan gruplara dağılımları yapıldı. Gruplarda başlangıç ağırlıklarının dağılımına göre aralarında anlamlı bir farklılık bulunmadığı (p>0.05) saptandı. İlaç uygulaması safhasına geçilmeden önce bir hafta süresince ratların yeni ortamlarına adaptasyon sağlamaları amacıyla beklendi. Çalışmada epirubisin, siklofosfamid ve serum fizyolojik (yalnız kontrol grubuna) uygulamalarının tümü intraperitoneal (i.p.) olarak, oleuropein uygulamaları ise oral gavaj yoluyla (p.o.) yapıldı. Araştırmadaki deney gruplarının dağılımı ve uygulama dozları Tablo 9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Araştırmadaki deney gruplarının dağılımı

---

**Grup K:** Kontrol grubuna 0,5 ml/hafta (i.p.) serum fizyolojik uygulandı.

**Grup E:** 2.5 mg/kg/hafta epirubisin (i.p.) uygulandı.

**Grup S:** 16 mg/kg/hafta siklofosfamid (i.p.) uygulandı.

**Grup ES:** 2.5 mg/kg/hafta epirubisin (i.p.) ve 16 mg/kg/hafta siklofosfamid (i.p.) uygulandı.

**Grup EO:** 2.5 mg/kg/hafta epirubisin (i.p.) ve 150 mg/kg/hafta oleuropein (p.o.) uygulandı.

**Grup SO:** 16 mg/kg/hafta siklofosfamid (i.p.) ve 150 mg/kg/hafta oleuropein (p.o.) uygulandı.

**Grup ESO:** 2.5 mg/kg/hafta epirubisin (i.p.) ve 16 mg/kg/hafta siklofosfamid (i.p.) kombinasyonu ile 150 mg/kg/hafta oleuropein (p.o.) uygulandı.

---

Meme kanseri kemoterapisinde uygulanan epirubisin ve siklofosfamid insan dozlarının ilgili formüller kullanılarak rat dozuna çevrilmesi sağlandı (Nair ve Jacob, 2016). İlaç ve antioksidan madde uygulamaları haftada bir gün toplam dört hafta olacak şekilde gerçekleştirildi. Her hafta ilaç uygulamaları öncesinde ve çalışmanın sonlandırılmasında anestezi öncesinde ağırlık ölçümleri yapıldı. Tüm uygulamalar haftanın aynı günü ve günün aynı saatlerinde aynı kişilerce gerçekleştirildi. Deneysel aşamada bütün ratlar optimal ısıda (22 °C)'de, bağıl nem oranı %40-60, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda, kafes üstlükleri paslanmaz çelik, 425 x 265 x 180 mm boyutlarında şeffaf polikarbonat kafeslerde ve bir kafeste azami dört adet hayvan olacak şekilde barındırıldılar. Ratların beslenmesinde standart rat yemi kullanıldı. Deney sürecinde su ve pelet yem ihtiyaçları *ad libitum* olarak karşılandı. Ratların günlük bakımları her gün aynı saatler arasında yapıldı.

Ratlara son ilaç uygulamasından 1 hafta sonra 50 mg/kg ketamin (Ketalar®) ve 5 mg/kg ksilazin (Alfazyne®) uygulanarak anestezi sağlandı. Anestezi altında uyutulan sıçanlar servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Daha sonra deney hayvanlarının karın boşluklarına insizyon yapıldı. Açılan karın boşluğundan median hat boyunca kraniale doğru ilerlenerek diyafram kesildi ve göğüs boşluğuna girildi. Ardından hemogram, biyokimyasal parametreler ve comet analizi için enjektör yardımıyla her bir rattan yaklaşık 5 ml intrakardiyak kan örneği 3 ayrı tüpe alındı. Bu kan örneklerinden 1 ml'si hemogram analizi için antikoagülanlı kan tüpüne, 2 ml'si comet analizinde lenfosit izolasyonu amacıyla başka bir antikoagülanlı tüpe ve son 2 ml kan örneği ise biyokimyasal parametreler ile sitokinlerin tayininde kullanılmak üzere jelli kan tüpüne alınarak ayrıldı. Biyokimyasal analiz için ayrılan kan tüpleri 3500 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant (serum) mikrosantrifüj tüplerine alınarak analiz

işlemlerine kadar -80 °C’de saklandı. Doku örneklerinden antioksidan parametrelerin tayini için karaciğer, böbrekler ve kalp dikkatlice çıkarıldı. Çıkarılan örneklerin her biri ayrı bir havası alınmış kilitli poşete konularak analiz aşamasına kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

### 3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Çalışmanın Comet yöntemi ve antioksidan/oksidan parametre analizlerinde Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan cihaz ve gereçler kullanılmıştır. Bu aşamalarda kullanılan cihaz ve gereçlere ait liste Tablo 10’da; kimyasalların listesi ise Tablo 11’de sunulmuştur. Hemogram analizi Diatron® Abacus Junior 30 hematoloji analizör cihazı yardımıyla, biyokimyasal analizler Roche® Cobas c501 otoanalizör cihazı ve Roche® kitleriyle ve ELİSA testleri Thermo Fisher Scientific® Multiskan Sky Microplate Spektrofotometre cihazı ve Thermo Fisher® marka kitler kullanılmak suretiyle özel laboratuvardan hizmet alımı yoluyla araştırıldı.

**Tablo 10.** Çalışma sırasında kullanılan cihaz ve gereçler

<b>Kullanılan Malzeme</b>	<b>Marka</b>	<b>Aşama*</b>
Sıçan besleme sondası (gavaj)	Harvard Apparatus®	1
Antikoagülanlı tüp	BD Vacutainer®	1
Elektroforez tankı soğutucusu	Julabo® FL300	2
Elektroforez için güç kaynağı	Cleaver® Scientific CS 300	2
Yatay elektroforez tankı	Cleaver® Scientific	2
Floresan mikroskop	Leica® DM 3000	2
Floresan mikroskoba bağlı dijital video kamera	Basler® Vision Technologies	2
Rotator	J.P. SELECTA®	2
Teflon başlıklı homojenizatör	Yellowline® Ost Basic	3
Soğutmalı santrifüj	Hettich Universal R320	4
Isıtmalı manyetik karıştırıcı	Nüve® MK 418	2, 4
Vorteks	Nüve® NM 110	4
Spektrofotometre	Shimadzu® UV-1601	4
Etüv	Nüve® FN 500	2, 4
Terazi	Shimadzu® EB-2200 HU	2, 4
Hassas terazi	Shimadzu® AX120	2, 4
10-1.000 µl arası muhtelif hacimde mikropipetler	Eppendorf®	2, 4
10-1.000 ml muhtelif hacimde beherler	Isolab®	2, 4
5-10-15 ml muhtelif hacimde deney tüpleri	Isolab®	2, 4
Dijital pH metre	Denver® model 225	2, 4
Su banyosu	Memmert® WNB 10	2, 4

\*1- Deney hayvanlarına uygulama, 2- Comet Yöntemi, 3- Doku Homojenizasyonu, 4- Comet Yöntemi, Oksidan-antioksidan parametre analizleri

**Tablo 11.** Çalışma sırasında kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal Adı	Marka ve Kodu	Aşama*
Oleuropein	Santa Cruz <sup>®</sup> , sc-286622B	1
Epirubisin HCl	Pirucin <sup>®</sup> , Saba ilaç San. ve Tic. AŞ, A057559	1
Siklofosfamid HCl	Endoxan <sup>®</sup> , Eczacıbaşı ilaç pazarlama AŞ, 8C156A	1
Ketamin HCl	Ketalar <sup>®</sup> , Pfizer İlaç Ltd. Şti., 6048	2
Ksilazin	Alfazyne <sup>®</sup> , Ege Vet Ltd. Şti., 544	2
Düşük erime noktalı agar (LMA)	Sigma <sup>®</sup> A9045, Tip VII	3
Histopaque-1077	Sigma <sup>®</sup> 10771	3
Normal erime noktalı agar (NMA)	Sigma <sup>®</sup> A7174, Tip VI-A	3
Trisma base	Sigma <sup>®</sup> T1503	3
Trion x-100	Fluka <sup>®</sup> 93443	3
PBS tablet (Mg <sup>+2</sup> ve Ca <sup>+2</sup> içermeyen)	Sigma <sup>®</sup> P4417	3
4',6-Diamidino-2-fenilindol dihidroklorid	Sigma <sup>®</sup> D9542	3
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma <sup>®</sup> S9625	3
Hidroklorik asit (HCl)	Sigma <sup>®</sup> 30721	3, 4
Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) disodyum	Sigma <sup>®</sup> E-9884	3, 4
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma <sup>®</sup> S5881	3, 4
Etanol	Merck <sup>®</sup> 100986	3, 4
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma <sup>®</sup> D5879	3
Ksantin oksidaz	Sigma <sup>®</sup> X-1875	4
Bakır klorür (CuCl <sub>2</sub> )	Merck <sup>®</sup> 818247	4
Nitroblue tetrazolium	Sigma <sup>®</sup> N-6876	4
Sodyum karbonat (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	Merck <sup>®</sup> 818247	4
Sığır Albümini	Sigma <sup>®</sup> A-7906	4
Kloroform	Merck <sup>®</sup> 102444	4
Ksantin	Sigma <sup>®</sup> X-0626	4
Amonyum sülfat	Merck <sup>®</sup> 101217	4
Trikoloro asetik asit	Sigma <sup>®</sup> S-27242	4
Tiobarbiturik asit	Sigma <sup>®</sup> T-5500	4
Glutasyon	Merck <sup>®</sup> 104090	4
Metafosforik asit	Merck <sup>®</sup> 100546	4
5,5'-ditiyobis, 2-nitrobenzoik asit (DTNB)	Sigma <sup>®</sup> D-8130	4

\*1- Deney hayvanlarına uygulama, 2- Deney hayvanı anestezisi, 3- Comet Yöntemi, 4- Oksidan - Antioksidan Parametre Analizi

### 3.2. Yöntemler

Oleuropeinin epirubisin ve siklofosfamid uygulamasına bağlı olarak gelişen doku hasarı üzerindeki olası etkilerinin belirlenmesi amacıyla lenfosit DNA'sı kullanılarak comet analizi; karaciğer, kalp ve böbrek dokularında *katalaz* (CAT), malon dialdehid (MDA), *süper oksit dismutaz* (SOD) ve indirgenmiş glutasyon (GSH) gibi antioksidan/oksidan parametrelerin

taini; kan ve serum örneklerinde hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin analizleri ayrıca ELİSA testi ile TNF- $\alpha$  ve IL-6 miktar tainleri gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.1. Comet Analizi

Lenfosit hücreslerinde DNA hasar düzeyi, Singh ve ark. (1988) tarafından geliştirilen comet yöntemi kullanılarak araştırıldı. Comet analizi basit, hassas ve hızlı bir yöntemdir. Farklı hücre tipleri ve DNA hasar çeşitleri için uygulanabilir. Radyoaktif işaretleme gerektirmemesi ayrı bir avantajdır ve bu nedenle DNA hasar ölçümlerinde sık tercih edilir. Mikroskop lamı üzerindeki agar jel içine süspanse edilmiş az sayıdaki hücreye, zarların parçalanıp çekirdekte bulunan süper sarmal (süper coil) yapıda DNA'nın serbestleşmesi için lizis işlemi uygulanır. Alkali ortamda süper sarmal yapı açılır. Elektroforezde hasarlı (kırılmış) DNA zincirleri anoda doğru göçerken bir kuyruklu yıldız (comet) görüntüsü oluşturur. Karanlık ortamda elektroforez işlemi sonrası floresans bir boya ile boyanan hücreler floresans mikroskop altında gözle veya bir bilgisayar programı yardımıyla değerlendirilir.

#### ***Kullanılan çözeltiler:***

1. PBS (Fosfat tamponu): 1 adet PBS tablet 200 ml distile su içerisinde çözümlenerek pH 7.4'e ayarlandı. Çözelti otoklavda sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra +4 °C'de saklandı.
2. Normal kaynama dereceli agar (Normal melting agarose-NMA): 500 mg NMA 50 ml PBS'de mikrodalga fırın yardımıyla eritilerek, lamaların kaplanması aşamasına kadar su banyosunda 60 °C'de tutuldu.
3. Düşük kaynama dereceli agar (Low melting agarose-LMA): 250 mg LMA 50 ml PBS ile karıştırılarak mikrodalga fırında eritildi. 5 ml'lik tüpler içerisine konularak kullanılmaya kadar +4 °C'de bekletildi. Kullanılmadan önce 37 °C'lik su banyosunda çözümlenmesi sağlandı.
4. Stok lysing solüsyonu: 2.5 M NaCl (146.1 gr), 100 milimolar (mM) EDTA (37.2 gr), 10 mM Tris baz (1.2 gr) ve 8 gr NaOH 700 ml su ile karıştırıcı yardımıyla eritildi. pH=10 olacak şekilde ayarlandıktan sonra hacim 1.000 ml'ye tamamlanarak kullanılmaya dek oda sıcaklığında saklandı.
5. Lysing solüsyonu: Kullanılacağı zaman taze olarak 178 ml stok lysing solüsyonuna 2 ml Triton X 100 ve 20 ml DMSO ilave edilerek hazırlandı.



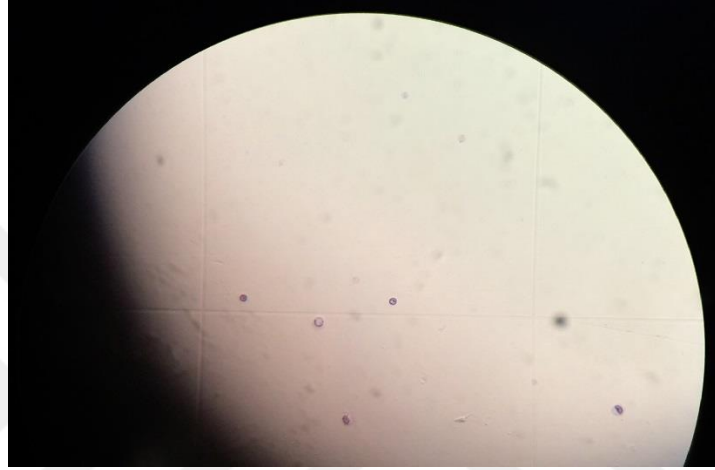
6. 10 Normal (N) NaOH stok çözeltisi: 200 gr NaOH 500 ml distile suda çözülerek +4 °C'de saklandı.
7. 200 mM EDTA stok solüsyonu: 14.89 gr EDTA 200 ml distile su içerisinde çözüldü ve pH=10 olacak şekilde ayarlanarak +4 °C'de saklandı.
8. Elektroforez tamponu: 5 ml 200 mM EDTA ve 30 ml 10 N NaOH stok solüsyonlarından alınıp ve distile su ile 1.000 ml'ye tamamlandı. Çözelti, pH>13 olacak şekilde ayarlanarak +4 °C'de saklandı.
9. Nötralizasyon tampon çözeltisi: 0.4 M Tris (48.5 gr Tris HCl) 800 ml suda çözüldü. Toplam hacim 1.000 ml ve pH= 7.5 olacak şekilde konsantre HCl ve distile su ile ayarlanarak +4 °C'de saklandı.
10. Lamaların görüntüleme aşamasında boyama amacıyla DAPI (4', 6-Diamidino-2-fenilindol dihidroklorid) çözeltisi kullanıldı. 100 ml distile su içerisinde 1 mg DAPI çözüldükten sonra 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine her bir tüpte 1 ml olarak şekilde aktarıldı ve 10 µl/ml'lik çözelti elde edildi ve kullanıma dek -20 °C'de muhafaza edildi. Boyama solüsyonu kullanım aşamasında dolaptan çıkartılarak oda sıcaklığına getirildi. 10 µl/ml'lik DAPI çözeltisinden 100 µl alınarak 321 µl distile su ile seyreltilti. Floresan boyama amacıyla her bir lamın üzerine 70 µl seyreltik çözelti kullanıldı.

### ***Analiz işlemleri:***

Analiz işlemlerine öncelikle lenfositlerin izolasyonu ile başlandı. Heparinli tüpler içerisinde bulunan tam kan numunelerinden 1.000 µl ve PBS çözeltisinden 1.000 µl alınarak bir tüp içerisinde karıştırıldı. 2.000 µl Histopaque 1077 eklenmiş, dip kısmı konik yapılı başka bir santrifüj tüpüne kan ve PBS karışımı (1 ml kan + 1 ml PBS) eklendi. Histopaque + kan + PBS karışımı 2.000 rpm'de (round per minute) 25 dakika boyunca +4 °C'de santrifüj edildi. Bulutsu yapıda görünen mononükleer kısım bir pastör pipeti yardımıyla dibi konik yeni bir santrifüj tüpüne aktarıldı ve üzerine 5.000 µl kadar PBS eklendi. Tüp içerisinde çoğunluğu lenfosit olan mononükleer hücreler ve PBS karışımı 2.000 rpm'de 10 dakika süresince +4 °C'de santrifüjlendi. Santrifüj sonrasında üstteki kısım uzaklaştırıldı ve tüpün dip kısmında toplanan hücreler yığın halinde elde edildi. Hücre kümesine tekrar 500 µl PBS solüsyonu ilave edildi. Ardından vorteks yardımıyla karıştırılarak lenfosit solüsyonları hazırlandı.

Elde edilen lenfosit solüsyonundan 40 µl alındı ve 40 µl Turk solüsyonu eklenerek bekletilmeden hücrelerin ışık mikroskobu altında Thoma lamında sayımı yapıldı (Resim 1).

Sayım sonrası 1 µl'de en az 15.000 – 20.000 hücre olacak şekilde yoğunlaştırma veya seyreltme işlemi uygulanarak lenfosit süspansiyonu lama aktarım için hazır hale getirildi. Lamların üzerindeki olası kirliliklerin bertarafı amacıyla kullanılan tüm lamlar önce %95'lik etil alkol çözeltisine batırılarak temizlendi ve ardından bek alevinde kurutuldu. Lenfosit hücrelerinin gömülmesi ve elektroforez sırasındaki elektrodlara göçü sağlaması amacıyla lamların üst yüzeyleri, 60 °C'lik su banyosunda erimiş halde bulunan NMA ile kaplandı. Kullanıma hazır hale getirilen lamlar +4 °C'de saklandı.



