



T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**CEREBROLYSİNİN SIÇANLARDA CİSPLATİNLE
İNDÜKLENEN OKSİDATİF BEYİN HASARINA ETKİSİ**

Feryaz HİRA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZİNCAN
2020

T.C.

ERZİNCAN BİNALI YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**CEREBROLYSİNİN SIÇANLARDA CİSPLATİNLE
İNDÜKLENEN OKSİDATİF BEYİN HASARINA ETKİSİ**

Feryaz HİRA

YÜKSEK LİSANS TEZİ




Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Renad Mammadov

ERZİNCAN
2020

TEZ KABUL SAYFASI

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programında öğrenci Feryaz HİRA tarafından Dr. Öğr. Üyesi Renad MAMMADOV danışmanlığında hazırlanan “**Cerebrolysinin Sıçanlarda Cisplatinle İndüklenen Oksidatif Beyin Hasarına Etkisi**” başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 30/01/2020 tarihinde yapılan tez savunma sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvan Adı Soyadı	İmza
Jüri Başkanı	Prof.Dr.Halis SÜLEYMAN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Renad MAMMADOV	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ali TAGHİZADEHGHALEHJOUGHİ	

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uygunluğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Feryaz HIRA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin boyunca yardım, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan başta bölüm başkanı Prof. Dr. Halis Süleyman olmak üzere danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Renad Mammadov'a ve Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalındaki tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen değerli arkadaşlarım Eyüp Yurt ve Burak Sarıkaya'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan eşim Nesrin Hira'ya oğlun Eyyüp Ensar Hira ve kızım Eslem Hira'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL SAYFASI.....	ii
TEZ BEYANI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	1
2.1. Beyin Anatomisi.....	1
2.1.1. Beyin (Encehalon).....	1
2.2. Oksidatif Stres	4
2.3. Antioksidanlar	5
2.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	6
2.3.2. Enzimatik Antioksidanlar.....	6
2.3.3. Nonenzimatik Antioksidanlar.....	7
2.3.4. Eksojen Antioksidanlar	10
2.4. Sisplatin.....	11
2.5. Cerebrolysin	12

3. MATERYAL ve METOT	14
3.1. Hayvanlar	14
3.2. Deney Grupları.....	16
3.2.1. Deney Prosedürü	16
3.3. Biyokimyasal Analizler.....	16
3.3.1. Beyin dokusunun Biyokimyasal Analizi.....	16
3.3.2. Numunelerin Hazırlanması.....	17
3.3.3. MDA Tayini	17
3.3.4. MPO aktivite Tayini.....	17
3.3.5. tGSH Tayini	18
3.3.6. SOD Aktivite Tayini	18
3.3.7. TOS ve TAS Ölçümü	18
3.4. Histopatolojik İnceleme	19
3.5. İstatistiksel Analizler.....	19
4. BULGULAR	20
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	20
4.1.1. MDA Sonuçları	20
4.1.2. MOP Sonuçları	21
4.1.3. tGSH Sonuçları.....	22
4.1.4. SOD Sonuçları.....	23
4.1.5. TAS Sonuçları	24
4.1.6. TOS Sonuçları	25
4.1.7. OSİ Sonuçları	26
4.2. Histopatolojik Bulgular	27

5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40
EKLER.....	65
EK 1. Etik Kurul Kararı	65
ÖZGEÇMİŞ	68



SİMGELER VE KISALTMALAR

ANOVA	:One-way Analysis of Variance
ATP	:Adenozin Trifosfat
AÜHADYEK	:Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
BUN	:Kan Üre Azotu
C vitamini	:Askorbik Asit
Ca²⁺	:Kalsiyum
CAT	:Katalaz
CIS	:Sisplatin
cis-pt(nh3)2cl2	:Moleküler Formül
Cu/Zn SOD	:Süperoksit Dismutaz
Cu	:Bakır
DHLA	:Dihidrolipoik Asit
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
EC SOD	:Süperoksit Dismutaz
EDTA	:Ethylenediaminetetraacetic acid
FDA	:Amerika Gıda ve İlaç Kurumu
GPO	:Glutasyon Peroksidaz
GR_x	:Glutasyon Reduktaz
GSH	:Endojen Glutasyon
GST	:Glutasyon s- transferaz
H₂O₂	:Hidrojen Peroksit
HDTMAB	:Hexa-Dexyl-Tri-Methyl-Ammonium Bromide
HNO₂	:Nitröz Oksit

HRO₂	:Hidroperoksit
KOAH	:Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LA	: α -Lipoik asit
LPO	:Lipit Peroksidasyonunu
LSD	:Least Significant Differences
MDA	:Malondialdehit
Mn SOD	:Süperoksit Dismutaz
Mn	:Mitokondride Manganez
NADPH	:Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NBT	:Nitro blue tetrazolium
NO	:Nitrik Oksit
NO₂	:Nitrojen Dioksit
O₂	:Speroksit
OH	:Hidroksit
ONOO	:Peroksinitrit
OSI	:Oksidatif Stres İndeksi
RNT	:Reaktif Nitrojen Türleri
RO₂	:Peroksit
RONOO	:Alkil Peroksinitrat
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
SDS	:Sodyum Dodesil Sülfat
Se-GP_x	:Glutasyon Peroksidaz
SOD	:Süperoksid Dismutaz
TBA	:Tiyobarbitürik Asit

TBH	:Travmatik Beyin Hasarı
Vitamin A	: β -karoten
Vitamin B9	:Folik Asit
Vitamin E	: α -tekoferol
Zn	:Çinko



TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Cihazlar ve Ekipmanlar	14
Tablo 3.2. Kimyasallar.....	15
Tablo 4.1. Beyin Dokusunda MDA $\mu\text{mol/gr}$ Protein Değerleri	20
Tablo 4.2. Beyin Dokusunda MPO u/g Protein Değerleri.....	21
Tablo 4.3. Beyin Dokusunda tGSH nmol/g Protein Değerleri	22
Tablo 4.4. Beyin Dokusunda SOD u/g Protein Değerleri.....	23
Tablo 4.5. Beyin Dokusunda TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri	24
Tablo 4.6. Beyin Dokusunda TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein).....	25
Tablo 4.7. Beyin Dokusunda OSİ Değerleri.....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1. Gruplara Göre MDA $\mu\text{mol/gr}$ Protein Değerleri	20
Şekil 2. Gruplara Göre MPO u/g Protein Değerleri.....	21
Şekil 3. Gruplara Göre tGSH nmol/g Protein Değerleri.....	22
Şekil 4. Gruplara Göre SOD u/g Protein Değerleri	23
Şekil 5. Gruplara Göre TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri	24
Şekil 6. Gruplara Göre TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein).....	25
Şekil 7. Gruplara Göre OSİ Değerleri	26
Şekil 8. Kontrol grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: nöron, ➤: astrosit, ★: kan kapilleri, ◆: endotel hücre, x200.....	28
Şekil 9. Sisplatin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: düzensiz nöron, ★: kuvvetli dilate ve kongeste kan kapilleri, ◆: şişkin endotel hücre, x200.....	29
Şekil 10. Sisplatin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: dejenere olmuş nöron, ➤: hipertrofiye ve dejenere olmuş astrosit, ☹: microglia hücresi, ★: kan kapilleri, x200.	30
Şekil 11. Sisplatin + Serebrosin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: nöron, ➤: astrosit, ★: hafif kongeste ve dilate olmuş kan kapilleri, ◆: endotel hücresi, x200.	31
Şekil 12. Sisplatin + Serebrosin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: nöron, ➤: astrosit, ★: kan kapilleri, ☹: azalmış microglia hücresi, x200.	32

ÖZET

Cerebrolysinin Sıçanlarda Cisplatinle İndüklenen Oksidatif Beyin Hasarına Etkisi

Giriş ve amaç: Sisplatin birçok kanser hastalığının tedavisinde yaygın kullanılan, platin türevi antikanser bir ilaçtır. Sisplatinin antikanser dozları beyin dokusunda ciddi hasara yol açmaktadır. Sisplatin ilişkili beyin hasarının patogenezinde oksidatif stres ve inflamasyonun rolü bilinmektedir. Sisplatine bağlı beyin hasarına karşı koruyucu etkisini araştıracağımız cerebrolysin, domuz beyinden türetilmiş nörokoruyucu ve nörotrofik etkili, düşük moleküler ağırlıklı peptidler ve amino asit içeren ilaçtır. Cerebrolysinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğunu gösteren yeni veriler rapor edilmiştir. Literetür taramalarında, cerebrolysinin sisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarına karşı koruyucu etkisine ait bilgilere rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, cerebrolysinin sıçanlarda sisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarına etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Materyal ve metot: Deneyde kullanılan albino wistar türü sıçanlar sağlıklı kontrol (SG, n=10), 2.5 mg/kg dozda sisplatin verilen (CIS, n=10) ve 2.5 ml/kg cerebrolysin + 2.5 mg/kg sisplatin (CCG, n=10) uygulanan gruplara ayrıldı. Cerebrolysin ve sisplatin intraperitoneal (ip) yoldan enjekte edildi. CIS ve SG gruplarına çözücü olarak distile su aynı yoldan verildi. Cerebrolysin, sisplatin ve distile su belirtilen doz ve hacimde günde bir defa 14 gün boyunca aynı yöntemle uygulandı. Bu süre sonunda, hayvanlar yüksek doz (50 mg/kg) tiopental anestezisi ile öldürüldü ve beyin dokuları çıkartıldı. Çıkarılan beyin dokularında malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), total glutasyon (tGSH), superoksid dismutaz (SOD), total antioksidan (TAS) ve total oksidan status (TOS) düzeyleri ölçüldü ve dokular histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: MDA, MPO ve TOS düzeyleri sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı yüksek ($P<0.001$) tGSH, SOD ve TAS düzeyleri ise düşük ($P<0.001$) bulunan sisplatin grubunun beyin dokusunda belirgin histopatolojik hasar tespit edilmiştir. Cerebrolysin grubunda ise histopatolojik hasarın minimum düzeyde olduğu saptanmıştır.

Sonuç: Deney sonuçlarımız, cerebrolysinin sisplatine bağlı oksidatif beyin hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Beyin, Cerebrolysin, Oksidatif Stres, Oksidan, Antioksidan

ABSTRACT

The Effect of Cerebrolysin on Cisplatin Induced Oxidative Brain Injury in Rats

Background and aim: Cisplatin is a platinum-derived anticancer drug that is widely used in the treatment of many cancer diseases. Anticancer doses of cisplatin cause serious damage to brain tissue. The role of oxidative stress and inflammation is known to be in the pathogenesis of cisplatin-related brain injury. Cerebrolysin is a neuroprotective and neurotrophic-derived drug with low molecular weight peptides and amino acids. Therefore, the aim of this study is to investigate the effect of cerebrolysin on cisplatin-induced oxidative brain injury in rats biochemically and histopathologically.

Materials and methods: Albino wistar rats used in the experiment were divided into three groups as healthy control group (SG, n=10), the group given cisplatin at a dose of 2.5 mg / kg (CIS, n=10) and the group given 2.5 ml / kg cerebrolysin + 2.5 mg / kg cisplatin (CCG, n=10). Cerebrolysin and cisplatin were injected intraperitoneally (ip). Distilled water was used as the solvent for CIS and SG groups. Cerebrolysin, cisplatin and volumetric water were administered in the same dose and volume once daily for 14 days by the same method. At the end of this period, the animals were sacrificed by high dose (50 mg / kg) thiopental anesthesia and brain tissues were removed. Malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), total glutathione (tGSH), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant (TAS) and total oxidant status (TOS) levels were measured in the extracted brain tissues and tissues were examined histopathologically.

Results: MDA, MPO and TOS levels were significantly higher ($P < 0.001$) tGSH, SOD and TAS levels were lower ($P < 0.001$) compared to cerebrolysin group. In the Cerebrolysin group, histopathological damage was minimal.

Conclusion: Our results indicate that cerebrolysin may be useful in the treatment of cisplatin-induced oxidative brain injury.

Keywords: Brain, Cerebrolysin, Oxidative Stress, Oxidant, Antioxidant

1. GİRİŞ

Bilindiği gibi, sisplatin (cisdiamminedichloroplatinum) baş, boyun, akciğer, testis ve over kanseri gibi, pek çok malign hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin türevi antikanser bir ilaçtır (1). Sisplatinin antikanser aktivitesi doz artışıyla belirgin şekilde artmaktadır (2). Ancak, sisplatinin belirgin antikanser aktivite gösteren yüksek dozları birçok doku ve organlarda toksik etki oluşturmaktadır (3). Özellikle de sisplatin kaynaklı nörotoksisite doz azalmasına veya kemoterapinin erken kesilmesine neden olmaktadır (4). Ayrıca, epilepsi, felç ve nöropati, bilinçte değişiklikler, serebral infarktlar sisplatin tedavisinin sıklıkla doz sınırlayıcı bir yan etkisidir (5). Sisplatinin insan beynine girdiği ve beyin omurilik sıvısında önemli bir sisplatin konsantrasyonu ile sonuçlandığı bildirilmiştir (6). Sisplatinin bu nörotoksik ve sitotoksik etkilerinin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (7). ROS lar hücre membran yağ asitleri üzerine etki ederek lipid peroksidasyonunu (LPO) başlatırlar. LPO, birçok organizmada hasarlara neden olan reaksiyonlar sürecidir (8). LPO sonucunda ortaya çıkan çeşitli ürünlerden en iyi bilinenleri MDA dir. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak, membranlarda reseptörleri ve membrana bağlı enzimleri inaktive etmek suretiyle membran proteinlerinde de ciddi hasarlar meydana getirebilirler (9). Doku bütünlüğünün ve fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesi için aşırı üretilen ROS lar, endojen glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPO), glutatyon reduktaz (GRx), glutatyon s- transferaz (GST), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve diğer endojen antioksidan savunma sistemlerince nötralize edilirler (10). Sisplatinin organ ve dokular üzerindeki toksik etki mekanizmasına yönelik araştırmalar, antioksidanların sisplatin toksisitesini azaltmada yararlı olacağını düşündürmektedir.

Sisplatinin oksidatif beyin hasarına karşı koruyucu etkisini araştıracağımız cerebrolysin, domuz beyninden türetilmiş nörokoruyucu ve nörotrofik etkili, düşük moleküler ağırlıklı peptidler ve amino asit içeren ilaçtır. Devam eden araştırmalar neticesinde, cerebrolysin antioksidan özelliklerini gösteren veriler ortaya çıkmıştır (11). Cerebrolysinin ayrıca, oksidatif stresi baskılayarak, hücre apoptozisini önlediği bildirilmiştir (12). Bir başka çalışmada cerebrolysinin akut strelerle indüklenen lipid peroksidasyonunun artışı stabilize ettiği vurgulanmıştır (13). Literetürlerden

edinilen bu bilgiler, cerebrolysinin beyin dokusunu cisplatinle indüklenen oksidatif hasara karşı koruyabileceğini düşündürmektedir. Literetür taramalarında cerebrolysinin cisplatinle indüklenen olası beyin oksidatif hasarına karşı koruyucu etkisine ait bilgilere rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızın amacı, cerebrolysinin sıçanlarda cisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarına etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Anatomisi

2.1.1. Beyin (Encephalon)

İnsan beyni takribi 1.400 g olup tüm beden ağırlığının %2'si kadardır. Bu oran yeni doğanlarda %10 civarındadır. Beyin rhombencephalon, mesencephalon ve prosencephalon olmak üzere üç bölüme ayrılmaktadır (14, 15).