**Resim 1.** Işık mikroskobunda Thoma lamı ile hücre sayımı

Lenfositlerin NMA ile kaplanan lamların üzerine gömülmesi amacıyla öncelikle 250 µl lenfosit süspansiyonu, 37 °C'lik su banyosunda tutulan erimiş haldeki 550 µl LMA ile karıştırılıp vortekslendi. Daha sonra +4 °C'de bulunan NMA ile kaplanmış lamlara bu karışım her bir örnekten iki tane lam olacak şekilde yayıldı. Ardından lamların üzeri lamelle kapatıldı. Tüm lamlar buzdolabına yerleştirilip bir süre beklenilerek soğuk ortamda agarozların donarak birbirine yapışması sağlandı. Agarozların birbirine yapışmasının ardından lameller çıkarıldı. Bu işlemin ardından stok solüsyonundan hazırlanan lysing çözeltisinden 75 ml alınarak dik şalelere eklendi ve buzdolabına konularak +4 °C'de soğumaya bırakıldı. Şalelerdeki bölmelere yerleştirilen agaroz ve hücre karışımı içeren lamlar 12 saat süre ile +4 °C'de lysing solüsyonu içerisinde bekletildi.

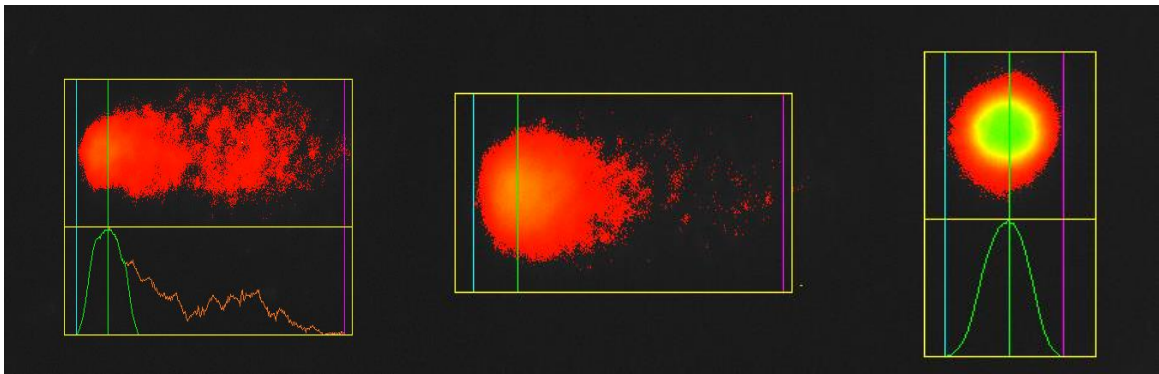
On iki saat süresince lysing çözeltisinde bekletilen lamlar elektroforez işlemi için agaroz-hücre tarafı üstte olacak şekilde elektroforez tankına yerleştirildi. Daha sonra tank, soğuk elektroforez tamponu ile lamların üzerini 0.5 cm geçecek seviyeye kadar dolduruldu.

Lamlar, tampon ile dolu tankta 30 dakika bekletildikten sonra 25 Volt (V) ve 300 miliamper (mA) akım altında 30 dakika süre ile yürütüldü.

Elektroforez işlemi sonrası tanktan çıkarılan lamlar nötralizasyon ve fiksasyon sağlanması amacıyla 2 ayrı nötralizasyon çözeltisinin her birinde on dakika süre ile yıkandı. Nötralizasyondan sonra hücreleri lamlara fikse etmek için lamlar sırasıyla %50, %70 ve %90 yoğunluklarındaki 3 ayrı etanol çözeltisinde beşer dakika bekletildi. Lamlar fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra karanlık bir ortamda 12 saat süre ile kurumaya bırakıldı.

Karanlık ortamda kuruma işlemi tamamlanan lamların üzerine boyama amacıyla distile su ile seyreltilmiş 70 µl DAPI iki ayrı damlacık şeklinde ilave edildi ve lamlar lamelle kapatıldı. On dakika bekledikten sonra bir floresan mikroskop yardımıyla inceleme işlemine geçildi.

Mikroskobik incelemede her bir numune için ikişer adet hazırlanan lamlardan yüzer adet hücre, floresan mikroskop (Leica® microsystems GmbH, Almanya) kullanılarak Comet Assay IV görüntü analizi bilgisayar paket programı (Perceptive Instruments® Ltd., İngiltere) yardımıyla rastgele olarak sayıldı. DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilen gruplara ait kuyruk momenti (tail moment), kuyruk yoğunluğu (tail intensity) değerleri ve comet görüntüleri kaydedildi. Comet analizinde çok hasarlı, orta derecede hasarlı ve sağlam DNA örneklerine ait floresan mikroskop görüntüleri Resim 2’de sunulmuştur.



**Resim 2.** Comet analizinde çok hasarlı (solda), orta derecede hasarlı (ortada) ve sağlam (sağda) DNA örneklerine ait floresan mikroskop görüntüleri

### **3.2.2. Antioksidan ve Oksidan Parametre Analizleri**

#### **3.2.2.1. Dokuların homojenizasyonu**

Ratların anestezi sonrası sakrifiye edilmesinin ardından çıkarılan karaciğer, böbrek ve kalp dokuları homojenizasyon işlemine kadar - 80 °C’de saklandı. Homojenizasyon işlemi için her bir dokudan 0.5 g örnek alınarak % 10’luk 150 mM fosfat tamponla (pH 7.4) yıkandı. Kurutma işleminin ardından doku örnekleri tekrar fosfat tamponla (% 10) homojenizatörde bir dakika süre ile 2.000 rpm devirde santrifüjlenerek homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C’de 12.000 rpm’de 10 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra süpernatantlar analiz işlemlerinde kullanıldı.

#### **3.2.2.2. Total protein analizi**

Total protein miktarı analizi antioksidan/oksidan parametrelerin hesaplanmasında kullanılan bir ara parametredir. Analiz Biüret metoduna göre total protein kiti (Archem Diagnostic Ind. Ltd., Türkiye) yardımıyla gerçekleştirildi. Mikrosantrifüj tüplerine her bir numune için kit solüsyonundan 1 ml eklendi. Vortekslenen süpernatantlardan her bir tüpe 10 µl eklendi. Spektrofotometrik tayin amacıyla 2 adet kör ve 1 adet standart hazırlandı. Kör gruba 1 ml total protein solüsyonu ve 10 µl distile su koyulurken, standart grup için 1 ml total protein solüsyonu ve 10 µl kit içerisindeki standart eklendi. Vorteksleme işleminin ardından tüm tüpler 30 °C’de 10 dakika süre ile etüvde inkübe edildi. Bu işlemin ardından spektrofotometrede kuartz kuvvetlerde (100 QS-10.00 mm, Hellma®) köre karşı 546 nm dalga boyunda okuma yapıldı. Elde edilen sonuçlar SOD, CAT, MDA ve GSH hesaplanmalarında kullanıldı.

#### **3.2.2.3. Süperoksit dismutaz (SOD) analizi**

SOD aktivitesi Sun ve ark’nın (1988) yöntemine göre ölçüldü. Ksantin, *ksantin oksidaz* enzimi aracılığı ile ürik aside dönüştürülürken meydana gelen süperoksit radikalleri nitro tetrazolium blue (NTB) varlığında reaksiyona girerek formazan (mor) boyası oluştururlar. SOD enzimi süperoksit radikallerini H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’ye dönüştürdüğü için formazan oluşumu ve dolayısı ile absorbans da azalır. SOD analizinde reaktif karışımı için 20 ml 10 kat sulandırılmış ksantin stok

çözeltisi, 10 ml EDTA, 10 ml NTB, 6 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 3 ml sığır albümini eklenip karıştırılarak toplam 49 ml reaktif karışımı hazırlandı. Süpernatantlardan 0.5 ml eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerine 250 µl absöü etanol ve 150 µl kloroform eklendi. +4 °C'de 12.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Cam tüplere 1.225 µl reaktif karışımı ve 250 µl numune ilave edildi. Spektrofotometrede kör için 1.225 µl reaktif karışımı üzerine 250 µl steril distile su ilave edildi. Vortekslenen tüplerin üzerine 25 µl *ksantin oksidaz* eklenerek 25 °C'de su banyosunda 20 dakika süre ile inkübe edildi. Ardından 0.5 ml Bakır II klorür (CuCl<sub>2</sub>) ilave edilerek spektrofotometrede kuartz küvetlerde köre karşı 532 nm dalga boyunda okunarak sonuçlar U/mg doku protein olarak hesaplandı.

#### **3.2.2.4. Katalaz (CAT) analizi**

CAT aktivitesi ölçümü için Aebi (1984) tarafından belirtilen yöntem kullanıldı. Bu yöntem CAT enzim aktivitesinin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in 240 nm'de H<sub>2</sub>O'ya dönüşümü sırasında absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Absorbansda gözlenen azalma hızı CAT enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır. 1/15 mmol/l (pH:7.0) fosfat tampon ve numune içeren küvetlerden birine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesiyle 240 nm absorbansda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'deki azalma 1 dakika boyunca spektrofotometrede kuartz küvetlerde kaydedildi. Elde edilen değerlerden katalaz enzim aktivitesi hesaplanarak k/mg doku protein olarak belirtildi.

#### **3.2.2.5. İndirgenmiş glutatyon (GSH) analizi**

GSH seviyesinin spektrofotometrik tayini Tietze (1969) çalışmasına göre gerçekleştirildi. GSH bulunduğu ortamdaki sülfidril gruplu bileşikler tarafından indirgenir. Bu reaksiyon sonucunda oluşan rengin şiddeti ile GSH aktivitesi arasında doğru orantı bulunmaktadır. Analiz amacıyla kör, standart ve numune tüpleri hazırlandı. Standart tüpe 200 µl standart, numune tüpüne 200 µl örnek konulduktan sonra her iki tüpe'de 1.8 ml steril saf su ve 3 ml presipitasyon solüsyonu eklendi. Kör tüpe ise 0.4 ml saf su ve 0.6 ml presipitasyon solüsyonu koyuldu. Hazırlanan solüsyonlar süzöldükten sonra 2 ml süzöntü alınarak üzerine 8 ml fosfat solüsyonu ve 1 ml steril distile su eklendi ve spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda ölçölerek sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı.

### 3.2.2.6. Malondialdehit (MDA) analizi

MDA analizi, serbest radikallerin hücre zarında meydana getirdiği lipid peroksidasyonunun sonuç ürünlerinden birisi olan MDA düzeyini saptamak için kullanılan bir yöntemdir. Yöntemlerin çoğu MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile verdiği reaksiyonu temel alır. MDA analizi MDA'nın asidik ortamda TBA ile oluşturduğu rengin 532 nm'de optik yoğunluğunun ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve ark. (1979) yöntemine göre yapıldı. Vorteks yardımıyla karıştırılan süpernatantlardan kapaklı cam tüplere 750 µl aktarıldı. Tüplerin üzerlerine 1.5 ml stok solüsyondan (100 ml distile suda 15 g trikoloroasetik asit, 0.37 g TBA ve % 30'luk HCl) eklendi ve vortekslenerek 20 dakika boyunca 100 °C'de kaynatıldı. Soğutma işleminin ardından tüpler 3.000 rpmde 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Ardından spektrofotometrede kuartz küvetlerde 532 nm dalga boyunda havaya karşı okuma yapıldı. Çıkan absorbans değerleri  $1.56 \times 10^5 / \text{M/cm}$  katsayısı ile çarpılarak, MDA konsantrasyonları nmol/mg doku protein şeklinde hesaplandı.

### 3.2.3. Hemogram ve Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için 2 ml kan örneği jelli biyokimya tüplerine alınırken, diğer 1 ml kan örneği ise hemogram analizi için antikoagülanlı (EDTA) tüplere konuldu. Hemogram testi ratlardan kanların alınmasını takiben ilk bir saat içerisinde Diatron® Abacus Junior 30 otoanalizöründe tahlil edildi. Hemogram tahlillerinde tam kan içerisindeki WBC (lökosit sayısı), LYM (lenfosit sayısı), MONO (monosit), GRA (granülosit), LY% (lenfosit yüzdesi), MONO% (monosit yüzdesi), GR% (granülosit yüzdesi), RBC (eritrosit sayısı), HGB (hemoglobin), HCT (hemotokrit), MCV (ortalama hücre hacmi), MCH (ortalama hücre hemoglobini), MCHc (ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu), RDWc (eritrosit dağılım genişliği konsantrasyonu), PLT (trombosit sayısı), PCT (platelet sayısı/diğer hücre % oranı), MPV (platelet/hücre sayısı oranı), PDWc (platelet dağılım genişliği) parametrelerine ait değerler belirlendi. Biyokimyasal analiz amacıyla detayları 3.1.1. bölümünde belirtilen şekilde tam kan numunelerinden öncelikle serumlar izole edildi ve analiz aşamasına kadar -80 °C'de saklandı. Biyokimyasal analizler Roche® Cobas c501 otoanalizör cihazı ve Roche® kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Rat kanlarında biyokimyasal analiz olarak üre, ürik asit, kreatinin, AST, Alanin aminotransferaz (ALT), CK, Kreatinin kinaz izoenzim 3 (CK-MB), Gamma glutamil transferaz (GGT), direkt bilirubin ve total bilirubin değerleri saptandı.

### 3.2.4. Sitokin (TNF- $\alpha$ ve IL-6) Analizleri

Tam kandan izole edilen ve analiz aşamasına kadar -80 °C’de muhafaza edilen rat serum örneklerinden IL-6 ve TNF- $\alpha$  analizleri, ELISA testi (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay-enzim ilişkili bağışıklık testi) aracılığı ile gerçekleştirildi. Analizde Thermo Fisher Scientific® Multiskan Sky Microplate Spektrofotometre cihazı ve Thermofisher® (Thermofisher Scientific, Massachussets-ABD) kitleri (TNF- $\alpha$  kit katalog no: KRC3011; IL-6 kit katalog no: BMS625) kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, version 22.0) programı yardımıyla değerlendirildi. Rat ağırlıklarındaki değişimler, hemogram, sitokin, biyokimya ve comet analizi sonuçlarına ait veriler ortalama  $\pm$  standart hata ( $X \pm SE$ ) şeklinde verildi. Elde edilen parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi; varyansların homojenitesi ise Levene’s testi uygulanarak belirlendi. Rat ağırlıklarının grup içi tekrarlanan ölçümlerinin değerlendirmesinde Friedman Testi kullanıldı. Comet analizi, antioksidan/oksidan parametrelerin analizleri, hemogram ve ELISA testleri ile biyokimyasal analizlerde gruplar arasındaki istatistiksel değerlendirmeler, veriler normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis testi ile gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesi amacıyla Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı.  $p < 0.05$  değerler anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Canlı Ağırlık Ölçüm Sonuçları

Grupların belirlendiği günden (0.gün) ratların sakrifiye edilerek çalışmanın sonlandırıldığı güne kadar (35. gün) haftalık olarak yapılan ağırlık ölçümlerine ait bulgular ve istatistiksel analizi Tablo 12’de sunulmuştur.

**Tablo 12.** Ratlara ait haftalık ağırlık (g) ölçümü sonuçları ( $X \pm SE$ )

Grup (n=8)	0.gün	7. gün	14. gün	21. gün	28. gün	35. gün	P* X <sup>2</sup>
K	210.0±2.5 <sup>a</sup>	216.1±4.3 <sup>a</sup>	224.5±4.0 <sup>a,d</sup>	232.1±4.8 <sup>a</sup>	240.0±5.2 <sup>a</sup>	247.7±6.3 <sup>a</sup>	<0.001 39.014
E	209.2±3.1 <sup>a</sup>	212.6±2.8 <sup>a</sup>	214.8±2.3 <sup>a,c</sup>	218.8±2.2 <sup>b</sup>	223.5± 2.2 <sup>b</sup>	222.3±4.7 <sup>b</sup>	<0.001 35.180
S	218.5±4.7 <sup>a</sup>	221.1±4.8 <sup>a</sup>	223.6±3.9 <sup>a</sup>	225.2±3.0 <sup>a,c</sup>	228.3±2.1 <sup>c</sup>	228.0±5.2 <sup>c</sup>	<0.05 18.157
ES	216.5±1.3 <sup>a</sup>	221.3±2.9 <sup>a</sup>	217.1±2.6 <sup>a</sup>	212.6±2.1	206.2±2.0	200.2±2.0	<0.001 36.025
EO	207.3±1.1 <sup>a</sup>	209.7±2.0 <sup>a</sup>	214.2±2.3 <sup>b,c</sup>	217.3±2.8 <sup>b</sup>	228.0±3.4 <sup>b</sup>	235.0±4.5 <sup>a,b</sup>	<0.001 37.929
SO	209.1±2.9 <sup>a</sup>	212.8±2.6 <sup>a</sup>	214.3±3.6 <sup>b</sup>	219.2±3.4 <sup>c</sup>	225.1±3.5 <sup>c</sup>	232.8±3.6 <sup>c</sup>	<0.001 36.577
ESO	215.5±3.2 <sup>a</sup>	218.7±3.3 <sup>a</sup>	227.8±3.2 <sup>d</sup>	232.0±3.5 <sup>a</sup>	236.5±3.2 <sup>a</sup>	241.2±4.1 <sup>a</sup>	<0.001 38.000
p**	>0.05	>0.05	<0.05	<0.001	<0.001	<0.001	
X <sup>2</sup>	11.266	10.616	15.524	22.423	31.647	30.044	

Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+siklofosfamid+oleuropein; \*Grup içerisinde zamana göre ağırlık değişimlerine ait Friedman testi sonuçları; \*\*Gruplar arası zamana göre ağırlık değişimlerine ait Kruskal-Wallis analizi sonuçları. Kruskal-Wallis analizinin ikili gruplararası karşılaştırmaları kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı sütunda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

Elde edilen verilerden çalışma başlangıcında ve 7. günde yapılan ilk ilaç uygulaması öncesinde rat ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel bir fark olmadığı ( $p>0.05$ ) belirlendi. ES grubunda çalışma sonunda başlangıca göre anlamlı ağırlık azalması ( $p<0.001$ ) olurken diğer



tüm gruplarda ağırlıkta anlamlı artış olduğu ( $p<0.001$ ) saptandı. Ağırlık ölçümlerinin gruplararası fark analizi sonucu K grubu ile E, S, ES ve SO grupları arasındaki önemli farklılık olduğu ( $p<0.05$ ); EO ve ESO gruplarıyla ise aralarında anlamlılık bulunmadığı ( $p>0.05$ ) belirlendi. Çalışma sonu ağırlıklarına göre ES ile ESO grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ( $p<0.001$ ) ancak E ile EO ve S ile SO grupları arasındaki anlamlı fark bulunmadığı ( $p>0.05$ ) saptandı. Çalışma sonunda ölçülen rat ağırlıklarından yalnızca kombinasyon tedavisi uygulanan grupta (ES) başlangıca göre kilo kaybı olduğu ( $p<0.001$ ); diğer tüm gruplarda ise ( $p<0.05$  veya  $p<0.001$ ) ağırlık artışı olduğu belirlendi. Çalışmada benzer şekilde E grubu ile EO ve S grubu ile SO grupları aralarında anlamlı farklılık bulunmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).