2.1.1.1. Rhombencephalon

Rhombencephalon medulla oblongata (bulbus), pons ve cerebellum'dan oluşmaktadır.

2.1.1.1.1. Medulla Oblongata (Bulbus)

Medulla oblongata beyin sapının (truncus encephali) en kaudalindedir. Bu yapı 3 cm boya sahip, çapı 2 cm olup yaklaşık olarak 5-8 g ağırlığındadır. Medulla oblongatanın sınırlarını üste pons altta ise medulla spinalis oluşturmaktadır. Medulla oblongata'nın alt sınırında bulunan medulla spinalis'teki canalis centralis bulbusun üst yarısında genişleyerek ventriculus quartus'un alt yarısını oluşturur (14, 16).

Bulbusun dış yapısında yer alan decussatio pyramidum'un üzerinde fissura mediana anterior yer alır ve bunun her iki yanında pyramis bulbi adı verilen kabartılar bulunur. Bu kabartıların leteralinde suleus anterolateralis yer alır. Bununda leteralinde oliva adı verilen yapılar bulunur (16-18).

2.1.1.1.2. Pons

Beyin sapının orta parçasıdır altında medulla oblongata üstünde mesencephalon ile devam eden parçadır. Pons ortalama 2,5 cm uzunluğunda cerebellum ile önündedir. Aşağısında medulla oblongata, yukarisindada mesencephalon ile devamlıdır. Sulcus basilaris ön yüzde, orta hatta vertikal olarak seyreden oluğa verilen isimdir. Arteria basilaris bu oluğun içerisinde bulunur. Pons'un arka yüzü ventriculus quartus'un tabanının üst yarısını oluşturur (14, 16).

2.1.1.1.3. Cerebellum

Bulbus ve pons'un arka kısmında yer alan fossa cranii posterior'a yerleşmiş iki hemispherium cerebelli ve ortada bunları birleştiren vermis cerebelli'den oluşmuştur. Cerebellum beynin ikinci büyük parçasıdır ve ortalama ağırlığı 150 g'dır. Cerebellum üç lopa ayrılır. Bu loplar Lobus cerebelli anterior, Lobus cerebelli posterior ve Lobus flocculonodularis'dır. Cerebellum'un fonksiyonları hareketlerin düzenli, amaca uygun bir kuvvette ve bir koordinasyon içinde yapılmasını, statik ve dinamik postürün sağlanmasını, karmaşık motor hareketlerinin öğrenilmesini ve düzenlemesini organize eden bir merkezdir (16-18).

2.1.1.2. Mesencephalon

Mesencephalon beynin en küçük parçasıdır. Mesencephalon 2 cm uzunluğunda olup arkasında cerebellum, aşağıda pons ve yukarıda diencephalon arasında kalan parçadır. Mesencephalon'un dış yapısı incelendiğinde vertikal yüzünde sağ ve sol pedunculus cerebri görülür. Mesencephalon ile pons'un arka yüzündeki sınırını nervus trochlearis'ler ön yüzündeki sınırını da sulcus pontokruralis oluşturur.

Mesencephalon'un iç yapısı incelendiğinde transvers kesitlerde önden arkaya doğru sırasıyla crus cerebri, tegmentum ve tectum olmak üzere üç kısma ayrılır. Crus cerebri ve tegmentum, mesencephalon'un ön yüzünde yer alan pedunculus cerebri'yi oluşturur (16-18).

2.1.1.3. Prosencephalon

Prosencephalon beynin en büyük bölümünü oluşturur. Diencephalon ve telencephalon olmak üzere iki kısma ayrılır (14, 16).

2.1.1.3.1. Diencephalon

Thalamus, hypothalamus, metathalamus, epithalamus ve subthalamus olmak üzere beş bölümden oluşur. Thalamus; koku duyusu dışında tüm duyu organlarının cortex cerebri'ye iletilmesinde rol alır. Yumurta şeklindedir. Cortex cerebri'nin derininde yer alan bir nucleus grubudur. Diencephalon'un altında sırasıyla chiasma opticum, tractus opticus, infundibulum, tuber cinereum ve corpus mamillare'ler bulunur. Corpus mamillare ile commissura posterior'u birleştiren sınır ile diencephalon ve

mesencephalon birbirinden ayrılır. Diencephalon ile telencephalon ayırım yeri foremen interventriculare ile chiasma opticum arasındaki hattır. Hypothalamus'un görevleri arasında sıvı elektrolit dengesi, üreme fonksiyonları, vücut ısısının kontrolü ve birçok duygusal cevabın endokrin sistem tarafından düzenlenmesi sayılabilir. Metathalamus diensefalon (ara beyin)'un bir bölümü; thalamus'un, corpus geniculatum laterale ve corpus geniculatum mediale'yi içeren arka ucudur. Subthalamus thalamus dorsalis ile tegmentum mesencephali arasında yer alır. Kas kontraksiyonu kontrolünde görev yapar. (Corpus striatum ile olan bağlantısı sayesinde). Epithalamus thalamus'un arka kısmında yer alır. İnce bir uzantısı vardır. Bu uzantı epifiz bezidir. Epifiz bezi melatonin hormonu salgılar. Bu hormon ise biyolojik saatin ayarlanmasında görev alır. Subthalamus thalamusun aşağısında, ortabeyin tegmentumu ile thalamus-hipothalamus arasında kalan diencephalon bölümüdür. Subthalamus ayrıca, mesencephalon tegmentumundan geçerek talamik çekirdeklere ulaşan spinal, medial ve trigeminal lemniskal yolların da geçiş yeridir. Subthalamus motor yolların araistasyonu olup ekstrapiramidal sistemde görev yapar (14, 16-18).

2.1.1.3.2. Telencephalon

Beyin hemisferlerinin oluşturduğu ve santral sinir sistemini oluşturan en büyük bölümü olan telencephalon, fissura longitudinalis cerebri adı verilen bir yarıkla birbirinden ayrılmıştır (14, 16).

Telencefalonun içerisinde ventriculus lateralis'ler yer alır. Bu hemisferlerin dış yüzünde cortex cerebri bulunur. Cortex cerebri; beyin hemisferlerinin dış yüzünü kuşatan gri cevher yapısıdır (14, 16).

Beyin hemisferlerinin dış yüzlerinde gyrus denen kabartılar bunların arasındada sulcus denen oluklar vardır. Gyrus ve sulcusların yapısı bireyden bireye değiştiği gibi sağda ve soldaki hemşferleri karşılaştırdığımızda bile farklılık gösterir. Burada bulunan oluklar nedeniyle beyin hemisferleri lobi cerebri adı verilen loblara ayrılmıştır. Bu loblar buldukları yere ve komşu oldukları kemiğe göre isimlendirilmiştir. Bunlar lobus frontalis, lobus occipitalis, lobus temporalis, lobus parietalis, lobus insularis (Insula) ve lobus limbicus olarak 6 lobus'a ayrılmaktadır (14, 16).

2.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; sebebi hücre içerisinde oksidan ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin prooksidasyon yönünde artış göstermesi ya da antioksidanların azalış göstermesi olayıdır. Eğer bu denge korunursa organizmalar oksidatif stresin zararlı etkilerine maruz kalmazlar. Denge korunamaz ise aşırı miktarda reaktif oksijen nitrojen ürünleri ürer (20). Bunun sonucu olarak ortaya çıkan oksidatif stres lipid, protein, DNA gibi biyomoleküllere zarar vererek hücrede hasara hatta ölüme neden olabilir. Buna bağlı olarak oluşan molekül bozuklukları kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), Parkinson, preeklampsi, kardiovasküler hastalıklar, kanser gibi birçok hastalıkla ilişkisi olduğu ortaya çıkmıştır (20- 26).

Hücre içerisinde serbest radikallerin oluşmasıyla ya da antioksidanların baskılanmasıyla da oksidatif stres ortaya çıkar. Organizma tarafından sürekli oluşturulan serbest radikaller antioksidan savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılan moleküllerdir (27).

Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu bileşiklerdir (28). Serbest radikal molekülü bu eşleşmemiş elektron nedeni ile kararsız konumdadır. Kararlı yapı kazanabilmesi için eşleşmemiş elektron başka bir elektronla eşleşmesi gerekir (29).

Serbest radikaller üç gruba ayrılır. Bunlar reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktiflerdir. Bunların içerisinde en önemli serbest radikaller reaktif oksijen türleridir (30).

İnsan hayatı için gerekli olan endojen ve eksojen olarak üretilen ROT'un tipik özellikleri düşük konsantrasyonlar da bile yüksek etkili ve yüksek derecede reaktif olmalarıdır (31). ROT'lar hücre içerisinde belirli bir istikrarda olduğunda hücre sinyalizasyonu ve hemeostazisinde rol alırlar. Buna bağlı olarakta zararlı organizmalara karşı sitotoksik etki oluştururlar. Eğer ROT'ların hücre içi miktarı artarsa hücrelerin lipid, protein karbonhidrat ve DNA gibi yapılarına zarar verirler (32). Bir enerji kaynağı olarak hizmet veren mitokondri ROT'un ana endojen kaynağıdır. Düzenli bir aerobik solunum sırasında bir dizi H₂O sebebiyle oluşan O²'yi kullanır. (31) O² yaşam için vazgeçilmez elementtir. Hücreler enerji üretmek için O²'yi kullanırken Adenozin trifosfat (ATP) üretimi sırasında serbest radikaller

oluşur. Bu reaksiyonlar bağlı oluşan ürünler genellikle ROT'tur. Ancak ROT'ların yanı sıra hücrel redoks döngüsü esnasında reaktif nitrojen türleri (RNT) de ortaya çıkmaktadır (33). Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinden serbest radikal olarak süperoksit (O^2), hidroksit (OH), peroksit (RO_2), hidroperoksit (HRO_2), nonradikal olarak hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit türlerini sayabiliriz. Reaktif nitrojen türlerinden serbest radikal olarak nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit (NO_2)'i nonradikaller olarakta peroksinitrit (ONOO), nitroz oksit (HNO_2), alkil peroksinitrat (RONOO)'ı sayabiliriz (34). Serbest radikallerin etkileri arasında başta lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA zarar görmektedir. Kolesterol ve yağ asitleri hücre membranında serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyona neden olur. Böylece membran akışkanlığı ve geçirgenliği bozularak geri dönüşsüz hasara neden olur (35, 36). Proteinlerin yapısındaki aminoasit kompozisyonuna göre serbest radikallerden etkilenme durumu değişiklik gösterir, Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitlerle serbest radikaller reaksiyona girerek proteinlerin üç boyutlu yapısına zarar vererek proteinlerin normal fonksiyonlarını yapmasını engellerler (32, 35). Serbest radikaller DNA yapısında mutasyonlara, DNA zincir yarılmaya, DNA-protein çapraz bağlarına sebep olur (35, 37).

2.3. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını engelleyen, bu maddeleri ortadan kaldıran ve detoksifikasyonu sağlamak üzere vücutta görev yapan endojenik ve eksojenik yapılara "antioksidanlar" adı verilir. Bu maddeler oksidatif hasarın önlenmesinde görev alırlar (38- 40).

Endojenik antioksidanlar enzimatik ve non enzimatik diye ikiye ayrılır. Enzimatik olanlara örnek süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), glutatyon redüktaz (GR), sayılabilir. Non enzimatik olanlarda glutatyon, ferritin, albumin, transferrin proteinleri gibi bileşikler sayılabilir. Eksojenik antioksidanlara örnek meyve, sebze ve baharatlarda bulunan vitamin C, E, A, likopen, karetenoid, flavanoid, antosiyanin, curcuminoid gibi maddeler sayılabilir (44).

Antioksidanlar serbest radikalleri etkisini ortadan kaldırmak için yeteri derecede kararlı yapıya sahiptirler (41, 42). Antioksidanlar, radikallerle oldukça hızlı bir şekilde reaksiyona girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddelerdir (43).

2.3.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar toplayıcı (scavenging), bastırıcı (quencher), onarıcı (repair) ve zincir kırıcı etki (chain breaking) oluştururlar.

Toplayıcı etki; antioksidanların serbest radikalleri tutarak onları etkisiz hale getirmesi olayıdır. Antioksidan enzimlerin etkisi böyle olur. *Bastırıcı etki*; antioksidanların hidrojen atomunu serbest radikallere vererek onları etkisiz hale dönüştürmesine bastırıcı etki denir. Vitaminler, flavanoidler, antosiyanoidler bu şekilde etki gösterirler. *Onarıcı etki*; bu etki ile okside proteinler proteolitik enzimler tarafından, membran lipidleri ise lipazlar, açıl transferazlar ve peroksidazlar tarafından yok edilirler. *Kırıcı etki*; antioksidanlar-radikallerin yapılarındaki zincirleri kırıp, bunları kendilerine bağlayarak işlevlerini engellemesi olayıdır. Mineraller, hemoglobin bu şekilde etki gösterirler (35).

2.3.2. Enzimatik Antioksidanlar

Bu enzimler enzimatik savunma sistemini oluşturan antioksidanlardır.

Enzimatik oksidanlardan süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GP_x) ve Glutasyon redüktaz (GR_x) bileşikleri savunma hattını oluşturan antioksidanlardır (33, 45-47).

2.3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getirmeye çalışan ilk savunma hattını oluşturur (57, 59). SOD süperoksit radikallerini oksijen (O₂), Hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene (O₂) katalizleyen enzimatik antioksidandır. Bu olaydan sonra hidrojen peroksit, CAT veya GP_x ile ortamdan uzaklaştırılır (62). İnsanlarda SOD'un üç formu bulunur. Bunlardan sitozolde bulunan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD), mitokondride manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) ve hücre dışı sıvılarda ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) bulunur (46, 48).

2.3.2.2. Katalaz (CAT)

Dört protein alt birimden meydana gelen ve her bir alt birim, bir hem grubu birde NADPH molekülü içeren yapıdır (47, 48). Bazı katalazda NADPH molekülü yüzeye yakın ve sıkı bir şekilde bağlanmıştır (49). CAT, büyük ölçüde hücre içi organellerde (peroksizomlar gibi) ve daha düşük olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda yer alırlar. Hidrojen peroksitin, H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü sağlar. Süperoksit radikali, SOD yardımıyla H_2O_2 'ye dönüştürülür (50).