#### 4.2. Comet Analizi

Deney gruplarında comet analizi sonucu elde edilen kuyruk momenti (tail moment) ve % kuyruk yoğunluğu (% tail intensity) değerleri ( $X \pm SE$ ) ile Kruskal-Wallis testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunan parametrelerde farklılığın kaynaklandığı grupların tespiti amacıyla yapılan Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 13'de sunulmuştur.

**Tablo 13.** Deney gruplarına ait comet analizi sonuçları ( $X \pm SE$ )

Grup (n=8)	Kuyruk momenti	% Kuyruk yoğunluğu
<b>K</b>	1.02 ±0.21	5.08 ±0.99
<b>E</b>	3.33±0.57 <sup>a</sup>	9.42±1.19 <sup>a</sup>
<b>S</b>	3.44±0.34 <sup>b</sup>	10.91±0.68 <sup>b</sup>
<b>ES</b>	9.75±2.11	26.44±3.56
<b>EO</b>	3.09±0.46 <sup>a</sup>	9.44±0.89 <sup>a</sup>
<b>SO</b>	4.03±0.46 <sup>b</sup>	10.65±1.07 <sup>b</sup>
<b>ESO</b>	2.87±0.58	10.01±1.20
<b>p</b>	$p<0.001$	$p<0.001$
<b>X<sup>2</sup></b>	26.505	29.086

Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+siklofosfamid+oleuropein. Gruplararası karşılaştırmalar kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı sütunda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

Tablo 13'deki verilerden antineoplastik ajanların kombine uygulanması (ES grubu) sonucu oluşan oksidatif DNA hasarının ilaçların ayrı ayrı uygulanması (E ve S grupları) sonucu görülen hasarın iki katından daha fazla olduğu saptanmıştır. Sonuçlara göre ayrı ayrı (E ve S) veya kombine tedavi (ES) şeklinde antineoplastik ajan uygulanan tüm gruplarda ve bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma gruplarında (EO, SO ve ESO), DNA hasar miktarı K grubuna göre anlamlı derecelerde ( $p < 0.05$  veya  $p < 0.001$ ) yüksek bulunmuştur. Diğer bir deyişle oleuropein, antineoplastik ajanların etkisiyle oluşan DNA hasarını K grubu seviyesine benzer düzeye indirgeyememiştir. E-EO ve S-SO karşılaştırma gruplarında kuyruk momentleri ve yoğunlukları bakımından aralarında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ). Ancak, ES grubunda gözlemlenen oksidatif stres kaynaklı yoğun DNA hasarının ESO grubunda gerek kuyruk momentleri gerekse kuyruk yoğunlukları parametreleri açısından önemli oranda azaldığı ( $p < 0.001$ ) saptanmıştır.

#### 4.3. Antioksidan ve Oksidan Parametrelerin Analizleri

Deney gruplarına ait kalp, böbrek ve karaciğer dokularında ölçülen antioksidan/oksidan parametrelere ait değerler ( $X \pm SE$ ) ve bu değerlerin Kruskal- Wallis testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunan parametrelerde farklılığın kaynaklandığı grupları tespit için yapılan Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 14'de verilmiştir.

**Tablo 14.** Doku örneklerine ait SOD, CAT, GSH ve MDA değerleri ( $X \pm SE$ )

Doku/Parametre* K	Gruplar (n=8)							p
	E	S	ES	EO	SO	ESO	X <sup>2</sup>	
<b>Kalp</b>								
SOD	7.04 $\pm 0.22^a$	6.39 $\pm 0.09^b$	5.36 $\pm 0.77^c$	3.40 $\pm 0.29$	6.44 $\pm 0.11^b$	6.16 $\pm 0.12^c$	6.74 $\pm 0.06^a$	$p < 0.001$ 28.420
CAT	3.88 $\pm 0.44$	1.86 $\pm 0.24^a$	1.75 $\pm 0.19^b$	1.68 $\pm 0.07^c$	2.28 $\pm 0.23^a$	1.69 $\pm 0.16^b$	1.74 $\pm 0.14^c$	$p < 0.001$ 21.767
GSH	13.70 $\pm 0.89^a$	9.58 $\pm 0.79$	9.88 $\pm 0.90$	9.43 $\pm 0.81$	14.37 $\pm 1.27^a$	13.70 $\pm 1.07^a$	13.47 $\pm 0.48^a$	$p < 0.001$ 23.871
MDA	70.08 $\pm 2.15^a$	93.65 $\pm 2.71$	90.88 $\pm 4.75$	99.98 $\pm 2.72$	75.99 $\pm 2.54^a$	76.93 $\pm 5.83^a$	77.92 $\pm 1.95^a$	$p < 0.001$ 32.860

**Tablo 14.** Doku örneklerine ait SOD, CAT, GSH ve MDA değerleri (X ± SE) (Devamı)

Doku/Parametre*	Gruplar (n=8)							p
	K	E	S	ES	EO	SO	ESO	
<b>Böbrek</b>								
SOD	7.40 ±0.07 <sup>a</sup>	6.69 ±0.09	6.31 ±0.43	5.96 ±0.09	7.24 ±0.14 <sup>a</sup>	7.10 ±0.10	7.16 ±0.08 <sup>a</sup>	p<0.001 36.481
CAT	3.74 ±0.68 <sup>a</sup>	6.80 ±0.62	6.29 ±0.48	4.95 ±0.78 <sup>a</sup>	2.82 ±0.31 <sup>a</sup>	3.65 ±0.36 <sup>a</sup>	2.49 ±0.27 <sup>a</sup>	p<0.001 30.219
GSH	20.43 ±0.89	13.77 ±0.95	11.90 ±1.07	8.98 ±1.07	17.07 ±1.02	16.62 ±1.06	16.39 ±0.93	p<0.001 33.858
MDA	49.11 ±1.04 <sup>a</sup>	61.10 ±3.31 <sup>b</sup>	70.87 ±3.20	74.62 ±3.70	54.38 ±2.06 <sup>b</sup>	60.34 ±2.83	52.30 ±1.01 <sup>a</sup>	p<0.001 32.409
<b>Karaciğer</b>								
SOD	7.04 ±0.22 <sup>a</sup>	6.39 ±0.09	5.36 ±0.77	6.54 ±0.06	7.49 ±0.07 <sup>a</sup>	7.27 ±0.05	7.37 ±0.06 <sup>a</sup>	p<0.001 41.283
CAT	3.88 ±0.44 <sup>a</sup>	1.86 ±0.24 <sup>a</sup>	1.75 ±0.19 <sup>a,b</sup>	6.18 ±0.51 <sup>a</sup>	7.90 ±1.24 <sup>a</sup>	21.34 ±6.00 <sup>b</sup>	15.07 ±2.74 <sup>a</sup>	p<0.05 20.521
GSH	13.70 ±0.89 <sup>a</sup>	9.58 ±0.79	9.88 ±0.90	11.90 ±0.83	21.78 ±1.20 <sup>a</sup>	19.76 ±1.27	19.98 ±0.72 <sup>a</sup>	p<0.001 33.699
MDA	70.08 ±2.15	93.65 ±2.71	90.88 ±4.75 <sup>a</sup>	88.25 ±2.67	72.01 ±0.93	77.54 ±2.07 <sup>a</sup>	78.39 ±2.84	p<0.001 31.320

\*Birimler MDA için nmol/mg protein, GSH için mg/g protein, CAT için k/mg protein ve SOD için U/mg proteindir. Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+siklofosfamid + oleuropein. Gruplararası karşılaştırmalar kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılıkları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı satırda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

Yukarıda verilen sonuçlara göre kalp dokusunda SOD aktivitesi bakımından kombinasyon tedavisi grubu (ES) ile oleuropein uygulanan karşılaştırma grubu (ESO) arasında anlamlı farklılık bulunduğu (p<0.05); diğer taraftan ESO grubu ile kontrol grubu arasında ise anlamlı fark bulunmadığı (p>0.05) saptanmıştır. Ayrıca E ve S grupları ile bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları arasında da anlamlı bir farklılık bulunmadığı saptanmıştır (p>0.05). Kalp dokusunda CAT aktivitesi açısından kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı farklılık bulunduğu (p<0.05); E, S, ES grupları ile bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları arasında ise önemli bir fark bulunmadığı belirlenmiştir (p>0.05). Çalışma sonucunda kalp dokusunda MDA ve GSH ölçüm sonuçlarının birbiri ile paralel olduğu

saptanmıştır. Kalp dokusunda MDA ve GSH analizleri yönünden kontrol grubu ile E, S ve ES grupları arasında istatistiksel fark bulunurken ( $p<0.05$ ); kontrol grubu ile oleuropein uygulanan deney grupları (EO, SO ve ESO) arasında fark bulunmadığı ( $p>0.05$ ) saptandı. Diğer taraftan E ile EO, S ile SO ve ES ile ESO grupları arasında istatistiksel fark olduğu ( $p<0.05$ ) belirlenmiştir.

Böbrek dokusunda yapılan analizlerde SOD ve CAT parametreleri açısından kontrol grubu ile E, S ve ES grupları arasında önemli farklılık ( $p<0.05$ ) bulunurken; bu grupların oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları (EO, SO, ESO) ile kontrol grubu arasında genel olarak önemli fark bulunmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ). Deney gruplarının ikili karşılaştırmalarında oleuropein uygulanan gruplarda, uygulanmayan gruplara göre SOD ve CAT seviyelerinde anlamlı derecede artış olduğu görülmektedir. Böbrek dokusunda gerçekleştirilen GSH analizinde E, S ve ES grupları ile bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları arasında; ayrıca kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında anlamlı farklılıklar bulunduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Sonuçlar oleuropeinin böbrek dokusunda GSH seviyesini artırarak epirubisin ve siklofosamid uygulaması yoluyla indüklenen oksidatif strese karşı koruyucu etki sağladığını ancak bu seviyenin kontrol grubuna eş düzeylere ulaşmadığını göstermektedir. Böbrek dokusunda yapılan MDA analizinde ise kontrol grubu ve ESO grubu arasında önemli bir farklılık bulunmazken ( $p>0.05$ ), ES ve ESO grupları arasında istatistiksel farklılık bulunduğu ( $p<0.05$ ) saptanmıştır.

Karaciğer dokusunda gerçekleştirilen GSH, SOD ve CAT antioksidan parametre analizlerinden elde edilen sonuçların genel olarak birbiri ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. E, S ve ES grupları ile bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma gruplarında (sırası ile EO, SO ve ESO) GSH, SOD ve CAT seviyeleri bakımından genel olarak oleuropein uygulanan gruplar lehine anlamlı oranda bir artış bulunduğu saptanmıştır. Karaciğerde GSH, SOD ve CAT aktivitesi yönünden kontrol grubuna göre EO ve ESO grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ( $p>0.05$ ); diğer tüm gruplarla ise anlamlı derecede farklılıklar bulunduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ ). Çalışma sonucunda oksidatif hasarın büyüklüğü ile doğru orantılı olan MDA miktarı bakımından oleuropeinin oksidatif hasar seviyesini hiçbir grupta kontrol seviyesine kadar indiremediği belirlenmiştir. Diğer taraftan antineoplastik ilaç uygulanan E, S ve ES gruplarına göre bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma gruplarında MDA seviyelerinin önemli oranda azaldığı saptanmıştır.

#### 4.4. Hemogram Bulguları

Hemogram analizleri sonucunda MONO, GRA, MONO%, GR%, RDWc, PCT, MPV ve PDWc parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığın bulunmadığı ( $p>0.05$ ) belirlenmiştir. Deney grupları arasında farklılık bulunan parametrelere ait hemogram değerleri, Kruskal-Wallis testi sonuçları ve farklılığın kaynaklandığı grupları tespit için yapılan Bonferroni düzeltilmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 15’de verilmiştir.

**Tablo 15.** Deney gruplarına ait hemogram değerleri ( $X \pm SE$ )

Parametre	Gruplar (n=8)							P X <sup>2</sup>
	K	E	S	ES	EO	SO	ESO	
<b>WBC</b>	6.02 $\pm 0.14^a$	3.45 $\pm 0.10$	3.41 $\pm 0.53$	3.10 $\pm 0.17$	4.65 $\pm 0.13$	5.73 $\pm 0.35^a$	5.70 $\pm 0.10^a$	$p<0.001$ 40.491
<b>LYM</b>	3.53 $\pm 0.15^a$	1.98 $\pm 0.31$	1.83 $\pm 0.18$	1.71 $\pm 0.15$	3.54 $\pm 0.14^a$	3.42 $\pm 0.07^a$	3.37 $\pm 0.22^a$	$p<0.001$ 34.950
<b>LY%</b>	73.86 $\pm 6.16^a$	56.38 $\pm 6.06^b$	47.04 $\pm 6.20^c$	44.70 $\pm 5.33^d$	70.24 $\pm 5.43^{a,b}$	58.91 $\pm 8.02^c$	59.49 $\pm 6.06^d$	$p<0.05$ 17.538
<b>RBC</b>	6.94 $\pm 0.12^a$	5.76 $\pm 0.28$	5.91 $\pm 0.13$	5.58 $\pm 0.40$	6.70 $\pm 0.10^a$	6.77 $\pm 0.17^a$	6.57 $\pm 0.11$	$p<0.001$ 31.528
<b>HGB</b>	11.70 $\pm 0.17^a$	9.66 $\pm 0.47$	10.73 $\pm 0.31$	9.41 $\pm 0.35$	11.25 $\pm 0.11$	11.77 $\pm 0.16$	11.64 $\pm 0.18^a$	$p<0.001$ 35.829
<b>HCT</b>	40.85 $\pm 0.97^a$	33.99 $\pm 1.53$	36.80 $\pm 1.19$	33.07 $\pm 1.92$	39.40 $\pm 0.48^a$	43.15 $\pm 1.31^a$	36.80 $\pm 2.53$	$p<0.001$ 33.134
<b>MCV</b>	58.00 $\pm 0.27^a$	59.13 $\pm 0.40^{a,b}$	65.13 $\pm 2.06^c$	59.88 $\pm 1.59^{a,d}$	58.75 $\pm 0.37^{a,b}$	64.00 $\pm 1.91^c$	61.25 $\pm 1.49^d$	$p<0.05$ 17.034
<b>MCH</b>	17.03 $\pm 0.15^a$	21.99 $\pm 5.15^{a,b}$	23.73 $\pm 5.34^c$	17.26 $\pm 0.44^{a,d}$	16.61 $\pm 0.17^{a,b}$	17.65 $\pm 0.38^{a,c}$	17.24 $\pm 0.43^{a,d}$	$p<0.05$ 13.259
<b>MCHC</b>	29.28 $\pm 0.25^a$	28.36 $\pm 0.20^b$	28.08 $\pm 0.30^c$	28.83 $\pm 0.25^{a,d}$	28.24 $\pm 0.17^b$	27.71 $\pm 0.39^c$	28.23 $\pm 0.34^d$	$p<0.05$ 14.908
<b>PLT</b>	705.48 $\pm 29.82^a$	509.37 $\pm 61.76$	483.63 $\pm 43.41$	674.50 $\pm 57.80^a$	860.63 $\pm 35.20$	675.25 $\pm 46.45^a$	1006.38 $\pm 39.08$	$p<0.001$ 33.510

Birimler: wbc, lym, mono, gra ve plt için  $10^9/l$ ; rbc için  $10^{12}/l$ ; mcv ve mpv için fl’dir. Diğer parametreler ise yüzde (%) olarak verilmiştir. Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+ siklofosfamid+oleuropein. Gruplararası karşılaştırmalar kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılıkları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı satırda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

Tablo 15’de sunulan sonuçlardan, tek başlarına ya da kombine olarak antineoplastik ilaç uygulanan gruplarda hemogram değerlerinin çoğunda bozulma olduğu ve kontrol grubu ile

aralarında anlamlı farklılıklar ( $p<0.05$  veya  $p<0.001$ ) bulunduğu görülmektedir. WBC, LYM, RBC, HGB, HCT ve PLT parametrelerinin tümünde E, S ve ES grupları ile bunların oleuropein uygulanan karşılaştırma grupları (EO, SO ve ESO) arasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$  veya  $p<0.001$ ) bulunduğu saptanmıştır. Diğer taraftan, hemogram parametrelerinin antineoplastik ilaç+oleuropein uygulanan gruplarda salt antineoplastik ilaç uygulanan gruplara göre kontrol grubu değerlerine daha yakın olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda kontrol grubu ile antineoplastik ilaç+oleuropein uygulanan gruplar arasında çoğu parametre (LY%, RBC, HCT, MCV, MCHc, PLT) açısından anlamlı farklılık bulunmasına rağmen, Tablo 15’de sunulan bazı parametreler (WBC, LYM, HGB, MCH) bakımından ise anlamlı farklılık bulunmadığı ( $p>0.05$ ) saptanmıştır.