2.3.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GP_x)

Hücre stoplazmasında bulunan glutasyon peroksidaz H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri korur. GP_x H_2O_2 'den OH'nın meydana gelmesini engeller. Dört protein alt biriminden oluşan GP_x her bir alt biriminde selenyum otomu içerir. (48) Glutasyonu (GSH) enerji kaynağı olarak GP_x H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri metabolize eden bir enzimdir. İki tip GP_x enzimi saplanmıştır. Bunlardan selenyum içeren ve selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se- GP_x) aktif bölgesindedir. Se- GP_x , H_2O_2 ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde falaliyet gösterir (52, 53).

2.3.2.4. Glutasyon Redüktaz

Flavoprotein bir enzim olan glutasyon redüktaz flavin adenin dinükleotid (FAD) içerir. Glutasyon redüktaz NADPH'nin bir elektronun okside glutasyonun disülfid bağlarına aktararak yenide GSH'ye dönüştürür. NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir. NADPH'nin en önemli kaynağı heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yoludur (45, 54).

2.3.3. Nonenzimatik Antioksidanlar

Glutasyon, melononin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit seruloplazmin ve transferrin enzimatik olmayan antioksidanlardır (33, 45- 47, 55, 56).

2.3.3.1. Glutasyon

Yüksek yoğunluklarda bulunan glutasyon aşağı yukarı bütün okaryotik hücrelerden sentezlenir. Bir antioksidan olarak hareket eden glutasyonun başlıca

görevleri hücrenin redoks durumunu koruma, detoksifikasyon sisteminin çalışması, eikosonoidlerin sentezlenmesi, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesi gen ekspresyonunda ve apoptozisde sayılabilir (57).

2.3.3.2. Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksi-triptamin), birçok yerden sentezlenir ama temelde pineal bezden üretilerek dolaşıma salgılanır (58) melatonin serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltarak bütün hücre içi bölümlerde makromerleri oksidatif hasardan korur. Bunun yanında protein ve lipitlerin yanı sıra çekirdek DNA'sını ve mitokondrial DNA'yıda korur. Antioksidan olarak faaliyet gösteren melatonin hücreyi serbest radikallerden korur (59).

2.3.3.3. Ürik Asit

Ürik asit atık ürün olarak kabul edilir. Yüksek yoğunluklarda kristalize olduğu için böbrek taşlarına ve gut artritise sebep olabilir. Kanın toplam antioksidan kapasitesinin yarısından sorumlu olan ürik asit hidroksil, singlet oksijen, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrik asiti etkisiz hale getirerek geçiş metallerini şelatlar. Bunların yanı sıra lipit peroksidasyonunu engelleyen ürik asit Fe ve Cu gibi metal iyonlarının şelatorları olarak ta görev yapar (60, 61).

2.3.3.4. Bilirubin

Bilirubin ömrünü tamamlayan eritrositlerin parçalanmasıyla eritrositlerin içerisinde bulunan hem proteinlerin yıkımıyla oluşur. Dolaşım esnasında karaciğer tarafından biyotrasfarmasyona uğratarak safra veya idrarla atılır. İyi bir antioksidan olan bilirubin peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı etki gösterir (62, 63).

2.3.3.5. Albumin

66 kDa'lık bir molekül ağırlığına sahip olan albümin 585 aminoasit içerir. Yüksek derecede çözünebilir olan bu protein insan plazmasında 35-50 mg/ml arasında bulunur. Önemli bir antioksidan olan, vücut içerisinde farklı bölümler arasındaki sıvının dağılımında ve osmotik basıncın düzenlenmesinde kritik öneme sahip bu protein birçok fizyolojik ve farmakolojik öneme sahiptir. Sağlıklı bireyde, albuminde bulunan sistein 34'ün yaklaşık %70-80'i serbest sülfidril grubu içerir.

Geri kalan sistein, homosistein ya da GSH gibi çeşitli bileşikler ile bir disülfidril oluşturur (64).

2.3.3.6. Koenzim Q10

Aerobik solunum, aerobik metabolizma ve hücre solunumu esnasında enerji üretiminde önemli olan koenzim Q10 insan vücudunda doğal olarak üretilen vitamin benzeri bileşiklerdir. Vücuttaki kimyasal reaksiyonlara enerji sağlanmasında önemli rol oynar. Vücut üretilmelerine rağmen, kandaki seviyeleri yaşa, yaşam tarzı ve çevresel faktörlere bağlı olarak azalır. İyi bir antioksidan olan koenzim Q10 mitokondriyal iç membranındaki solunum zincirinin elektron ve proton transportuna katılarak oksidatif stresi azaltır, hücre ve dokularda serbest radikal oksidasyonunu önleyen bileşiklerdir (65).

2.3.3.7. α -Lipoik Asit

α -Lipoik asit (LA) ve dihidrolipoik asit (DHLA) güçlü antioksidanlardır. α -Lipoik asit hidroksil, hipokloröz asit, peroksinitrit anyonu ve singler oksijeni temizler. DHLA ayrıca süperoksit ve peroksit radikallerinide temizler (65).

2.3.3.8. Selenyum

Bağışıklık sisteminde rol alan antioksidan bir elementtir. Selonosistein olarak ta adlandırılan bu element aminoasit sentezi için kullanılır ve selenoprotein fonksiyonu için çok önemlidir. İnsan vücudunda en az 25 selenoprotein bulunur. Bunlar antioksidan enzimler, antioksidan proteinler ve diğer metabolik enzimlerin görevlerine göre sınıflandırılırlar. Selenyum, GP_x aktivitesini artırarak ROS oluşumunu engeller (66).

2.3.3.9. Seruloplazmin

Beyin dahil birçok dokudan sentezlenen antioksidan proteindir. Seruloplazmin kandaki Cu'nun %95'ini taşıyan α_2 serum glikoproteinidir. Seruloplazmin Cu metabolizmasında görev alır ve Cu'a geri dönüşümlü olarak bağlanır. Ayrıca serbest radikallerin oluşumunu da baskılar (67).

2.3.3.10. Transferrin

Transferrin esas olarak serumda bulunur. Bunun yanında diğler vücut sıvılarında da düşük oranlarda bulunur. Esas görevi hücrelere Fe³ taşır. Transferrin önemli bir büyüme faktörüdür. Ayrıca dolaşımdaki serbest demiri bağlar ve fenton reaksiyonunu önler (67).

2.3.4. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanları iki grupta sınıflandırılır (32, 59, 61). Bunlar; vitamin eksojen antioksidanlar ve ilaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlardır.

2.3.4.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

α -tekoferol (Vitamin E), β -karoten (vitamin A), askorbik asit (C vitamini), ve folik asit (Vitamin B9) vitamin kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılır (43, 68, 70).

2.3.4.1.1. E Vitamini

Yağda çözünen bir vitamin olan E vitamini yüksek antioksidan potansiyele sahiptir. Sekiz stereoizomeri olan asimetric bir bileşiktir. Serbest radikallerin hasarlarından hücre membranlarını koruyan bir antioksidandır. Bu antioksidan lipid peroksidasyonunu karşı korunmada rol alır (33).

2.3.4.1.2. Vitamin C

Suda çözünen bir vitamin olup askorbik asit olarak ta bilir. Bu vitamin karnitin, kollojen ve nörotransmitter sentezinde görev alan bir antioksidandır. (69) birçok reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini süpürerek oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlar (43).