#### **4.5. Biyokimyasal Analiz Sonuçları**

Biyokimyasal analiz sonucunda üre, GGT, direkt bilirubin ve CK parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı ( $p>0.05$ ) belirlenmiştir. Deney grupları arasında farklılık bulunan parametrelere ait biyokimyasal analiz değerleri ve Kruskal-Wallis testi sonuçları ile farklılığın kaynaklandığı grupları tespit için yapılan Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 16’da sunulmuştur.

**Tablo 16.** Deney gruplarına ait biyokimyasal analiz değerleri (X ± SE)

Parametre	Gruplar (n=8)							p X <sup>2</sup>
	K	E	S	ES	EO	SO	ESO	
<b>Kreatinin</b>	0.46 ±0.01 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.49 ±0.03 <sup>a,b</sup>	0.51 ±0.02 <sup>a</sup>	0.51 ±0.019 <sup>a</sup>	0.48 ±0.02 <sup>a,b</sup>	0.58 ±0.04	<i>p</i> <0.05 17.707
<b>Ürik asit</b>	1.31 ±0.12	1.93 ±0.20 <sup>a</sup>	2.32 ±0.16 <sup>b</sup>	2.51 ±0.25 <sup>c</sup>	2.05 ±0.08 <sup>a</sup>	2.08 ±0.29 <sup>b</sup>	2.55 ±0.23 <sup>c</sup>	<i>p</i> <0.05 20.705
<b>AST</b>	169.63 ±10.60 <sup>a</sup>	211.87 ±15.20	219.25 ±12.40	210.88 ±10.74	141.00 ±8.08 <sup>a</sup>	135.88 ±9.57	152.38 ±10.46 <sup>a</sup>	<i>p</i> <0.001 32.313
<b>ALT</b>	54.25 ±1.99 <sup>a</sup>	63.25 ±1.44	62.38 ±2.52	64.63 ±1.76	48.25 ±1.76	52.13 ±1.57 <sup>a</sup>	52.88 ±2.49 <sup>a</sup>	<i>p</i> <0.001 32.844
<b>Total bilirubin</b>	0.03 ±0.01 <sup>a</sup>	0.03 ±0.01 <sup>a,b</sup>	0.06 ±0.01 <sup>c</sup>	0.03 ±0.01 <sup>a,d</sup>	0.02 ±0.01 <sup>a,b</sup>	0.04 ±0.01 <sup>c</sup>	0.03 ±0.01 <sup>a,d</sup>	<i>p</i> <0.05 19.559
<b>CK-MB</b>	1207.30 ±50.40 <sup>a</sup>	1287.50 ±84.95 <sup>a</sup>	746.75 ±76.42	819.25 ±52.11 <sup>b</sup>	893.88 ±52.92	987.13 ±115.71	792.88 ±60.37 <sup>b</sup>	<i>p</i> <0.001 27.203

Birimler kreatinin, ürik asit ve total bilirubin için mg/dl; AST, ALT ve CK-MB için U/L olarak verilmiştir. Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+siklofosfamid+oleuropein. Gruplararası karşılaştırmalar kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılıkları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı satırda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.

Karaciğer hasarının önemli biyokimyasal göstergeleri olan ALT ve AST değerleri klinik açıdan bakıldığında gruplar arasında önemli sayılabilecek düzeyde bir fark göstermemektedir. İstatistiksel açıdan bakıldığında ise oleuropein+antineoplastik ilaç uygulanan gruplarda salt antineoplastik ilaç uygulanan gruplara göre AST ve ALT değerlerinde önemli derecede (*p*<0.05) düşme olduğu, ancak; oleuropein+antineoplastik ilaç uygulanan gruplarla kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark bulunmadığı (*p*>0.05) saptanmıştır. Ürik asit değeri bakımından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında önemli farklılıklar bulunduğu (*p*<0.05); diğer taraftan oleuropein+antineoplastik ilaç uygulanan gruplarda salt antineoplastik ilaç uygulanan gruplara göre önemli bir azalma (*p*>0.05) olmadığı belirlenmiştir. Total bilirubin miktarı bakımından ise oleuropein uygulamasının grupların çoğunda anlamlı bir fark oluşturmadığı (*p*>0.05) belirlenmiştir.

#### 4.6. Sitokin Analizi (TNF- $\alpha$ ve IL-6) Sonuçları

Deney gruplarına ait ELİSA testi değerleri ve Kruskal-Wallis analizi sonuçları ile gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan parametrelerde farklılığın kaynaklandığı grupların tespiti için yapılan Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi sonuçları Tablo 17’de sunulmuştur. Sonuçlara göre tekli ya da kombine halde uygulanan antineoplastik ajanların serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerini kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttırdığı ( $p < 0.001$ ) saptanmıştır. Diğer taraftan antineoplastik ajanlarla eş zamanlı 150 mg/kg/hafta dozunda uygulanan oleuropeinin antineoplastik ajanlar nedeniyle artan TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerini kontrol grubuna yakın seviyelere ( $p > 0.05$ ) indirebildiği belirlenmiştir.

**Tablo 17.** Deney gruplarına ait serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 değerleri ( $X \pm SE$ )

Grup (n=8)	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)
<b>K</b>	7.20 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	9.20 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>
<b>E</b>	8.10 $\pm$ 0.18	11.00 $\pm$ 0.30
<b>S</b>	8.50 $\pm$ 0.12	12.00 $\pm$ 0.22
<b>ES</b>	9.50 $\pm$ 0.16	13.60 $\pm$ 0.40
<b>EO</b>	7.40 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	9.40 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>
<b>SO</b>	7.50 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	9.94 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
<b>ESO</b>	7.60 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	10.08 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
<b>p</b>	$p < 0.001$	$p < 0.001$
<b>X<sup>2</sup></b>	38.405	38,792

Grup ismi kısaltmaları: K: kontrol, E: epirubisin, S: siklofosfamid, ES: epirubisin+siklofosfamid, EO: epirubisin+ oleuropein, SO: siklofosfamid+oleuropein, ESO: epirubisin+siklofosfamid+oleuropein. Gruplararası karşılaştırmalar kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında ve salt antineoplastik uygulanan gruplar ile antineoplastik+oleuropein uygulanan karşılıkları (E-EO, S-SO ve ES-ESO) arasında yapılmıştır. Aynı sütunda yer alan aynı üst karakter harflere sahip değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulunmamaktadır.



## 5. TARTIŞMA

Antioksidan bileşikler geçmişe kıyasla günümüzde daha sık karşılaşılmaya başlanan kanser hastalığının tedavisinde kullanılan çeşitli ilaçların yıkıcı yan etkilerine karşı gösterdikleri koruyucu etkileri nedeniyle araştırmacılar tarafından son yıllarda yoğun olarak araştırılmaktadır (Chikara ve ark, 2018). Çalışmamızda meme tümörlerinin sağaltımında kullanılan epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon tedavisine bağlı toksik etkilerin azaltılmasında oleuropeinin etkinliği sağlıklı dişi ratlar kullanılarak araştırılmıştır. Epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon tedavisi sırasında meydana gelen kusma, iştahsızlık, anoreksi ve nötropeni gibi yan etkilere bağlı kilo kaybı sık karşılaşılan bir durumdur (Ejlertsen, 2016). Araştırmamızda ES grubunda kilo kaybı görülürken, ESO grubunda sağlıklı kontrol grubuna yakın bir ağırlık artışı tespit edilmiştir. Bu durum oleuropeinin kombinasyon tedavisi sırasında görülen yan etkiler nedeniyle meydana gelebilecek kilo kaybını önlemede yardımcı olabileceğine işaret etmektedir. Erkek Wistar ratlarla yapılan bir çalışmada sekiz hafta süresince yağlı diyetle beslenen ve gavajla 50 mg/kg oleuropein verilen grubun yine yağlı diyetle beslenen ancak oleuropein verilmeyen gruba göre daha az kilo aldığı ( $p<0.05$ ) belirtilmiştir. Oleuropein uygulanan ratlardaki kilo artışının standart rat diyeti uygulanan grupla benzer ( $p>0.05$ ) olduğu bildirilmiştir (Hadrich ve ark, 2016). Swiss albino erkek ratlara bisfenol A (BPA) ve oleuropein uygulanarak gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise oleuropein+BPA verilen grupta yalnız BPA verilen gruba göre anlamlı derecede ( $p<0.05$ ) daha az kilo alımı olduğu belirtilmiştir (Mahmoudi ve ark, 2018). Araştırmamızdan ve diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında oleuropein uygulamasının her durumda kilo kaybedilmesine neden olan bir bileşik olmaktan ziyade kilo kaybı veya alımı üzerindeki çeşitli mekanizmalar üzerinde düzenleyici bir rol oynadığı düşünülmüştür.

Rat lenfositlerinin DNA'larında oksidatif stres kaynaklı hasarın belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen comet analizi sonuçları kombinasyon kemoterapisi nedeniyle oluşabilecek DNA hasarını azaltmada oleuropeinin faydalı olabileceğini göstermektedir. Yapılan literatür taramasında oleuropein, epirubisin ve siklofosfamidin üçünün birlikte veya ikili kombinasyonlar halinde uygulandığı herhangi bir insan veya hayvan çalışmasında comet analizi ile ilgili veriye rastlanılmamıştır. Bu nedenle elde edilen veriler çeşitli zeytinyağı ve

zeytin (yaprak, meyve, öğütme atık suyu) ekstraları ile hidroksitirozolün farelerde ve çeşitli insan hücre tiplerinde gerçekleştirilen comet analizlerinin sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin ile oksidatif stres oluşturulan insan periferik mononükleer kan hücrelerinde hidroksitirozolün etkilerinin comet yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada hidroksitirozolün güçlü antioksidan aktivite göstererek oksidatif hasar seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Ilavarasi ve ark, 2011). Aynı araştırmacı ve ekibinin hidroksitirozol yerine zeytinyağı kullanarak tekrarladığı çalışmada zeytinyağının da dioksin toksisitesine karşı DNA hasarı önleyici etkisi olduğu saptanmıştır (Ilavarasi ve ark, 2014). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksidatif stres indüklenen insan periferik mononükleer kan hücrelerinde hidroksitirozol uygulanan diğer bir comet analizi çalışması sonucunda, hidroksitirozolün oksidatif hasar seviyesini kontrol grubuna yakın seviyede azalttığı bildirilmiştir (Rosignoli ve ark, 2016). Balb/c farelere 40 ve 80 mg/kg dozlarında hidroksitirozol ön uygulamasının ardından i.p. lipopolisakkarit uygulanarak oksidatif stresin indüklendiği bir başka çalışmada hidroksitirozolün plazmanın antioksidan kapasitesini arttırdığı ve lipopolisakkarit kaynaklı oksidatif strese bağlı hasarı önlediği belirtilmiştir (Fuccelli ve ark, 2018). 1,3-butadien ve stiren-7,8-oksit uygulaması yoluyla oksidatif stres oluşturulan, ardından 1 µg/ml total fenolik madde konsantrasyonuna sahip zeytinyağı uygulanan insan periferik mononükleer kan hücrelerinde gerçekleştirilen comet analizi sonucunda zeytinyağının 1,3-butadien ve stiren-7,8-oksit kaynaklı oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (Fuccelli ve ark, 2014). Zeytin yaprağı, zeytin meyvesi, zeytinyağı ve zeytin değirmeni atık suyu ekstralarının insan T lenfosit hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen oksidatif strese karşı etkinliklerinin incelendiği bir çalışmada özellikle zeytinyağı ve zeytin değirmeni atık suyunun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen oksidatif strese bağlı hasarı azaltmada oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir. Ancak, konsantrasyonlarının 100 µg/ml'nin üzerine çıktığı ve ortamda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bulunmadığı şartlarda bu maddelerin kendilerinin de DNA hasarına neden olabildiği belirtilmiştir. Zeytin yaprağı ve meyvelerinin de DNA hasarına karşı koruyucu etkilerinin olduğu, ayrıca; zeytinyağı-zeytin atık suyu örneğinde olduğu gibi ortamda tek başlarına buldukları durumlarda kendilerinin de DNA hasarı yapabildikleri bildirilmiştir (Nousis ve ark, 2005). Oleuropeince zengin kuru zeytin yaprağı ekstrasının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve L-Tiroksin aracılığı ile oluşturulan oksidatif stres kaynaklı DNA hasarına karşı etkinliğinin comet yöntemi ile araştırıldığı bir çalışmada oksidatif stresin indüklenmesinin hem öncesi hem de sonrasında uygulanan zeytin yaprağı ekstralarının her iki durumda da DNA hasarını önemli derecede azalttığı belirtilmiştir (Topalović ve ark, 2015). Zeytin meyvesi, zeytin yaprağı ve zeytinyağından elde edilen çeşitli fenolik ekstraların her üçünün de 2-amino-1-metil-6-

fenilimidazo[4,5-b]pridin, 2-amino-3- metil -3H-imidazo[4,5-f]kinolin, 2-amino-3,8-dimetilimidazo[4,5-f]kinoksalin ve 2-amino-3,4,8-trimetil-3H-imidazo[4,5-f] kinoksalin gibi çeşitli toksik ajanlar kullanılarak oksidatif stres yaratılan insan periferel mononükleer kan hücrelerinde gerçekleştirilen comet analizi çalışmalarında her üç fenolik ekstrenin de düzenli sızma zeytinyağı tüketimi ile insan dokularında kolayca ulaşılabilen düşük konsantrasyonlarda (0.1 – 1.0 µM fenolik bileşik) DNA hasarı önleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (Fuccelli ve ark, 2018).

Çalışmaların sonuçlarından anlaşıldığı üzere değişik miktarlarda oleuropein içeren çeşitli zeytin ürünü ekstraları (yaprak, meyve, değirmen atık suyu ve zeytinyağı) pek çok farklı oksidatif stres indükleyicisi bileşiğe karşı oksidatif hasarı azaltmada başarılı olmuşlardır. Ancak, yüksek saflıkta oleuropeinin kullanıldığı çalışmamızda EO ve SO gruplarında E ve S gruplarına göre anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0.05$ ). Diğer yandan DNA hasar seviyesinin daha fazla olduğu kombinasyon tedavisi grubunda (ES) oleuropein uygulaması (ESO grubu) oksidatif hasar düzeyini anlamlı derecede azaltmıştır ( $p<0.05$ ). Bu durum kullanılan oleuropeinin dozu veya uygulama sıklığı (150 mg/kg/hafta) ile ilgili olabileceği gibi, yukarıda da açıklandığı üzere iki ilacın birlikte uygulanmasının, ayrı ayrı uygulandığında yol açtıkları DNA hasarı toplamının iki katından daha fazla hasara yol açması nedeniyle oluşması da muhtemeldir.

Deney gruplarına ait kalp, böbrek ve karaciğer dokularındaki antioksidan/oksidan parametrelerden (Tablo 14) GSH ve MDA analizleri sonuçlarına göre oleuropeinin kalp dokusunda epirubisin ve siklofosfamid ile indüklenen oksidatif strese karşı koruma sağlayarak hücrel hasarı önleyici etki gösterdiği saptanmıştır. Kalp dokusunda gerçekleştirilen antioksidan/oksidan parametrelerin analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde oleuropein uygulamasının oksidatif hasar ürünlerinin azalmasına yol açtığını ve diğer antioksidan parametrelerde artışa yol açtığını söylemek mümkündür.

Böbrek dokusunda epirubisin ve siklofosfamid aracılığı ile indüklenen oksidatif strese karşı oleuropein uygulaması SOD ve CAT seviyelerinde artışa yol açmış ve sağlıklı kontrol grubu ile eşdeğer seviyelere getirmiştir. Epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon tedavisinde oleuropein uygulaması böbrek dokusunda antioksidan enzimlerin miktarında artışa yol açmakla birlikte bir oksidatif hasar belirteci olan MDA miktarını önemli ölçüde azaltarak oksidatif hasara karşı hücre koruyucu özellik göstermektedir.

Epirubisin ve siklofosfamid aracılığı ile indüklenen oksidatif strese karşı oleuropein uygulaması karaciğer dokusunda genel olarak çoğu parametrede kontrol grubuna benzer seviyelerde antioksidan kapasiteyi arttırmış, oksidatif stres ve bozunma ürünleri miktarında da azalmaya yol açmıştır. Diğer taraftan kalp ve böbrek dokularından farklı olarak SOD, GSH ve CAT miktarlarının karaciğerde oleuropein uygulanan tüm gruplarda kontrol grubundan dahi fazla çıkmış olması belirtilmesi gereken önemli bir durumdur. Oleuropeinin çeşitli indükleyiciler aracılığı ile oluşturulan oksidatif stres modelleri üzerinde meydana getirdiği değişiklikler son yıllarda bilim insanlarının üzerinde durduğu bir konudur. İlerleyen kısımlarda çalışmamızı ilgilendiren oksidatif stres parametrelerinin değerlendirildiği bazı güncel çalışmaların detayları ve bunların çalışma sonuçlarımızla genel karşılaştırılması yer almaktadır.