2.3.4.1.3. β -karoten

Karotenoidlerin yağda çözünen bir üyesi olan β -karoten A vitaminine dönüşebildikleri için provitamin olarak ta adlandırılırlar. Retinada retinole dönüşerek geçe görüşünü artırır. Serbest radikalleri temizlerler (33).

2.3.4.1.4. Folik Asit

Suda çözünen bir vitamin olan folik asit DNA sentezi ve kırmızı kan hücrelerinin üretimi için gereklidir. Kadın ve erkeklerde fertilitte için gerekli olan

folik asit ayrıca gebelikte ve çocukluk gibi büyüme peryotlarında gereklidir (71). Erkeklerde de için gerekli bir vitamindir. Bu vitamin ROS'u süpüren önemli bir antioksidandır (72).

2.4. Sisplatin

Diğer bir deyişle cis- Diamineplatinum dikloride (II) ağır bir metal olan platin içeren sisplatin tek başına ya da diğer antineoplastik ajanlarla birlikte kullanıldığında baş-boyun, akciğer, testis, over ve meme gibi birçok solid organ kanserinin tedavisinde kullanılan güçlü bir antineoplastik ajandır (73-77). Sisplatin radyoterapiyle birlikte özafagus kanseri ve lokalize servikal kanserlerin tedavisinde de kullanılır. Antineoplastik ajanların tek başlarına başarısız oldukları katı tümörlerin tedavisinde sisplatinle beraber kullanılırlar. Sisplatinin dozunun artırılmasına bağlı olarak terapötik etkileri hissedilir derecede artmaktadır (82, 112). Amerika Gıda ve İlaç kurumu platin grubu taşıyan kemateropötikleri altı sınıf kematerapötik ten biri olarak kabul etmiştir. (111).

Sisplatin hücre bölünmesini inhibe eder bu yüzden antibakteriyel özelliğede sahiptir (78). Bu kompleks suda çözünen platinum içeren inorganik bir ilaçtır. Moleküler formülü cis-(Pt(NH₃)₂Cl₂)'dir (79). Sisplatin sitotoksik etkilerini, kanserli hücrelerin DNA'larındaki pürin bazlarına kovalent olarak bağlanarak transkripsiyon ve DNA replikasyonunu bozarak bu hücrelerin bölünmelerini durdurup onları ortadan kaldırarak etkisini gösterir. Kan beyin bariyeri sebebiyle merkezi sinir sistemine geçişi çok zayıf olan bu ilaç intravenöz yolla alındıktan sonra çok kısa bir sürede plazmada en yüksek seviyeye ulaşır. Sisplatin vücuda verildikten sonra karaciğer, böbrek ve bağırsaklarda yüksek konsantrasyonlara ulaşabilir (80). Katı tümörlerin tedavisinde etkin bir şekilde kullanılan ve etkin bir kemoterapötik ajan olan sisplatinin en önemli yan etkileri hepatoksisite ve nefrotoksisitedir. Ancak bulantı-kusma, nefrotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite ve daha seyrek olarak ta oküler toksisite gözlenebilir (81). Doğal veya yapay toksik maddelerin sinir sisteminin normal aktivitesini olumsuz yönde değiştirmesine nörotoksisite denir. Bu değişiklik bazen nöron ölümüne kadar gidebilir. Nörotoksik maddeler eksojen veya endojen kaynaklı olabilir. Nörotoksisite tipleri nöronopati, aksonopati, myelinopati ve iletim toksisitesi şeklinde gruplandırılmıştır. Nöronopati, nöron hücre ölümüdür

ve hücreler yerine konmaz. Aksonopati, aksonun dejenerasyona uğramasıdır, geri dönüşümlüdür. Myelinopati, myelinli yapıda oluşan hasardır. İletim toksisitesinde ise nörotransmisyon bloke olmuştur (75). Burada önemli olan cisplatinin yan etkilerine karşı korunmanın sağlanmasıdır (113). Cisplatin yüksek dozda böbrek fonksiyonlarını bozan bir renal toksin olarak değerlendirilen kemoterapötiktir. Uygulanan hastalarda takip eden günlerde böbrek hasarı parametrelerinde artış gözlenir. Eğer hastaya önceden diürez yeteri miktarda verilirse nefrotoksisite önemli ölçüde azalır (82). Sisplatin böbreklerde tubuler hasar yapmaktadır. Buna bağlı olarak Ca^{+2} reabsiyonunu etkiler ve üriner Ca^{+2} kaybına neden olur. Burada ki problemin ana nedeni hipomagnezemi olduğu hipokalsemininde bunun sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (83). Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitede, kan üre azot (BUN) seviyesinde artış, glomerular filtrasyon hızında yavaşlama, tübüler nekroz ve potasyum magnezyum kaybı (114), proksimal tübüldede dejenerasyonlar ve nekrotik lezyonlar şekillenir (114, 115).

Sisplatin uygulamasından birkaç dakika sonra ateş hemoliz gibi alerjik reaksiyonlar, anaflaktik reaksiyonlar, taşikardi, fasial ödem, bronkokonstriksiyon, hipotansiyon şekillenir. Bu durum intravenöz olarak epinefrin, kortikosteroidler antihistaminikler verilerek tedavi edilir (84, 85). Sisplatin uygulanan hastalarda iç kulak etkilenir (85). Bu toksik etki sisplatine bağlı ROB oluşumundaki artışa bağlıdır (86).

Sisplatin hidrofilik bir madde olduğu için kan beyin bariyerinden dolayı beyine kolayca penetre olamaz. Ancak bu geçirgenlik kısa süreli hipoksi veya hipopolissakkarit enjeksiyonu ile değişebilmektedir ve serabral kortekste pilatin içeriği artmaktadır. Cisplatin uygulanan hastalarda mental hasara rastlanmıştır (87).

2.5. Cerebrolysin

Cerebrolysin domuz beyni proteinlerinden elde edilen düşük molekül ağırlıklı peptitler ve serbest aminoasitleri içeren bir ilaçtır (88, 89). Son yıllarda yapılan çalışmalar cerebrolysin'in travmatik beyin hasarı, omurilik hasarı, iskemi felç, hipertermi, nörolojik ağrısı olan hastalarda ve beyin patolojisinin azalmasında çok etkili bir ilaçtır (88, 90). Alzheimer hastalığı, felç ve diğer nörodejeneratif hastalıklarda da etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır (91, 92). İlaç ayrıca

endojen savunma mekanizmalarını güçlendirmek, nöronal hareket ve yaralanma durumlarında nörotahribatlı elementleri n trolize etmek için bağışıklık sistemi fonksiyonlarını geliştirme yeteneğine sahiptir (91, 93-96). Cerebrolysin'in nörotrofik etkisinin sadece periferik sinir sisteminin hücrelerinde değil, aynı zamanda merkezi sinir sisteminin hücrelerinde de görüldüğü gösterilmiştir (118). İlacın nörotrofik etkisi sadece in vitro değil, in vivo modellerde de gösterilmiştir (119). Spesifik olarak, cerebrolysin hipokampusun dental girusundaki n rojenezini artırdığını göstermiştir (97). Buda bileşiğin yararlanmadan sonra beynin restoratif kapasitesini uyara bildiğini gösterir. N rojenezin yükselmesi doğal olarak meydana gelir ve iskemik inmeden sonra nörolojik fonksiyonların iyileşmesinde önemli rol oynar (98).

Beyin hasarının tedavisinde kullanılan cerebrolysin kan-beyin-omurilik sıvısı bariyerini güçlendirdiğini göstermiştir (95,99). Bazı  alışmalar cerebrolysin'in nöroprotektif özelliklere ve nörotrofik aktiviteye sahip olduğunu gösterir. (100, 101) İnme hastalığının tedavisinde yardımcı ilaç olarak kullanılan bir ilaçtır. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda patolojik kademenin farklı adımlarına müdahale ederek endojen savunma kapasitesine artıran cerebrolysin iyileşmeyi kolaylaştırmıştır. (102, 103) Beyin dokusunda glutamatın neden olduğu nekrotik ve apoptotik hücre ölümüne karşı korur (120). Hemorojik inme (121), iskemik inme (93) ve omirlik travmasında (122) cerebrolysinin koruyucu etkileri saplanmıştır. (123). Çok önceden yapılan klinik çalışmalarda hasta sayısı az ve klinik sonuçların yanı sıra tedavi başlangıcı ve süreleri farklıydı (104, 105). Bununla birlikte tüm denemelerde cerebrolysin'in yararlı etkileri gözlemlenmiştir. Bu pozitif sonuçlara bağlı olarak dünya genelinde inme hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (106). Travmatik beyin hasarı (TBH), hem gelişmiş hemde gelişmekte olan ülkelerde yüksek mortalite ve morbitite ile seyreden bir sağlık sorunudur. (107, 108) Cerebrolysin sinir dokusunun yenilenmesi, iskemik felçli ve nörodejeneratif hastalıkları olan hastalardaki olumlu sonuçları nedeniyle (105, 109) travmatik beyin hasarı tedavisinde kullanılması için  mit verici olmuştur (110). Bu ilaç, merkezi sinir sisteminde bir hasar olduğunda n roproteksiyonu tetiklemek için kullanılan aynı zamanda multipl skleroz, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, demans ve akut veya kronik inme gibi nörodejeneratif hastalıklarda nöronların yenilenmesine yardımcı olmaktadır (88, 116).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Hayvanlar

Çalışmamızda 276-285 g arasında değişen toplam 30 adet albino Wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanların tümü Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Hayvanlar deneyden önce normal oda sıcaklığında (22 °C) barındırıldı ve beslendi. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu, “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen 02.05.2019 tarihli ve 75296309-050.01.04-E.1900138333 sayılı yazı ile onaylanmıştır.

Tablo 3.1. Cihazlar ve Ekipmanlar

-80 °C derin dondurucu	Sanyo
Santrifüj cihazı	Beckman
Vorteks (karıştırıcı)	VELP Scientifica
Mikroplate okuyucu spektrofometre	BioTek
+4 soğutucu buzdolabı	Ariston
1,5 mL'lik ependorf tüpler	Isolab
Pipetler (2-20, 20-200, 100-1000 µL)	Ependorf
Homojenatör	IKA
Hassas terazi	KERN
Manyetik karıştırıcı	SCILOGEX
Saf su cihazı	NTS

96Lık mikroplate	Termo Fisher Scientific
------------------	-------------------------

Tablo 3.2. Kimyasallar

TAS analiz kiti	Rel Assay Diagnostic
TOS analiz kiti	Rel Assay Diagnostic
Nitro blue tetrazolium	Sigma
EDTA	Sigma
Xanthine	Sigma
Na ₂ CO ₃	Merck
Bovine serum albumin	Sigma
Xanthine oksidaz (167 U/L)	Sigma
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sigma
NaOH	Merck
Sodyum Dodesil Sülfat	Merck
Asetik asit	Merck
Thiobarbuturik asit (TBA)	Sigma
1,1,3,3 tetraethoxypropane	Sigma
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Merck
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Merck
5-5' Dithio 2 Nitrobenzoik asit	Sigma
NADPH	Sigma
Glutasyon redüktaz (625 Ü/L)	Sigma
GSSG (okside glutasyon)	Sigma
Meta fosforik asit	Sigma
Brillant Blue G-250	Merck

Etanol	Merck
Orto fosforik asit	Merck
Thiopental sodyum (flakon)	IE Ulagay
Cisplatin (flakon)	Ebewe Liba
Cerebrolysin (ampul)	EVER Pharma

3.2. Deney Grupları

Deney hayvanları sağlıklı kontrol (SG), 2.5 mg/kg dozda sisplatin verilen (CIS) ve 2.5 ml/kg cerebrolysin + 2.5 mg/kg sisplatin (CCG) uygulanan gruplara ayrıldı.

3.2.1. Deney Prosedürü

Hayvanların CCG (n-10) grubuna cerebrolysin 2.5 ml/kg dozda intraperitoneal (ip) yoldan enjekte edildi. CIS (n-10) ve SG (n-10) gruplarına çözücü olarak distile su aynı yoldan uygulandı. Cerebrolysin ve distile su uygulandıktan bir saat sonra CCG ve CIS hayvan gruplarına sisplatin 2.5 mg/kg dozda ip yoldan enjekte edildi. Cerebrolysin, sisplatin ve distile su belirtilen doz ve hacimde günde bir defa 14 gün boyunca aynı yöntemle uygulandı. Bu süre sonunda, hayvanlar yüksek doz (50 mg/kg) tiopental anestezisi ile öldürüldü ve beyin dokuları çıkartıldı. Çıkarılan beyin dokularında malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), total glutatyon (tGSH), superoksid dismutaz (SOD), total antioksidan (TAS) ve oksidan status (TOS) düzeyleri ölçüldü ve dokular histopatolojik olarak incelendi. SG ve CCG grubundan elde edilen sonuçlar CIS grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. Beyin dokusunun Biyokimyasal Analizi

Önce beyin dokularından homojenatlar hazırlandı. Bu homojenatlardan elde edilen süpernatantlarda tGSH ve MDA miktarları literatüre dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle saptandı.

3.3.2. Numunelerin Hazırlanması

Albino wistar türü sıçanlardan çıkarılan beyin dokusundan her örnekte 0,2 g. olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra MPO aktivite analizi için % 0.5'lik HDTMAB (% 0.5 hegzadesiltrimetil amonyum bromid) içeren pH=6 potasyum fosfat tamponu, MDA tayini için % 1.15'lik potasyum klorür çözeltisi, diğer ölçümler için pH=7.5 olan fosfat tamponu içinde 2 ml.'ye tamamlanarak buzlu ortamda homojenize edildi. Elde edilen homojenat örnekleri +4 °C'de 10000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüje tabi tutuldu. Örneklerden elde edilen süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı.

3.3.3. MDA Tayini

MDA tayini reaksiyonu yüksek sıcaklıkta (95°C'de) tiyobarbitürik asit (TBA) ile MDA'nın oluşturduğu pembe renkli kompleksin absorbanasının 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (124). Elde edilen homojenatlar, 5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi ve bu süpernatantlar, MDA miktarının belirlenmesinde kullanıldı. İlerleyen basamaklarda ağzı kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat örnekleri, 100 µl % 8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 µl % 20 asetik asit, 750 µl % 0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Oluşan bu karışım 100 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Daha sonra üzerine 2,5 ml n-bütanol ilave edildi ve spektrofotometrik olarak ölçüm yapıldı. Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm'de 3 ml'lik küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak numunelerin MDA miktarı belirlendi.

3.3.4. MPO aktivite Tayini

İlk etapta, hayvanlardan elde edilen beyin doku homojenatlarında MPO tayini için % 0.5'lik HDTMAB (% 0.5 hegzadesiltrimetil amonyum bromid) içeren pH=6 potasyum fosfat tamponu hazırlandı. Bu örnekler +4 °C'de 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen örneklerin süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı. MPO aktivitesini belirlemek için, substrat olarak 4-amino anti pirin/fenol solüsyonunun yer aldığı MPO aracılı H₂O₂ ile yapılan oksidasyon reaksiyonu kullanılmıştır (125).