Erkek Wistar ratlarda oral gavaj yoluyla 10 gün boyunca 30 mg/kg oleuropein verilen ve beşinci gün 200 mg/kg tek doz siklofosfamid aracılığı ile hepatotoksisite oluşturulan bir çalışmada yalnız siklofosfamid uygulanan grupta MDA miktarında yükselme görülürken GSH SOD ve CAT seviyelerinde azalma olduğu; diğer taraftan yalnız oleuropein ve siklofosfamid-oleuropein uygulanan gruplarda ise MDA miktarına azalma, GSH, SOD ve CAT seviyelerinde ise artış olduğu bildirilmiştir (Sherif ve ark, 2018). Diğer bir araştırmada erkek Wistar ratlara oral gavajla otuz gün süresince 15 mg/kg deltametrin ve 30 mg/kg oleuropein uygulanarak karaciğer ve böbrekler üzerindeki olası etkiler incelenmiştir. Oleuropein+deltametrin uygulanan grupta yalnız deltametrin uygulanan gruba göre SOD ve CAT seviyelerinde anlamlı oranda artış saptandığı; oleuropeinin deltametrin toksisitesinde karaciğer ve böbrek koruyucu etkileri nedeniyle kullanılabilir doğal bir bileşik olduğu bildirilmiştir (Maalej ve ark, 2017). Diğer bir çalışmada erkek Sprague-Dawley ratlarda diyabet ve hipertansiyon modeli oluşturularak 20, 40, 60 mg/kg gibi farklı dozlarda oleuropein uygulayarak oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Buna göre oleuropein uygulanan tüm gruplarda yalnızca diyabet+hipertansiyon modeli oluşturulan gruba göre SOD miktarlarında artış ve MDA seviyelerinde ise önemli bir azalma olduğu; uygulanan oleuropeinin dozu arttıkça koruyucu etkilere ait değerlerin de arttığı bildirilmiştir (Khalili ve ark, 2017). Erkek Sprague-Dawley ratlarla gerçekleştirilen farklı bir araştırmada, beynin hipokampal alanında propofol, ketamin ve ksilazin gibi anestezi ajanlarla indüklenen oksidatif strese karşı oleuropeinin antioksidan etkileri on gün süre ile 15 mg/kg dozda oral yolla ön tedavi uygulanarak değerlendirilmiştir. Ön tedavinin ardından anestezi uygulanan ratlarda oleuropein ön tedavisi alanlarda, almayanlara göre lipid peroksidasyonun azaldığı ve belleğin güçlendiği belirlenmiştir. Oleuropein ön tedavisi uygulanan gruplarda uygulanmayanlara göre SOD ve CAT aktivitesinde artış

bulunduğu ve oleuropein tedavisinin anesteziklere bağlı olarak oluşan oksidatif stresi azaltarak kognitif fonksiyonlarda iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Alirezaei ve ark, 2017). Yetişkin erkek Sprague-Dawley ratlarda on gün süresince 1 ml etanol uygulanarak indüklenen gastrik hasar modelinde oleuropeinin (6, 12 ve 18 mg/kg/gün) etkilerinin ranitidinle (50 mg/kg) kıyaslandığı bir çalışmada 12 ve 18 mg dozlarında oleuropein verilen grupların 6 mg verilen gruba göre daha belirgin ülser inhibisyon indeksine sahip olduğu belirtilmiştir. Oleuropein verilen tüm gruplarda SOD ve CAT seviyelerinin yalnız etanol uygulanan ratlara göre önemli oranda yüksek olduğu ancak ranitidin verilen gruba göre de yüksek olmakla birlikte anlamlı bir fazlalık bulunmadığı saptanmıştır. Çalışma sonucunda oleuropeinin etanolle indüklenen gastrik hasara karşı antioksidan etkileri ile fayda sağlayabileceği bildirilmiştir (Alirezaei ve ark, 2012).

İsviçre suşu gebe ratlarda 21 gün süreyle intra muskuler yolla 250 mg/kg BPA uygulanarak oksidatif stres modeli oluşturulan bir çalışmada; doğumdan itibaren içme suyu aracılığı ile 500 mg/kg/gün oleuropein verilmesinin ardından doğumu izleyen 21. günde ratlar ve yavruları sakrifiye edilerek çeşitli antioksidan parametreler analiz edilmiştir. Buna göre BPA'nın karaciğer ve böbrek dokularında kontrol grubuna göre total antioksidan kapasiteyi ve CAT seviyesini önemli oranda azalttığı, MDA seviyesini ise arttırdığı belirtilmiştir. Diğer taraftan BPA+oleuropein uygulanan grupta ise total antioksidan kapasitede ve CAT seviyesinde anlamlı oranda artış olduğu, MDA miktarında ise azalma olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda oleuropeinin BPA ile oluşturulan toksisiteye karşı karaciğer ve böbrek üzerinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Mahmoudi ve ark, 2015). Aynı araştırmacının 60 gün süre ile uygulanan BPA (10 mg/kg/gün i.p.) toksisitesine karşı, oleuropeinin (16 mg/kg p.o.) etkilerini erkek İsviçre suşu ratlarda araştırdığı diğer bir çalışmada oleuropein uygulamasının lipid peroksidasyon ürünlerinin miktarını azalttığı, SOD ve CAT seviyelerinde ise artışa neden olarak hepatoprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Mahmoudi ve ark, 2018).

Erkek Sprague-Dawley ratlarda oral gavajla 10, 20 ve 30 mg/kg oleuropein uygulanan ve yedi günlük ön tedavinin ardından akut miyokard infarktüs modeli oluşturulan bir çalışmada oleuropein ön tedavisi uygulanan gruplarda uygulanmayanlara göre SOD seviyelerinde artış ve MDA miktarlarında azalma olduğu belirtilmiştir. Oleuropein ön tedavisinin proinflamatuvar stokinlerin salınımını ve oksidatif stresi azaltarak miyokard infarktüse bağlı kalp yetmezliğini önlediği bildirilmiştir (Janahmadi ve ark, 2015). Aynı araştırma ekibinin diğer bir çalışmada sol koroner arterlerin kalıcı ligasyonu ile kalp yetmezliği indüklenen erkek Sprague-Dawley ratlarda 5, 10 ve 20 mg/kg gibi farklı dozlarda verilen oleuropeinin kalp üzerindeki etkileri

araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 10 ve 20 mg/kg oleuropeinin kalp dokusunda SOD seviyesini arttırmak ve MDA düzeyini düşürmek suretiyle anitoksidan ve antiinflamatuvar etki göstererek kalp yetmezliğine karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Janahmedi ve ark, 2016).

Yukarıda detayları aktarılan çalışmaların sonuçlarında genel olarak karaciğer, böbrek, kalp, beyin ve mide organlarında yaratılan oksidatif hasar modellerinde 10-30 mg/kg/gün doz aralığında oleuropein uygulamalarının dozla doğru orantılı olarak MDA seviyesini azaltmak; ayrıca SOD, CAT ve GSH seviyelerini arttırmak suretiyle oksidatif stresi azaltarak hücrel hasara karşı koruma sağladığı anlaşılmaktadır. Çalışmamızda da 150 mg/kg/hafta dozunda (i.p.) uygulanan oleuropeinin karaciğer, böbrekler ve kalp üzerinde benzer etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu bilgilere göre araştırmamızın sonuçları ile yukarıda tartışılan çalışmaların sonuçlarının birbiri ile uygunluk gösterdiği görülmektedir.

Kemik iliği baskılanması sonucu oluşan anemi, nötropeni ve lökopeni gibi yan etkiler araştırmada kullanılan her iki antineoplastik ilacın da ortak yan etkileri arasında yer almaktadırlar. Hemogram testi, antitümöral tedavide sık karşılaşılan bu yan etkilerin takibinde sıklıkla başvurulan bir yöntemdir (Zhu ve ark, 2016). Tablo 15’de sunulan hemogram analizinden elde edilen sonuçlar oleuropein uygulamasının epirubisin ve siklofosfamid kombinasyon sağaltımı sırasında görülen nötropeni ve anemi gibi önemli yan etkilere karşı fayda sağlayabileceğini göstermektedir. Yapılan literatür taramasında epirubisin veya siklofosfamide bağlı toksisitede oleuropeinin etkinliğinin hemogram analizi yönünden araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ayrıca, çalışmamıza konu olan antineoplastikler haricinde diğer ksenobiyotiklerle oleuropein ve diğer zeytin ürünlerinin (yaprak, meyve, zeytinyağı ve zeytin değirmeni atık suyu ekstraları) hemogram parametrelerinde meydana getirdiği değişiklikler bakımından incelendiği çalışma sayısı da son derece kısıtlıdır. Bir çalışmada erkek Sprague-Dawley ratlara sisplatin (7 mg/kg tek doz) aracılığı ile hematolojik toksisite oluşturulmuş ve üç gün süre ile 50, 100 ve 200 mg/gün dozlarında oleuropein uygulanarak, gelişen etkiler değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre 50 mg/kg dozunda RBC, HGB, HCT, MCV, MCH ve MCHC parametrelerinde toksisitenin azaldığına dair pozitif etki görülmediği ancak, 100 ve 200 mg/kg dozlarda bu olumlu etkilerin gözlemlendiği ve hematolojik değerlerin kontrol grubu seviyelerine yükseldiği belirtilmiştir. Çalışmada ayrıca 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozları arasında gözlenen etkiler bakımından önemli bir farklılık bulunmadığı bildirilmiştir (Geyikoğlu ve ark, 2017). Toksikite oluşturmada kullanılan ajanlar ile uygulanan

oleuropein dozları ve süreleri birbiri ile farklı olmasına rağmen bu çalışmanın ve araştırmamızın hemogram sonuçları birbiri ile paralellik göstermektedir. Diğer taraftan Geyikoğlu ve ark. (2017) çalışmasında sisplatin aracılığı ile bozulan hematolojik parametrelerin düzeltilmesinde 50 mg/kg/gün doz etkisiz bulunurken 100 mg/kg/gün dozun yeterli olduğu bildirilmiştir. Ancak, çalışmamızda farklı ilaç kombinasyonları yoluyla oluşturulan hematolojik toksikasyonda 150 mg/kg/hafta dozun da önemli ölçüde yararlı etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, oleuropeinin epirubisin ve siklofosfamide bağlı toksisitenin en önemli etkilerinden biri olan kemik iliği baskılanmasına bağlı olarak görülen anemi, nötropeni ve trombositopeni gibi tedavinin gidişatını etkileyebilecek yan etkilerin azaltılmasında etkin bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir.

Biyokimyasal analiz sonuçlarına göre (Tablo 16) üre, GGT, direkt bilirubin ve CK parametrelerinde gruplar arasında anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir ( $p>0.05$ ). Diğer taraftan karaciğer hasarının önemli biyokimyasal göstergeleri olan AST ve ALT değerlerinin, yalnız antineoplastik ilaç verilen gruplarda önemli oranda bozulduğu; oleuropein uygulanan gruplarda ise bu değerlerin sağlıklı kontrol grubu ile benzer seviyelere geldiği belirlenmiştir ( $p>0.05$ ). Bu sonuçlar, oleuropeinin epirubisin ve siklofosfamide bağlı karaciğer toksisitenin azaltılmasında fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

Ürik asit yüksekliği çeşitli karaciğer ve böbrek hasarlarının önemli bir belirteçidir (Kataoka ve ark, 2015; Romi ve ark, 2017). Çalışmada ürik asit seviyelerinin yalnız antineoplastik ilaç uygulanan gruplarda arttığı, oleuropein uygulamasının ise bu değerleri azaltabildiği ancak sağlıklı kontrol grubuna yakın değerlere kadar indiremediği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Oleuropeinin ürik asit değerlerini sağlıklı kontrol grubuna yakın seviyeye kadar indirememiş olmasının nedeninin çalışmada kullanılan dozla ilişkili olması muhtemeldir. İstatistiksel olarak anlamlılık tespit edilememesine karşın ürik asit parametresi açısından elde edilen veriler, oleuropeinin epirubisin ve siklofosfamide bağlı karaciğer ve böbrek hasarlarının azaltılmasında yararlı olabileceğini göstermektedir.

Artmış miyokard infarktüs riski epirubisin gibi antrasiklin türevi ilaçların önemli bir yan etkisidir (Ejlertsen, 2016). CK-MB miyokard infarktüs riskinin belirlenmesi ve takibinde kullanılan önemli bir biyokimyasal belirteçtir (Fan ve ark, 2017). Çalışmamızda kalp hasarının önemli bir göstergesi olan CK-MB seviyeleri açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında önemli farklılıklar ( $p<0.05$ ) bulunduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan CK-MB seviyesi açısından

E ile EO ve S ile SO arasında birbiri ile zıt sonuçlar elde edilirken, ES ve ESO grupları arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Biyokimyasal analiz değerleri sonucunda çalışmada uygulanan oleuropeinin (150 mg/kg/hafta) karaciğer hasarını azaltmakta başarılı olduğu, böbrekler ve kalp üzerinde ise çeşitli parametrelerde kısmi faydalar sağlamakla birlikte biyokimyasal parametrelerin tümü bir bütün olarak göz önüne alındığında başarılı olduğu belirlenmiştir. İlerleyen paragraflarda çeşitli benzer çalışmalardan elde edilen sonuçlara ve çalışmamızdan elde edilen sonuçlarla karşılaştırmasına yer verilmiştir.

Erkek Sprague-Dawley ratlarda diyabet modeli oluşturularak oleuropeinin etkilerinin incelendiği bir çalışmada renal fonksiyonun serumdaki belirteçleri olan üre ve kreatinin seviyelerinin diyabetik ratlarda sağlıklı kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Diyabetik ratlarda oleuropein uygulaması serum üre seviyesini oleuropein uygulanmayan diyabetik gruba göre önemli oranda düşürürken, kreatinin seviyesinde de hafif bir azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda oleuropeinin diyabetik hastalarda böbrek hasarının önlenmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (Ahmadvand ve ark, 2017). Oleuropeinin etkinliği erkek C57BL/6 farelerde yağca zengin diyetle beslenerek hepatosteatoz progresyonuyla hepatik fibrozisin indüklendiği bir başka çalışmada araştırılmıştır. Çalışma sonucunda diyetle birlikte yem aracılığı ile oleuropein verilen grupta verilmeyenlere göre ALT ve AST değerlerinin kontrol grubu seviyelerine düştüğü; oleuropeinin non-alkolik hepatosteatozda ve hepatik fibroziste farmakolojik açıdan fayda sağlayabilecek bir ajan olabileceği bildirilmiştir (Kim ve ark, 2014). İsviçre suşu dişi ratlarda BPA ile oluşturulan toksisitede oleuropeinin etkilerinin değerlendirildiği ve detayları önceki bölümlerde aktarılan diğer bir araştırmada ise BPA uygulamasının rat AST, ALT, üre ve kreatinin değerlerini kontrol grubuna göre arttırdığı, BPA+oleuropein uygulanan gruplarda ise bu değerlerin kontrol değerlerine yakın olduğu belirtilmiştir (Mahmoudi ve ark, 2015).

Miyokardiyal disfonksiyon ve oksidatif stresin indüklendiği erkek Wistar ratlardan elde edilen izole kalp modelinde oleuropein uygulamasının serum CK seviyesini hastalıklı kontrol grubuna göre azalttığı; oleuropeinin bu özelliği ile iskemik reperfüzyon hasarında antioksidan etkisi ile faydalı olabilecek bir bileşik olduğu bildirilmiştir (Esmailidehaj ve ark, 2016). Erkek Sprague-Dawley ratlarda oral gavajla 10, 20 ve 30 mg/kg oleuropein uygulanan ve yedi günlük ön tedavinin ardından akut miyokard infarktüs modeli oluşturulan bir başka çalışmada oleuropein ön tedavisi uygulanan gruplarda uygulanmayan gruba göre CK-MB seviyesinde azalma olduğu belirtilmiştir. CK-MB seviyesindeki azalmanın doz artışı ile doğru orantılı



olduğu belirtilerek oleuropein ön tedavisinin miyokard infarktüse bağlı kalp yetmezliğini önlemede fayda sağlayabileceği bildirilmiştir (Janahmadi ve ark, 2015).

Çalışmaların sonuçlarından oleuropeinin karaciğer, böbrekler ve kalp üzerinde antioksidan etkileri ile biyokimyasal parametreler üzerinde hasar azaltıcı etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Söz konusu çalışmalarla araştırmamızdan elde edilen sonuçların birçoğu paralellik göstermektedir. Araştırmamızda CK-MB değerlerinden elde edilen çelişkili sonuçların Janahmadi ve arkadaşlarının (2015) çalışmasında CK-MB seviyesindeki azalmanın dozla doğru orantılı olduğu sonucunu doğrulayan bir sonuç çıkmıştır. Oleuropeinin daha yüksek dozlarda veya haftalık yerine günlük doz aralıklarında kalp dokusu üzerindeki hasarla ilişkili olan parametrelerde iyileştirici etkisinin daha çok ortaya çıkması olasıdır.

IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin meme tümörlerinin oluşumunu ve ilerlemesini arttırıcı yönde çeşitli etkileri bulunduğu bilinmektedir (Alokail ve ark, 2014; Katanov ve ark, 2015; Deshmukh ve ark, 2015). Diğer taraftan meme tümörlerinin sağaltımında kullanılan pek çok antineoplastik ajanın da gerek doku gerekse serum IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde artışa neden oldukları çalışmalarla gösterilmiştir (Andreadou ve ark, 2014; Potočnjak ve ark, 2016; Ling ve ark, 2017; Fan ve ark, 2017). İlerleyen kısımlarda hem hastalığın etkisi ile hem de sağaltımda kullanılan ilaçlar nedeniyle ekspresyonları artan bu proinflamatuvar sitokinlerin seviyeleri üzerine oleuropeinin yaptığı değişiklikleri konu alan çeşitli güncel çalışmaların sonuçlarına ve bunların araştırmamızdan elde edilen verilerle karşılaştırılmasına yer verilmiştir.

İki hafta süre ile 18 mg/kg doksorubisinin altı eşit dozda uygulanması ile oluşturulan toksisitede 14 gün boyunca 1.000 ve 2.000 mg/kg/gün i.p. uygulanan oleuropeinin etkilerinin erkek Wistar ratlarda denendiği bir çalışmada doksorubisin+oleuropein uygulanan gruplarda yalnız doksorubisin uygulanan gruplara göre IL-6 seviyesinde azalma olduğu saptanmıştır. Çalışmada oleuropeinin kalp üzerinde doksorubisine bağlı fonksiyonel ve histopatolojik toksik etkileri önlediği bildirilmiştir (Andreadou ve ark, 2014). Bir başka çalışmada erkek C57BL/6 farelerde dekstran sodyum sülfat aracılığı ile kronik kolit oluşturulmuş ve oleuropeinin etkileri değerlendirilmiştir. Oral yoldan 56 gün süreyle 500 mg/kg/gün dozunda oleuropein uygulaması sonucunda kolon dokusunda yapılan analizlerde oleuropein uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinde azalma IL-10 seviyesinde ise artış gözlemlendiği bildirilmiştir (Giner ve ark, 2013). Oleuropeinin zebra balıklarında lipopolisakkarit aracılığı ile

indüklenen inflamasyonda etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinde azalmaya yol açarak inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir (Ryu ve ark, 2015). Hipotalamus paraventriküler mikrodiseksiyonu ile hipertansiyon oluşturulan erkek Wistar-Kyoto ratlarda sekiz hafta süre ile oral yoldan 60 mg/kg/gün dozunda oleuropein uygulaması sonucu serum ve hipotalamus örneklerinde TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerinde kontrol grubuna göre azalma olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda oleuropeinin hipotalamusun paraventriküler nükleusunu mitokondrial fonksiyonları geliştirmek suretiyle koruyabildiği bildirilmiştir (Sun ve ark, 2017).

Bir araştırmada erkek Sprague-Dawley ratlar kullanılarak oluşturulan siklofosfamid kaynaklı toksisitede oleuropeinin üroprotektif etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla on gün süre ile oral gavaajla 30 mg/kg/gün dozunda oleuropein verilen ratlara yedinci günde i.p. 150 mg/kg siklofosfamid verilerek etkiler değerlendirilmiştir. Siklofosfamid verilmesini takiben kontrol grubuna göre mesanede glutasyon ve katalaz seviyelerinin azaldığı; NO, TNF- $\alpha$ , VEGF ve intraselüler adezyon molekülü-1 seviyelerinin ise arttığı saptanmıştır. Oleuropein verilen gruplarda ise GSH ve CAT seviyelerindeki azalma miktarının düştüğü; NO, TNF- $\alpha$ , VEGF ve intraselüler adezyon molekülü-1 seviyelerinde ise önemli oranda azalma sağlandığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda oleuropeinin siklofosfamid aracılığı ile oluşan hemorajik sistite karşı üroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Sherif ve ark, 2016). Erkek BALB/cN farelerde 13 mg/kg (i.p.) tek doz sisplatin ile toksisite oluşturulan bir çalışmada sisplatin enjeksiyonunun ardından oral gavaajla iki gün süre ile 5, 10 ve 20 mg/kg oleuropeinin etkileri değerlendirilmiştir. Uygulanan oleuropein dozuyla doğru orantılı olarak böbrek dokusunda nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B), p65, COX-2 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde azalma olduğu; oleuropeininin sisplatin kaynaklı böbrek toksisitesinin azaltılmasında fayda sağlayabileceği bildirilmiştir (Potočnjak ve ark, 2016). Dişi Sprague-Dawley ratlarda 25 mg/kg indometazinle indüklenen gastrik ülser modelinde tek doz uygulanan oleuropeinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada uygulanan oleuropein dozu arttıkça doku TNF- $\alpha$  seviyelerinde azalma meydana geldiği belirtilmiştir. 50 ve 100 mg/kg oleuropeinin belirgin koruyucu etkinlik göstermediği; diğer taraftan 250 ve 500 mg/kg dozlarında ise ranitidin grubuna göre önemli oranda ( $p < 0.05$ ) koruyucu etkinlik kaydedildiği bildirilmiştir (Koç ve ark, 2018). Aynı araştırmacı tarafından erkek Sprague-Dawley ratlarda 25 mg/kg indometazinle indüklenen nefrotoksisite modelinde tek doz uygulanan 75, 150 ve 300 mg/kg oleuropeinin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada; önceki araştırmaya benzer şekilde uygulanan oleuropein dozu arttıkça doku TNF- $\alpha$  seviyelerinde gözlenen azalma miktarında da artış olduğu bildirilmiştir (Koç ve ark, 2019).

Oleuropeinin sitokin seviyeleri üzerinde yaptığı değişiklikler çeşitli beşeri çalışmaların da konusunu teşkil etmiştir. İnsan sinovial sarkom hücrelerinde (SW982) IL-1 $\beta$  aracılığı ile indüklenen inflamasyonda oleuropeinin etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada; IL-1 $\beta$  uygulaması sonrasında artan IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin 50 ve 100  $\mu$ M oleuropein uygulanan gruplarda azalma gösterdiği belirtilmiştir (Castejón ve ark, 2017). Meme kanserli bireylerde cerrahi operasyon öncesi serum IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  miktarlarının değerlendirildiği bir başka çalışmada ise belirtilen proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda IL-6, IL-8 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin hastalığın evresi ve lenf nodu metastazları ile korelasyon gösterdiği; bu sitokinlerin prognostik kanser belirteci potansiyeli taşıdığı belirtilmiştir (Ma ve ark, 2017)

Çalışmaların sonuçlarından etkilerini oksidatif stresi indüklemek suretiyle gösteren çeşitli bileşiklerin gerek serum gerekse doku IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerini arttırdığı; oral ya da i.p. yolla uygulanan çeşitli dozlarda oleuropeinin ise bu proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerini dozla doğru orantılı olarak azaltabildiği görülmektedir. Yukarıda tartışılan çalışmanın sonuçları ile araştırmamızdan elde edilen sonuçlar birbiri ile uyumludur. Diğer taraftan çalışmalarda benzer sonuçlar elde edilmesine rağmen uygulanan oleuropein dozları ve uygulama yollarının birbirinden önemli farklılıklar içermesi üzerinde durulması gereken bir durumdur. Çalışmalarda 2.000 mg/kg/gün dozundan 10 mg/kg/gün dozuna kadar değişen geniş doz aralıklarında oleuropeinin IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerini benzer şekilde etkilediği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda kullanılan dozun da (150 mg/kg/hafta) serum sitokin seviyelerini sağlıklı kontrol grubu seviyelerine taşıdığı göz önüne alındığında IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerini sağlıklı denekler seviyesine indirebilen asgari dozun belirlenmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tümör sağaltımında kullanılan antineoplastik ajanların yaşamı tehdit edebilecek düzeyde çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Yan etkilere bağlı şikayetlerin azaltılması sonucunda hastaların yaşam kalitelerinin artırılması ve antitümöral tedaviye uyumlarının sağlanması mümkündür. Araştırmamızda kullanılan antineoplastik ajanların etkileri tümöre özgü olmayıp yalnızca tümörlü hücrelerde değil sağlıklı hücreler üzerinde de toksik etkiler yaratmaktadır. Antioksidan maddelerin oksidatif stresi azaltarak DNA üzerinde koruyucu etkinlik sağladığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. DNA hasarının antioksidan maddeler yoluyla azaltılmasının şiddetli yan etkiler görülen hastalarda bazı faydalar sağlaması mümkündür. Diğer taraftan antioksidan maddelerin antineoplastik ilaçlardan beklenen terapötik etkilerde azalmaya neden olma ihtimali de bulunmaktadır. Oleuropeinin antrasiklin türevi bileşiklerin (epirubisin, doksorubisin vb.) antitümöral etkinliğinde azalma yapmadığına ve bileşiğin kendisinin de belli koşullarda çeşitli mekanizmaları aktive etmek suretiyle apoptozisi indüklediğine dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. Çalışmada oleuropeinin lenfosit DNA'larındaki hasar seviyesini azalttığı, TNF- $\alpha$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin, ayrıca bazı hemogram ve biyokimyasal parametrelerin miktarlarını sağlıklı kontrol grubu düzeylerine indirdiği; kalp, böbrek ve karaciğer dokularında antioksidan madde (SOD, CAT, GSH) miktarlarını arttırdığı; diğer taraftan bir hücrel bozunma ürünü olan MDA seviyesinde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre oleuropeinin epirubisin ve siklofosamid ile indüklenen toksisiteye karşı antioksidan etkileriyle koruyucu etkinlik sağladığı görülmektedir. Çalışmamızda pek çok parametre incelenmiş ve birçok önemli veri elde edilmiş olmasına rağmen meme tümörlerinin patogenezi ve prognozunda rolü olan TNF- $\alpha$  ve IL-6 haricindeki IL-1 $\beta$  and IL-8 gibi diğer serum proinflamatuvar sitokinlerinin seviyelerinin analiz edilememiş olması ve dokuların immünohistokimyasal incelemesinin yapılmaması çalışmamızın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır. Araştırmanın belirlenen tek bir oleuropein dozu ile yapılması çalışmanın bir diğer kısıtlılığını oluşturmaktadır. Araştırmamızda belirgin koruyucu etkinlik saptanmayan bazı parametrelerin daha iyi aydınlatılması amacıyla daha farklı doz ve uygulama aralıklarında oleuropeinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR

**Aebi H.** Catalase *in vitro* assay methods, *Methods in Enzymology* 1984, 105, 121-126.

**Aftimos PG, Barthelemy P, Awada A.** Molecular biology in medical oncology: diagnosis, prognosis, and precision medicine. *Discovery Medicine* 2014, 17(92),81-91.

**Ahmad Farooqi A, Fayyaz S, Silva AS, Sureda A, Nabavi SF, Mocan A, Nabavi SM, Bishayee A.** Oleuropein and cancer chemoprevention: the link is hot. *Molecules* 2017, 22(5), pii: E705.

**Ahmad G, Amiji MM.** Cancer stem cell-targeted therapeutics and delivery strategies. *Expert Opinion on Drug Delivery* 2017, 14(8), 997-1008.

**Ahmadvand H, Shahsavari G, Tavafi M, Bagheri S, Moradkhani MR, Kkorramabadi RM, Khosravi P, Jafari M, Zahabi K, Eftekhar R, Soleimaninejad M, Moghadam S.** Protective effects of oleuropein against renal injury oxidative damage in alloxan-induced diabetic rats; a histological and biochemical study. *Journal of Nephropathology* 2017, 6(3), 204-209.

**Aksaz E.** İnce iğne aspirasyon biyopsisi- kalın iğne biyopsisi, Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu (MHDF) Meme Hastalıkları Kitabı, Müslümanoğlu M. (Ed.), *Güneş Tıp Kitabevleri*, Ankara, 2012, 307-323.

**Alirezaei M, Dezfoulian O, Neamati S, Rashidipour M, Tanideh N, Kheradmand A.** Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. *Journal of Physiology and Biochemistry* 2012, 68(4), 583-592.

**Alirezaei M, Rezaei M, Hajighahramani S, Sookhtehzari A, Kiani K.** Oleuropein attenuates cognitive dysfunction and oxidative stress induced by some anesthetic drugs in the hippocampal area of rats. *Journal of Physiological Sciences* 2017, 67(1), 131-139.

**Alokail MS, Al-Daghri NM, Mohammed AK, Vanhoutte P, Alenad A.** Increased TNF  $\alpha$ , IL-6 and ErbB2 mRNA expression in peripheral blood leukocytes from breast cancer patients. *Medical Oncology* 2014, 31(8), 38.

**Alpsoy L, Yalvac ME.** Key roles of vitamins A, C, and E in aflatoxin B1-induced oxidative stress. *Vitamines and Hormons* 2011, 86, 287-305.

**Anderson KN, Schwab RB, Martinez ME.** Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Research & Treatment* 2014, 144(1), 1-10.

**Andreadou I, Mikros E, Ioannidis K, Sigala F, Naka K, Kostidis S, Farmakis D, Tenta R, Kavantzias N, Bibli SI, Gikas E, Skaltsounis L, Iliodromitis EK.** Oleuropein prevents doxorubicin-induced cardiomyopathy interfering with signaling molecules and cardiomyocyte metabolism. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2014, 69, 4-16.

**Arslan Ö, Vural H, Kömürcü Ş, Özet A.** Kemoterapi alan kanser hastalarına verilen eğitimin kemoterapi semptomlarına etkisi. *C.Ü.Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi* 2006, 10 (1), 15-28.

**Bakar C.** Dünyada ve Türkiye'de Kanser Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Genetics-Special Topics* 2017, 2(2), 49-59.

**Barbee MS, Owonikoko TK, Harvey RD.** Taxanes: vesicants, irritants, or just irritating? *Therapeutic Advances in Medical Oncology* 2014, 6(1), 16-20.

**Barreto JN, McCullough KB, Ice LL, Smith JA.** Antineoplastic agents and the associated myelosuppressive effects: a review. *Journal of Pharmacy Practice* 2014, 27(5), 440-446.

**Baum M.** Modern concepts of the natural history of breast cancer: a guide to the design and publication of trials of the treatment of breast cancer. *European Journal of Cancer* 2013, 49(1), 60-64.

**Bie Y, Zhang Z, Wang X.** Adjuvant chemo-radiotherapy in the "sandwich" method for high risk endometrial cancer-a review of literature. *BMC Womens Health* 2015, 15-50.

**Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV.** Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany* 2003, 91, 179-194.

**Blum D, Rosa D, deWolf-Linder S, Hayoz S, Ribl K, Koeberle D, Strasser F.** Development and validation of a medical chart review checklist for symptom management performance of oncologists in the routine care of patients with advanced cancer. *Journal of Pain and Symptom Management* 2014, 48(6), 1160-1167.

**Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F.** Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis* 2007, 190, 181–186.

**Bonner MY, Arbiser JL.** The antioxidant paradox: what are antioxidants and how should they be used in a therapeutic context for cancer. *Future Medicinal Chemistry* 2014, 6(12), 1413-1422.

**Bordin DL, Lima M, Lenz G, Saffi J, Meira LB, Mésange P, Soares DG, Larsen AK, Escargueil AE, Henriques JA.** DNA alkylation damage and autophagy induction. *Mutation Research* 2013, 753(2), 91-99.

**Breen AP, Murphy JA.** Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology & Medicine* 1995, 18, 1033-1077.

**Breugom AJ, Swets M, Bosset JF, Collette L, Sainato A, Cionini L, Glynne-Jones R, Counsell N, Bastiaannet E, van den Broek CB, Liefers GJ, Putter H, van de Velde CJ.** Adjuvant chemotherapy after preoperative (chemo)radiotherapy and surgery for patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *The Lancet Oncology* 2015, 16(2), 200-207.

**Castejón ML, Rosillo MÁ, Montoya T, González-Benjumea A, Fernández-Bolaños JM, Alarcón-de-la-Lastra C.** Oleuropein down-regulated IL-1 $\beta$ -induced inflammation and oxidative stress in human synovial fibroblast cell line SW982. *Food & Function* 2017, 8(5), 1890-1898.

**Cata JP, Hernandez M, Lewis VO, Kurz A.** Can regional anesthesia and analgesia prolong cancer survival after orthopaedic oncologic surgery? *Clinical Orthopaedics Related Research* 2014, 472(5), 1434-1441.

**Cedolini C, Bertozzi S, Londero AP, Bernardi S, Seriau L, Concina S, Cattin F, Risaliti A.** Type of breast cancer diagnosis, screening, and survival. *Clinical Breast Cancer* 2014, 14(4), 235-240.

**Chikara S, Nagaprashantha LD, Singhal J, Horne D, Awasthi S, Singhal SS.** Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer Letters* 2018, 413, 122-134.

**Costa A, Scholer-Dahirel A, Mehta-Grigoriou F.** The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment. *Seminars in Cancer Biology* 2014, 25, 23-32.

**Danesi R, Fogli S, Gennari A, Conte P, Del Tacca M.** Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of the anthracycline anticancer drugs. *Clinical Pharmacokinetics* 2002, 41(6), 431-444.

**De Felice F, Polimeni A, Valentini V, Brugnoletti O, Cassoni A, Greco A, de Vincentiis M, Tombolini V.** Radiotherapy controversies and prospective in head and neck cancer: a literature-based critical review. *Neoplasia* 2018, 20(3), 227-232.

**DeSantis CE, Fedewa SA, Goding Sauer A, Kramer JL, Smith RA, Jemal A.** Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and White women. *A Cancer Journal for Clinicians* 2016, 66(1), 31-42.

**Deshmukh SK, Srivastava SK, Bhardwaj A, Singh AP, Tyagi N, Marimuthu S, Dyess DL, Dal Zotto V, Carter JE, Singh S.** Resistin and interleukin-6 exhibit racially-disparate expression in breast cancer patients, display molecular association and promote growth and aggressiveness of tumor cells through STAT3 activation. *Oncotarget* 2015, 6(13), 11231-11241.

**Duffy MJ, Synnott NC, McGowan PM, Crown J, O'Connor D, Gallagher WM.** p53 as a target for the treatment of cancer. *Cancer Treatment Reviews* 2014, 40(10), 1153-1160.

**Ebel MD, Rudolph I, Keinki C, Hoppe A, Muecke R, Micke O, Muenstedt K, Huebner J.** Perception of cancer patients of their disease, self-efficacy and locus of control and usage of complementary and alternative medicine. *Journal of Cancer Research in Clinical Oncology* 2015, 141(8), 1449-1455.

**Edge SB, Compton CC.** The American Joint Committee on Cancer: the 7th Edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of Surgical Oncology* 2010, 17, 1471-1474.

**Ejlertsen B.** Adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Danish Medical Journal* 2016, 63(5), pii: B5222.



**Emadi A, Jones RJ, Brodsky RA.** Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2009, 6(11), 638-647.

**Esmailidehaj M, Bajoovand S, Rezvani ME, Sherifidehaj M, Hafezimoghadam Z, Hafizibarjin Z.** Effect of oleuropein on myocardial dysfunction and oxidative stress induced by ischemic-reperfusion injury in isolated rat heart. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 2016, 7(4), 224-230.

**Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sánchez-Pérez P, Cadenas S, Lamas S.** Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology* 2015, 183-197.

**Esposito A, Criscitiello C, Salè EO, Curigliano G.** Optimal adjuvant chemotherapy in breast cancer: selection of agents. *Expert Review in Clinical Pharmacology* 2014, 7(5), 605-611.

**Fan C, Georgiou KR, Morris HA, McKinnon RA, Keefe DMK, Howe PR, Xian CJ.** Combination breast cancer chemotherapy with doxorubicin and cyclophosphamide damages bone and bone marrow in a female rat model. *Breast Cancer Research and Treatment* 2017, 165(1):41-51.

**Fan J, Ma J, Xia N, Sun L, Li B, Liu H.** Clinical value of combined detection of CK-MB, MYO, cTnI and plasma NT-proBNP in diagnosis of acute myocardial Infarction. *Clinical Laboratory* 2017, 63(3), 427-433.

**Fedorova M, Bollineni RC, Hoffmann R.** Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies. *Mass Spectrometry Reviews* 2014, 33(2), 79-97.

**Filippini SE, Vega A.** Breast cancer genes: beyond BRCA1 and BRCA2. *Frontiers in Bioscience* 2013, 18, 1358-1372.

**Fisher CM, Rabinovitch R.** Frontiers in radiotherapy for early-stage invasive breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2014, 32(26), 2894-2901.

**Friese CR, Neville BA, Edge SB, Hassett MJ, Earle CC.** Breast biopsy patterns and outcomes in surveillance, epidemiology, and end results-medicare data. *Cancer* 2009, 4, 716-724.

**Fuccelli R, Fabiani R, Rosignoli P.** Hydroxytyrosol exerts anti-inflammatory and anti-oxidant activities in a mouse model of systemic inflammation. *Molecules* 2018, 23(12), pii: E3212.

**Fuccelli R, Sepporta MV, Rosignoli P, Morozzi G, Servili M, Fabiani R.** Preventive activity of olive oil phenolic compounds on alkene epoxides induced oxidative DNA damage on human peripheral blood mononuclear cells. *Nutrition and Cancer* 2014, 66(8), 1322-1330.

**Garcia-Closas M, Gunsoy NB, Chatterjee N.** Combined associations of genetic and environmental risk factors: implications for prevention of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2014, 106(11), pii: dju305.

**Garrido M, Fonseca PJ, Vieitez JM, Frunza M, Lacave AJ.** Challenges in first line chemotherapy and targeted therapy in advanced gastric cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2014, 14(8), 887-900.

**Geyikoğlu F, Çolak S, Türkez H, Bakır M, Koç K, Hosseinigouzdagani MK, Çeriğ S, Sönmez M.** Oleuropein ameliorates cisplatin-induced hematological damages via restraining oxidative stress and DNA injury. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion* 2017, 33(3), 348-354.

**Ghibu S, Richard C, Vergely C, Zeller M, Cottin Y, Rochette L.** Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2009, 54(5), 391-398.

**Gierisch JM, Coeytaux RR, Urrutia RP, Havrilesky LJ, Moorman PG, Lowery WJ, Dinan M, McBroom AJ, Hasselblad V, Sanders GD, Myers ER.** Oral contraceptive use and risk of breast, cervical, colorectal, and endometrial cancers: a systematic review. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 2013, 22(11), 1931-1943.

**Giner E, Recio MC, Ríos JL, Giner RM.** Oleuropein protects against dextran sodium sulfate-induced chronic colitis in mice. *Journal of Natural Products* 2013, 76(6), 1113-1120.

**Giorgio M.** Oxidative stress and the unfulfilled promises of antioxidant agents. *Ecancermedicalscience* 2015, 9, 556.

**Glück S.** The expanding role of epirubicin in the treatment of breast cancer. *Cancer Control* 2002, 9(2), 16-27.

**Grosso G, Bei R, Mistretta A, Marventano S, Calabrese G, Masuelli L, Giganti MG, Modesti A, Galvano F, Gazzolo D.** Effects of vitamin C on health: a review of evidence. *Frontiers in Bioscience* 2013, 18, 1017-1029.

**Gupta RK, Patel AK, Shah N, Chaudhary AK, Jha UK, Yadav UC, Gupta PK, Pakuwal U.** Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2014, 15, 4405-4409.

**Hadrich F, Mahmoudi A, Bouallagui Z, Feki I, Isoda H, Feve B, Sayadi S.** Evaluation of hypocholesterolemic effect of oleuropein in cholesterol-fed rats. *Chemico-Biological Interactions* 2016, 252, 54-60.

**Hajra S, Patra AR, Basu A, Bhattacharya S.** Prevention of doxorubicin (DOX)-induced genotoxicity and cardiotoxicity: Effect of plant derived small molecule indole-3-carbinol (I3C) on oxidative stress and inflammation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2018, 101, 228-243.

**Hamed SS, Straubinger RM, Jusko WJ.** Pharmacodynamic modeling of cell cycle and apoptotic effects of gemcitabine on pancreatic adenocarcinoma cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2013, 72(3), 553-563.

**Han G, Xia J, Gao J, Inagaki Y, Tang W, Kokudo N.** Anti-tumor effects and cellular mechanisms of resveratrol. *Drug Discovery & Therapeutics* 2015, 9(1), 1-12.

**Hato SV, Khong A, de Vries IJ, Lesterhuis WJ.** Molecular pathways: the immunogenic effects of platinum-based chemotherapeutics. *Clinical Cancer Research* 2014, 20(11), 2831-2837.

**Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN.** 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-Hydroxy-guanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods in Enzymology* 1999, 300, 156-166.

**Hu Q, Wang Q, Zhu H, Yao Y, Song Q.** Irinotecan compared with etoposide in combination with platinum in previously untreated extensive stage small cell lung cancer: An updated systemic review. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2016, 12(2), 881-887.

**Hudis C, Dang C.** The development of dose-dense adjuvant chemotherapy. *Breast Journal* 2015, 21(1), 42-51.

**Husain SR, Han J, Au P, Shannon K, Puri RK.** Gene therapy for cancer: regulatory considerations for approval. *Cancer Gene Therapy* 2015, 22(12), 554-563.

**Ilavarasi K, Dicson SM, Kasi PD.** Olive oil and its phenolic constituent tyrosol attenuates dioxin-induced toxicity in peripheral blood mononuclear cells via an antioxidant-dependent mechanism. *Natural Product Research* 2015, 29(22), 2129-2132.

**Ilavarasi K, Kiruthiga PV, Pandian SK, Devi KP.** Hydroxytyrosol, the phenolic compound of olive oil protects human PBMC against oxidative stress and DNA damage mediated by 2,3,7,8-TCDD. *Chemosphere* 2011, 84(7), 888-893.

**Jamieson D, Lee J, Cresti N, Jackson R, Griffin M, Sludden J, Verrill M, Boddy AV.** Pharmacogenetics of adjuvant breast cancer treatment with cyclophosphamide, epirubicin and 5-fluorouracil. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2014, 74(4), 667-674.

**Janahmadi Z, Nekooeian AA, Moaref AR, Emamghoreishi M.** Oleuropein attenuates the progression of heart failure in rats by antioxidant and antiinflammatory effects. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology* 2017, 390(3), 245-252.

**Janahmadi Z, Nekooeian AA, Moaref AR, Emamghoreishi M.** Oleuropein offers cardioprotection in rats with acute myocardial infarction. *Cardiovascular Toxicology* 2015, 15(1), 61-68.

**Jarboe J, Gupta A, Saif W.** Therapeutic human monoclonal antibodies against cancer. *Methods in Molecular Biology* 2014, 1060, 61-77.

**Kalousova M, Skrha J, Zima T.** Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiological Research* 2002, 51(6), 597-604.

**Kang X, Xiao HH, Song HQ, Jing XB, Yan LS, Qi RG.** Advances in drug delivery system for platinum agents based combination therapy. *Cancer Biology & Medicine* 2015, 12(4), 362-374.

**Karabulut H, Gülay MŞ.** Antioksidanlar. *MAE Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 1(1), 65-76.

**Katanov C, Lerrer S, Liubomirski Y, Leider-Trejo L, Meshel T, Bar J, Feniger-Barish R, Kamer I, Soria-Artzi G, Kahani H, Banerjee D, Ben-Baruch A.** Regulation of the inflammatory profile of stromal cells in human breast cancer: prominent roles for TNF- $\alpha$  and the NF- $\kappa$ B pathway. *Stem Cell Research & Therapy* 2015, 6, 87.

**Kataoka H, Yang K, Rock KL.** The xanthine oxidase inhibitor febuxostat reduces tissue uric acid content and inhibits injury-induced inflammation in the liver and lung. *European Journal of Pharmacology* 2015, 746, 174-179.

**Kelly FJ.** Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects, *Occupational & Environmental Medicine* 2003, 60, 612–616.

**Khalatbary AR, Zarrinjoei GR.** Anti-inflammatory effect of oleuropein in experimental rat spinal cord trauma. *Iran Red Crescent Medical Journal* 2012, 14(4), 229-234.

**Khalili A, Nekooeian AA, Khosravi MB.** Oleuropein improves glucose tolerance and lipid profile in rats with simultaneous renovascular hypertension and type 2 diabetes. *Journal of Asian Natural Product Research* 2017, 19(10), 1011-1021.

**Khasraw M, Bell R, Dang C.** Epirubicin: is it like doxorubicin in breast cancer? A clinical review. *Breast* 2012, 21(2), 142-149.

**Khoufi S, Hamza M, Sayadi S.** Enzymatic hydrolysis of olive wastewater for hydroxytyrosol enrichment. *Bioresource Technology* 2011, 102(19), 9050-9058.

**Kim SW, Hur W, Li TZ, Lee YK, Choi JE, Hong SW, Lyoo KS, You CR, Jung ES, Jung CK, Park T, Um SJ, Yoon SK.** Oleuropein prevents the progression of steatohepatitis to hepatic fibrosis induced by a high-fat diet in mice. *Experimental & Molecular Medicine* 2014, 46, e92.

**Kobayashi H, Ohno S, Sasaki Y, Matsuura M.** Hereditary breast and ovarian cancer susceptibility genes. *Oncol Reports* 2013, 30(3), 1019-1029.

**Koc K, Cerig S, Ozek NS, Aysin F, Yildirim S, Cakmak O, Hosseinigouzdagani M, Geyikoglu F.** The efficacy of oleuropein against non-steroidal anti-inflammatory drug induced toxicity in rat kidney. *Environmental Toxicology* 2019, 34(1), 67-72.

**Koc K, Cerig S, Ucar S, Colak S, Bakir M, Erol HS, Yildirim S, Hosseinigouzdagani M, Simsek Ozek N, Aysin F, Fehim Kocpinar E, Budak H, Geyikoglu F.** Gastroprotective effects of oleuropein and thymol on indomethacin-induced gastric ulcer in Sprague-Dawley rats. *Drug and Chemical Toxicology* 2018, 14, 1-13.

**Larkin J, Hodi FS, Wolchok JD.** Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *New England Journal of Medicine* 2015, 373(13), 1270-1271.

**Laukkanen MO.** Extracellular Superoxide Dismutase: Growth Promoter or Tumor Suppressor? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016, 3612589.

**Lemane D, Cassileth B, Gubili J.** The role of physical activity in cancer prevention, treatment, recovery, and survivorship. *Oncology (Williston Park)* 2013, 27(6), 580-585.

**Leon-Gonzalez AJ, Auger C, Schini-Kerth VB.** Pro-oxidant activity of polyphenols and its implication on cancer chemoprevention and chemotherapy. *Biochemical Pharmacology* 2015, 98(3), 371-380.

**Li Y, Li S, Zhou Y, Meng X, Zhang JJ, Xu DP, Li HB.** Melatonin for the prevention and treatment of cancer. *Oncotarget* 2017, 8(24), 39896-39921.

**Lindman H, Aström G, Ahlgren J, Villman K, Blomqvist C, Nygren P, Bergh J.** Individually tailored toxicity-based 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC) therapy of metastatic breast cancer. *Acta Oncologica* 2007, 46(2), 165-171.

**Ling N, Zhou X, Ji Y, Li W, Ji C, Qi Z.** Immuno-modulatory and cellular antioxidant activities of  $\kappa$ -selenocarrageenan in combination with Epirubicin in H22 hepatoma-bearing mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2017, 91, 132-137.

**Losada-Echeberría M, Herranz-López M, Micol V, Barrajon-Catalán E.** Polyphenols as promising drugs against main breast cancer signatures. *Antioxidants (Basel)* 2017, 6(4). pii: E88.

**Ma Y, Ren Y, Dai ZJ, Wu CJ, Ji YH, Xu J.** IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels correlate with disease stage in breast cancer patients. *Advances in Clinical and Experimental Medicines* 2017, 26(3), 421-426.

**Maalej A, Mahmoudi A, Bouallagui Z, Fki I, Marrekchi R, Sayadi S.** Olive phenolic compounds attenuate deltamethrin-induced liver and kidney toxicity through regulating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Food and Chemical Toxicology* 2017, 106(Pt A), 455-465.

**Mahmoudi A, Ghorbel H, Bouallegui Z, Marrekchi R, Isoda H, Sayadi S.** Oleuropein and hydroxytyrosol protect from bisphenol A effects in livers and kidneys of lactating mother rats and their pups. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2015, 67(7-8), 413-425.

**Mahmoudi A, Hadrich F, Feki I, Ghorbel H, Bouallagui Z, Marrekchi R, Fourati H, Sayadi S.** Oleuropein and hydroxytyrosol rich extracts from olive leaves attenuate liver injury and lipid metabolism disturbance in bisphenol A-treated rats. *Food & Function* 2018, 9(6), 3220-3234.

**Meade E.** Avoiding accidental exposure to intravenous cytotoxic drugs. *British Journal of Nursing* 2014, 23(16), 36-39.

**Medina PJ, Adams VR.** PD-1 Pathway Inhibitors: immuno-oncology agents for restoring antitumor immune responses. *Pharmacotherapy* 2016, 36(3), 317-334.

**Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, Stein KD, Alteri R, Jemal A.** Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *A Cancer Journal for Clinicians* 2016, 66(4), 271-289.

**Mirshahidi HR, Abraham J.** Meme kanseri. In: Abraham J, Gulley JL, Allegra CJ. (Ed.), Klinik Onkoloji El Kitabı (1. Baskı), *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, 2009, s 155-172.

**Moudi M, Go R, Yien CY, Nazre M.** Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine* 2013, 4(11), 1231-1235.

**Myburgh KH.** Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress? *Sports Medicine* 2014, 44, 57-70.

**Nair AB, Jacob S.** A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy* 2016, 7(2), 27-31.

**Narayan V, Vaughn D.** Pharmacokinetic and toxicity considerations in the use of neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology* 2015, 11(5), 731-742.

**Niki E.** Evidence for beneficial effects of vitamin E. *The Korean Journal of Internal Medicine* 2015, 30(5), 571-579.

**Nousis L, Doulias PT, Aligiannis N, Bazios D, Agalias A, Galaris D, Mitakou S.** DNA protecting and genotoxic effects of olive oil related components in cells exposed to hydrogen peroxide. *Free Radical Research* 2005, 39(7), 787-795.

**Obied HK, Prenzler PD, Ryan D, Servili M, Taticchi A, Esposito S, Robards K.** Biosynthesis and biotransformations of phenol-conjugated oleosidic secoiridoids from *Olea europaea* L. *Natural Product Reports* 2008, 25(6), 1167-1179.

**Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979, 95(1), 351-358.

**Omar SH.** Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2010, 18(3), 111-121.

**Özbaş S, Boylu Ş, Soyder A.** Meme kanserinde epidemiyoloji ve risk faktörleri. Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu (MHDF) Meme Hastalıkları Kitabı, Özmen V. (Ed.), Ankara, *Güneş Tıp Kitabevleri*, 2012, 149-159.

**Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z.** Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015, 6 (3), 331-336.

**Pai MP.** Drug dosing based on weight and body surface area: mathematical assumptions and limitations in obese adults. *Pharmacotherapy* 2012, 32(9), 856-868.

**Pantano D, Luccarini I, Nardiello P, Servili M, Stefani M, Casamenti F.** Oleuropein aglycone and polyphenols from olive mill waste water ameliorate cognitive deficits and neuropathology. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2017, 83(1), 54-62.



**Parkinson L, Cicerale S.** The health benefiting mechanisms of virgin olive oil phenolic compounds. *Molecules* 2016, 21(12), pii: E1734.

**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. *Chemico-Biological Interactions* 2012, 195(3), 231-239.

**Paul A, Paul S.** The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. *Frontiers in Biosciences* 2014, 19, 605-618.

**Pavlopoulou A, Spandidos DA, Michalopoulos I.** Human cancer databases *Oncology Reports* 2015, 33(1), 3-18.

**Polk A, Vistisen K, Vaage-Nilsen M, Nielsen DL.** A systematic review of the pathophysiology of 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity. *BMC Pharmacology and Toxicology* 2014, 15-47.

**Pommier Y.** Drugging topoisomerases: lessons and challenges. *ACS Chemical Biology* 2013, 18;8(1):82-95.

**Potočnjak I, Škoda M, Pernjak-Pugel E, Peršić MP, Domitrović R.** Oral administration of oleuropein attenuates cisplatin-induced acute renal injury in mice through inhibition of ERK signaling. *Molecular Nutrition & Food Research* 2016, 60(3), 530-541.

**Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, Díez M, Viladot M, Arance A, Muñoz M.** Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast* 2015, 26-35.

**Pylvas M, Puistola U, Laatio L, Kauppila S, Karihtala P.** Elevated serum 8-OHdG is associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Anticancer Research* 2011, 31(4), 1411-1415.

**Radomska-Lesniewska DM, Balan BJ, Skopiński P.** Angiogenesis modulation by exogenous antioxidants. *Central European Journal of Immunology* 2017, 42(4), 370-376.

**Redden MH, Fuhrman GM.** Neoadjuvant chemotherapy in the treatment of breast cancer. *Surgical Clinics of North America* 2013, 93(2), 493-499.

**Reidy M, Saab MM, Hegarty J, Von Wagner C, O'Mahony M, Murphy M, Drummond FJ.** Promoting men's knowledge of cancer risk reduction: A systematic review of interventions. *Patient Education and Counseling* 2018, pii: S0738-3991(18)30085-5.

**Righi LV.** Oncotherapy: A system for requesting chemotherapy protocols. *Studies in Health Technology and Informatics* 2015, 216-1121.

**Rigoulet M, Yoboue ED, Devin A.** Mitochondrial ROS generation and its regulation: mechanisms involved in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> signaling. *Antioxidants & Redox Signaling* 2011, 14(3), 459-468.

**Rojas K, Stuckey A.** Breast cancer epidemiology and risk factors. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2016, 59(4), 651-672.

**Romagnolo AP, Romagnolo DF, Selmin OI.** BRCA1 as target for breast cancer prevention and therapy. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* 2015, 15(1), 4-14.

**Romi MM, Arfian N, Tranggono U, Setyaningsih WAW, Sari DCR.** Uric acid causes kidney injury through inducing fibroblast expansion, endothelin-1 expression, and inflammation. *BMC Nephrology* 2017, 18(1), 326.

**Rosignoli P, Fuccelli R, Sepporta MV, Fabiani R.** *In vitro* chemo-preventive activities of hydroxytyrosol: the main phenolic compound present in extra-virgin olive oil. *Food & Function* 2016, 7(1), 301-307.

**Ryu SJ, Choi HS, Yoon KY, Lee OH, Kim KJ, Lee BY.** Oleuropein suppresses LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cell and zebrafish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2015, 63(7), 2098-2105.

**Sadowska AM, Specenier P, Germonpre P, Peeters M.** Antineoplastic therapy-induced pulmonary toxicity. *Expert Review of Anticancer Therapy* 2013, 13(8), 997-1006.

**Saito H, Watanabe Y, Sato K, Ikawa H, Yoshida Y, Katakura A, Takayama S, Sato M.** Effects of professional oral health care on reducing the risk of chemotherapy-induced oral mucositis. *Supportive Care in Cancer* 2014, 22(11), 2935-2940.

**Saji S, Toi M, Morita S, Iwata H, Ito Y, Ohno S, Kobayashi T, Hozumi Y, Sakamoto J.** Dose-finding phase I and pharmacokinetic study of capecitabine (Xeloda) in combination with epirubicin and cyclophosphamide (CEX) in patients with inoperable or metastatic breast cancer. *Oncology* 2007, 72(5-6), 330-337.

**Santillan AA, Kiluk JV, Cox CE.** Assessment and designation of breast cancer stage. In: Bland KI, Copeland III EM, eds. *The Breast*. 4th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2009, 429-451.

**Segura AM, Radovancevic R, Demirozu ZT, Frazier OH, Buja LM.** Anthracycline treatment and ventricular remodeling in left ventricular assist device patients. *Texas Heart Institute Journal* 2015, 42(2), 124-130.

**Shamshoum H, Vlacheski F, Tsiani E.** Anticancer effects of oleuropein. *Biofactors* 2017, 43(4), 517-528.

**Sherif IO, Nakshabandi ZM, Mohamed MA, Sarhan OM.** Uroprotective effect of oleuropein in a rat model of hemorrhagic cystitis. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2016, 74, 12-17.

**Sherif IO.** The effect of natural antioxidants in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity: Role of Nrf2/HO-1 pathway. *International Immunopharmacology* 2018, 61, 29-36.

**Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL.** A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research* 1988, 175(1), 184-191.

**Singletary ES, Connolly JL.** Breast cancer staging: Working with the six edition of the ajcc cancer staging manual. *A Cancer Journal for Clinicians* 2006, 56, 37-47.

**Smith PJ, Clavarino A, Long J, Steadman KJ.** Why do some cancer patients receiving chemotherapy choose to take complementary and alternative medicines and what are the risks? *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology* 2014, 10(1), 1-10.

**Sulpher J, Dent R, Dent S.** Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: what questions remain? *Current Opinion in Supportive and Palliative Care* 2014, 8(1), 59-63.

**Sun W, Wang X, Hou C, Yang L, Li H, Guo J, Huo C, Wang M, Miao Y, Liu J, Kang Y.** Oleuropein improves mitochondrial function to attenuate oxidative stress by activating the Nrf2 pathway in the hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats. *Neuropharmacology* 2017, 113, 556-566.

**Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical Chemistry* 1988, 34(3), 497-500.

**Sweet ES, Standish LJ, Goff BA, Andersen MR.** Adverse events associated with complementary and alternative medicine use in ovarian cancer patients. *Integrative Cancer Therapies* 2013, 12(6), 508-516.

**Tan DX, Manchester LC, Esteban-Zubero E, Zhou Z, Reiter RJ.** Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: synthesis and metabolism. *Molecules* 2015, 20(10), 18886-18906.

**Temraz S, Mukherji D, Shamseddine A.** Potential targets for colorectal cancer prevention. *International Journal of Molecular Sciences* 2013, 14(9), 17279-17303.

**Tietze F.** Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical Biochemistry* 1969, 27(3), 502-522.

**Topalović DŽ, Živković L, Čabarkapa A, Djelić N, Bajić V, Dekanski D, Spremo-Potparević B.** Dry olive leaf extract counteracts L-thyroxine-induced genotoxicity in human peripheral blood leukocytes in vitro. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015, 2015, 762192.

**Trendowski M, Fondy TP.** Targeting the plasma membrane of neoplastic cells through alkylation: a novel approach to cancer chemotherapy. *Investigational New Drugs* 2015, 33(4), 992-1001.

**Trendowski M.** The rhetoric of cancer. *Cancer Causes Control* 2014, 25(10), 1243-1246.

**Trivedi MS, Hoffner B, Winkelmann JL, Abbott ME, Hamid O, Carvajal RD.** Programmed death 1 immune checkpoint inhibitors. *Clinical Advances in Hematology & Oncology* 2015, 13(12), 858-868.

**Tsimberidou AM, Eggermont AM, Schilsky RL.** Precision cancer medicine: the future is now, only better. *American Society of Clinical Oncology Educational Book* 2014, 61-69.

**Tunacı M.** Memenin görüntülenmesi (Meme radyolojisi-MRG). Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu (MHDF) Meme Hastalıkları Kitabı, Çelik V. (Ed.), *Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri*, 2012, 125-139.

**Venkatakrishnan K, Friberg LE, Ouellet D, Mettetal JT, Stein A, Trocóniz IF, Bruno R, Mehrotra N, Gobburu J, Mould DR.** Optimizing oncology therapeutics through quantitative translational and clinical pharmacology: challenges and opportunities. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2015, 97(1), 37-54.

**Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, Pegram M, Oh DY, Diéras V, Guardino E, Fang L, Lu MW, Olsen S, Blackwell K.** Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *The New England Journal of Medicine* 2012, 367, 1783-1791.

**Vincent DT, Ibrahim YF, Espey MG, Suzuki YJ.** The role of antioxidants in the era of cardio-oncology. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 2013, 72(6), 1157-1168.

**Wang D, Li L, Yang H, Ferguson SS, Baer MR, Gartenhaus RB, Wang H.** The constitutive androstane receptor is a novel therapeutic target facilitating cyclophosphamide-based treatment of hematopoietic malignancies. *Blood* 2013, 121(2), 329-338.

**Wang T, Shigdar S, Gantier MP, Hou Y, Wang L, Li Y, Shamaileh HA, Yin W, Zhou SF, Zhao X, Duan W.** Cancer stem cell targeted therapy: progress amid controversies. *Oncotarget* 2015, 6(42), 44191-44206.

**Wardle J, Robb K, Vernon S, Waller J.** Screening for prevention and early diagnosis of cancer. *The American Psychologist* 2015, 70(2), 119-133.

**Watson J.** Oxidants, antioxidants and the current incurability of metastatic cancers. *Open Biology* 2013, 3(1), 120144.

**WEB\_1.** (2019). World Health Organisation. International Agency for Research on Cancer web sitesi, <http://globocan.iarc.fr> (Erişim Tarihi: 10.06.2019).

**WEB\_2.** (2019). Türkiye Kanser İstatistikleri-2017. T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü web sitesi. [http://kanser.gov.tr/Dosya/ca\\_istatistik/2014- RAPOR.\\_uzun.pdf](http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2014-RAPOR._uzun.pdf) (Erişim Tarihi: 24.05.2019).

**Wirth T, Yla-Herttuala S.** Gene therapy used in cancer treatment. *Biomedicines* 2014, 8, 2(2), 149-162.

**Wong KK, Li WA, Mooney DJ, Dranoff G.** Advances in therapeutic cancer vaccines. *Advances in Immunology* 2016, 130, 191-249.

**Yang Y.** Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer. *Journal of Clinical Investigation* 2015, 125, 3335-3337.

**Ye Z, Li Z, Jin H, Qian Q.** Therapeutic cancer vaccines. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2016, 909, 139-167.

**Yeh CM, Su SC, Lin CW, Yang WE, Chien MH, Reiter RJ, Yang SF.** Melatonin as a potential inhibitory agent in head and neck cancer. *Oncotarget* 2017, 8(52), 90545-90556.

**Yu HY, Friedlander DF, Patel S, Hu JC.** The current status of robotic oncologic surgery. *A Cancer Journal for Clinicians* 2013, 63(1), 45-56.

**Zhu YW, Feng TB, Zhou XJ, Hu XL, Ding J, Zhu WY, Qian DP, Sun YW.** Routine hemostasis and hemogram parameters: valuable assessments for coagulation disorder and chemotherapy in cancer patients. *Chinese Medical Journal* 2016, 129(15), 1772-1777.

## EKLER

Ek 1: Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izin belgesi



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK  
KURULU  
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 28.Kasım. 2017

**Oturum** : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2017 Yılı XI. Oturum  
**Sayı** : 64583101/2017/117  
**Proje Başlığı** : Ratlarda Epirubisin ve Siklofosfamid kombinasyon sağaltımında Oleuropein uygulamasının etkileri.  
**Proje Yürütücüsü** : Selim SEKKİN  
**Proje Ekibi** : Metin Deniz KARAKOÇ

**Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:**

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması  
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması  
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

**Hayvan Çalışması** İnsanlarda araştırma  
İnsan olmayan primatların kullanılması  
Transgenik hayvanların kullanılması  
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

**Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır**

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN  
Başkan

Prof. Dr. Turhan DOST  
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Jüsil SÖNMEZ  
Üye

Prof. Dr. Beniz ÇOBAN  
Üye

Prof. Dr. Yücel KOCA  
Üye

Doç. Dr. Evrim DERELİ FIDAN  
Üye

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ  
Üye

Vet. Hek. Dr. Büğül ÜNAL  
Üye

(Toplantıya Katılmadı)  
Yurdagül ALTINBAŞ  
Üye

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir

## ÖZGEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : Karakoç, Metin Deniz  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : Elbistan, 13.09.1980  
**Telefon** : 0 258 263 93 11  
**E-mail** : metindeniz.karakoc@saglik.gov.tr  
**Yabancı Dil** : İngilizce (YÖKDİL 2017 Sağlık Bilimleri: 87,50)

### EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Ün. Sağ. Bil. Ens. Farmakoloji ve Toksikoloji	24.06.2019
Y. Lisans	Pamukkale Ün. Sağ. Bil. Ens. Tıbbi Farmakoloji	18.01.2015
Lisans	Gazi Ün. Eczacılık Fakültesi	30.06.2003

### BURSLAR ve ÖDÜLLER:

1. T.C. Sağlık Bakanlığı İyi Hastane Eczacılığı Proje Yarışmasında “Onkoloji Hastalarında Farmasötik Bakım Faaliyetleri ve Onkoloji İlaçlarının Farmakoekonomik İlkelere Göre Temin edilerek Kullanılması ile Sağlanan Kazançlar” başlıklı çalışma ile Türkiye 2.'liği (14.05.2014)
2. 15-18.02.2018 tarihlerinde Antalya’da gerçekleştirilen Gençlerle Onkolojiye Bakış Kongresinde “Liyofilize Toz ve Konsantre Sıvı Form Okzaliptatin Müstahzarlarının Maruziyet Süresi ve Farmakoekonomik Bakımdan Karşılaştırılması” çalışması ile “En İyi Çalışma Ödülü”

### İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2004	Kıbrıs Türk Barış Kuvvetleri Komutanlığı/KKTC	Yedek Subay Eczacı
2005-2006	Cebeci Eczanesi Mamak/Ankara	Eczacı
2007-Halen	Denizli Devlet Hastanesi/Denizli	Eczacı



## AKADEMİK YAYINLAR

### 1. MAKALELER

**Karakoç MD.** A cost saving and waste minimization study about handling of the antineoplastic agents. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017;14(3):304-310.

**Karakoç MD, Uyanık Ö.** Bir kamu hastanesinde görevli hemşirelerin akılcı ilaç kullanımı konusundaki bilgi, tutum ve davranışlarının değerlendirilmesi. *SDÜ Sağlık Bilimleri Dergisi* 2018;9(2):112-118.

**Karakoç MD, Yapar Taşköylü B.** Occupational exposure reducing remedies in oncology units. *Eurasian Journal of Medicine and Oncology* 2019;3(2):108–111.

### 2. PROJELER

**Karakoç MD, Kortunay S, Kara CO, Topuz B.** Denizli ve yöresinde baş, boyun ve oral kavite tümürlü bireylerde CYP2E1 ve ALDH2 genetik polimorfizmlerinin hastalığa yakınlıkla ilişkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Denizli, 2014.

### 3. BİLDİRİLER

#### A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

**Karakoç MD, Kortunay S, Koseler A, Kara CO, Topuz B.** Frequencies of CYP2E1 and ALDH2 alleles and genotypes in Turkish head and neck cancer population, 7<sup>th</sup> European Congress of Pharmacology. 26-30 June 2016, İstanbul, Turkey Poster no: 216.

**Köseler A, Kortunay S, Karakoç MD, Kara CO, Topuz B.** Association with CYP2C9 polymorphism in head and neck cancer, 7<sup>th</sup> European Congress of Pharmacology. 26-30 June 2016, İstanbul, Turkey Poster no: 224.

**Karakoç MD, Yapar Taşköylü B.** Exposure reducing remedies in cytotoxic drug preparation, 54<sup>th</sup> Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2018), 2-5 September 2018, Brussels, Belgium Poster no: P12-29.

## **B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler**

**Karakoç MD.** Antineoplastik ilaç hazırlamada tıbbi malzeme tasarrufu ve atık ilaç miktarının azaltılması, 3. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 23-27 Mart 2016, Poster no: B-15.

**Karakoç MD.** Güvenli antineoplastik ilaç hazırlama eğitimi, 3. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 23-27 Mart 2016, Poster no: B-16.

**Karakoç MD, Uyanık O.** Bir kamu hastanesinde görevli hemşirelerin akılcı ilaç kullanımı konusundaki davranışlarının hekim ve eczacı perspektiflerinden değerlendirilmesi, 4. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 8-12 Mart 2017, Poster no: 4.

**Karakoç MD, Uyanık O, Demiray AG, Yapar Taşköylü B.** Kanser kemoterapisine bağlı emezis kontrolünde intravenöz kortikosteroidlerin rasyonel kullanımı, 4. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 8-12 Mart 2017, Poster no: 12.

**Karakoç MD, Uyanık O.** Sitotoksik ilaç imha nedenlerinin tespiti, 4. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 8-12 Mart 2017, Poster no: 21.

**Karakoç MD, Uyanık O.** Liyofilize toz ve konsantre sıvı form gemitabin müstahzarlarının hazırlama süresi ve farmakoekonomik açılarından karşılaştırılması, 4. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları Kongresi, Muğla, 8-12 Mart 2017, Poster no: 23.

**Karakoç MD, Yapar Taşköylü B, Demiray AG.** Liyofilize Toz ve Konsantre Sıvı Form Okzaliplatin Müstahzarlarının Maruziyet Süresi ve Farmakoekonomik Bakımdan Karşılaştırılması, Gençlerle Onkolojiye Bakış Kongresi, Antalya, 15-18 Şubat 2018, Sözel Bildiri No: 33.

**Karakoç MD, Demiray AG, Yapar Taşköylü B.** İntravenöz antineoplastiklerin rasyonel temini, Gençlerle Onkolojiye Bakış Kongresi, Antalya, 15-18 Şubat 2018, Poster No: 4.

**Ak Sakallı E, Madencioğlu D, Karakoç MD.** Kümülatif toksisite ve kümülatif doz takibi, 5. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları kongresi, Antalya, 07-11 Mart 2018, Poster No: 1.

**Karakoç MD, Köknar A, Ak Sakallı E.** Kemoterapi hastalarında akılcı ilaç uygulaması kazanımları, 5. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları kongresi, Antalya, 07-11 Mart 2018, Poster No: 21.

**Karakoç MD, Köknar A.** Pediatrik hastalarda ilaç uygulama hatalarının engellenmesi, 5. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları kongresi, Antalya, 07-11 Mart 2018, Poster No: 30.

**Karakoç MD, Köknar A.** Geriatrie akılcı ilaç kullanımı, 5. Ulusal Hastane ve Kurum Eczacıları kongresi, Antalya, 07-11 Mart 2018, Poster No: 33.

**Karakoç MD, Uyanık O, Demiray AG, Yapar Taşköylü B.** Kanser hastalarında ağız ve diş hastalıkları farkındalığı, 7. Türk Tıbbi Onkoloji Kongresi, Antalya, 21-25 Mart 2018, Poster no: EP-049.

**Karakoç MD, Uyanık O.** Kanser hastalarında tamamlayıcı ve alternatif tıp kullanımı, 7. Türk Tıbbi Onkoloji Kongresi, Antalya, 21-25 Mart 2018, Poster no: EP- 100.

**Yapar Taşköylü B, Demiray AG, Karakoç MD, Öç MA.** Pertuzumab tedavisi ile tam yanıt alınan metastatik meme karsinomlu olgu, 7. Türk Tıbbi Onkoloji Kongresi, Antalya, 21-25 Mart 2018, Poster no: EP-130.