3.3.5. tGSH Tayini

Bilindiği gibi, deneyde tGSH tayini için kullanılan DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)] disülfid bir kromojendir ve sülfidril gruplu bileşikler tarafından kolayca indirgenmektedir. Bu reaksiyon neticesinde meydana gelen sarı renk 412 nm spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (126). Her örnekten elde edilen homojenatlar, 12000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Her örnek için ayrılmış kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0,2 mM EDTA içeren 200 mM Tris-HCl, pH=8,2), 500 µl süpernatant, 100 µl 5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 7900 µl metanol pipetlenerek vortekslendi. Elde edilen bu karışım 37°C' de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda karışım spektrofotometre ile ölçümü yapıldı. Her örnekte oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 ml'lik kuartz küvetler yardımıyla okundu. Daha sonra, seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanılarak numunelerin GSH miktarı belirlendi.

3.3.6. SOD Aktivite Tayini

SOD aktivite tayini için ksantin oksidaz enzim reaksiyonundan yararlanılmıştır. Bu reaksiyon oksijen radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) ortamda bulunan nitro blue tetrazolium'u (NBT) indirgemesi ile başlar. Bu reaksiyon neticesinde meydana gelen mor renkli bir bileşik olan formazan absorbanasının 560 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır. İndirgenme reaksiyonunun şiddeti numunede bulunan Cu/Zn SOD enziminin aktivitesine bağlıdır. Ortamda ne kadar çok enzim bulunursa, NBT ile reaksiyona girecek $O_2^{\cdot-}$ radikali o kadar az olur. Böylece formazan varlığıyla ortaya çıkan mor rengin şiddeti de o kadar azalır (127).

3.3.7. TOS ve TAS Ölçümü

Sıçanlardan çıkarılan beyin doku örneklerin TOS ve TAS düzeyleri ölçümü, Erel O yöntemi ile gerçekleştirildi (128, 129). Bu analizin tatbiki için ticari kitler (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanıldı. TAS yöntemi, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanır ve ölçümler 660 nm'de

gerçekleştirilir. Sonuçlar, nmol hidrojen peroksit (H₂O₂) eşdeğer / L olarak ifade edilir.

TOS yönteminde ise, örnekte bulunan oksidanlar demir iyonu-o-dianisidin kompleksini ferrik iyonla okside eder. Demir iyonu asidik bir ortamda ksilenol turuncusu ile renkli bir kompleks üretir. Spektrofotometrik olarak 530 nm'de ölçülebilen renk yoğunluğu, örnekte bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilişkilidir. Sonuçlar µmol Trolox eşdeğeri / L olarak ifade edildi. TOS'un TAS'a olan yüzdesi oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kullanılmıştır ve aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$OSI = \frac{TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ equiv./lt}}{TAS, \text{mmol Trolox equiv./lt} \times 10}$$

3.4. Histopatolojik İnceleme:

Deney için deneklerden alınan tüm dokular ışık mikroskopik takibe alınmadan önce en az 72 saat 10% formaldehit solüsyonunda bekletildi. Doku örnekleri uygun kasetler içerisine alınarak 24 saat süresince akar suyun altında yıkanarak formaldehit solüsyonundan arındırıldı. Doku örnekleri sudan çıkartıldıktan sonra artan yüzdelerde alkol serilerinden (70%, 80%, 90%, ve 100%) geçirilerek, dokular içerisindeki suyun alınması sağlandı. Dokular ksilol aşamasında şeffaflaştırıldıktan sonra parafin bloklara gömüldü. Daha sonra, parafin bloklardan dört ila beş mikronluk kesitler alınarak, hematoksilin – eozin ile boyandı. Hazırlanan lamalar kapatıldıktan sonra Olympus DP2-SAL donanımlı (Olympus® Inc. Tokyo, Japan) ışık mikroskobu ile fotoğraflandı. Histopatolojik değerlendirme, çalışma gruplarının isimleri hakkında fikri olmayan histopatolog tarafından değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Analizler

Deneylerden elde edilen sonuçlar “ortalama değer ± standart sapma” (x ± SD) olarak ifade edildi. Gruplar arası farkın önemlilik derecesi one-way ANOVA testi kullanılarak belirlendi. Takibinde Fisher’s post-hoc LSD (least significant differences) yapıldı. Tüm istatistiksel işlemler SPSS 24.0 istatistik programında yapıldı ve p<0.05 değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

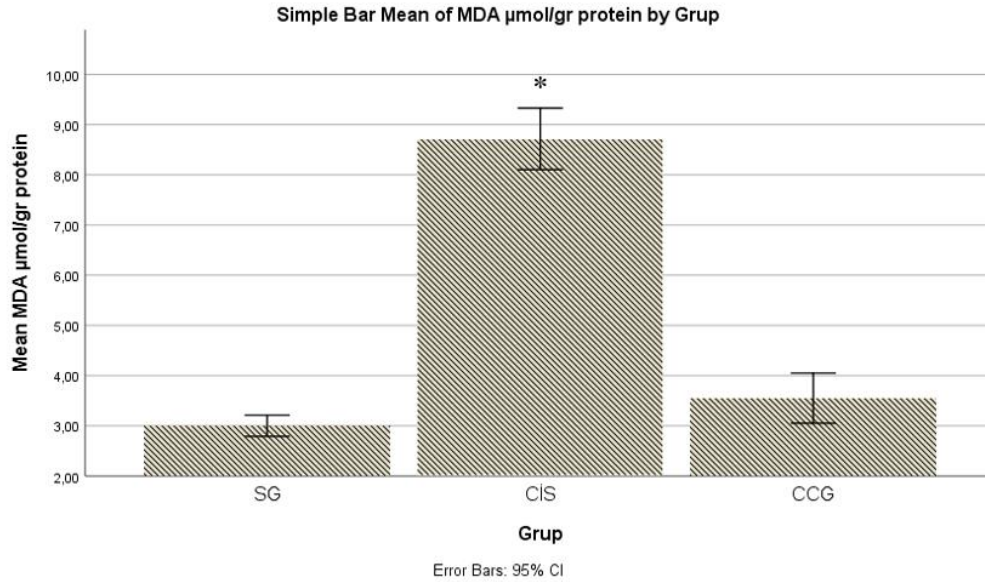
4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. MDA Sonuçları

Sisplatin uygulanan hayvanların beyin dokusunda MDA miktarı sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) artış göstermiştir. Sağlıklı hayvan grubunun beyin dokusunda MDA miktarı 3.00 ± 0.20 $\mu\text{mol/gr}$ protein olarak hesaplanmıştır. Sisplatin ve cerebrolysin grubunda MDA miktarı 8.72 ± 0.58 ve 3.55 ± 0.48 $\mu\text{mol/gr}$ protein olmuştur. Sağlıklı gruptaki MDA miktarı, cerebrolysin grubundaki ile karşılaştırıldığında, arasındaki fark miktarı istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur (Şekil 1).

Tablo 4.1. Beyin Dokusunda MDA $\mu\text{mol/gr}$ Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	1. SG	10	3.00 ± 0.20	<0.0001	2>1, 2>3
	2. CİS	10	8.72 ± 0.58		
	3. CCG	10	3.55 ± 0.48		



Şekil 1. Gruplara Göre MDA $\mu\text{mol/gr}$ Protein Değerleri

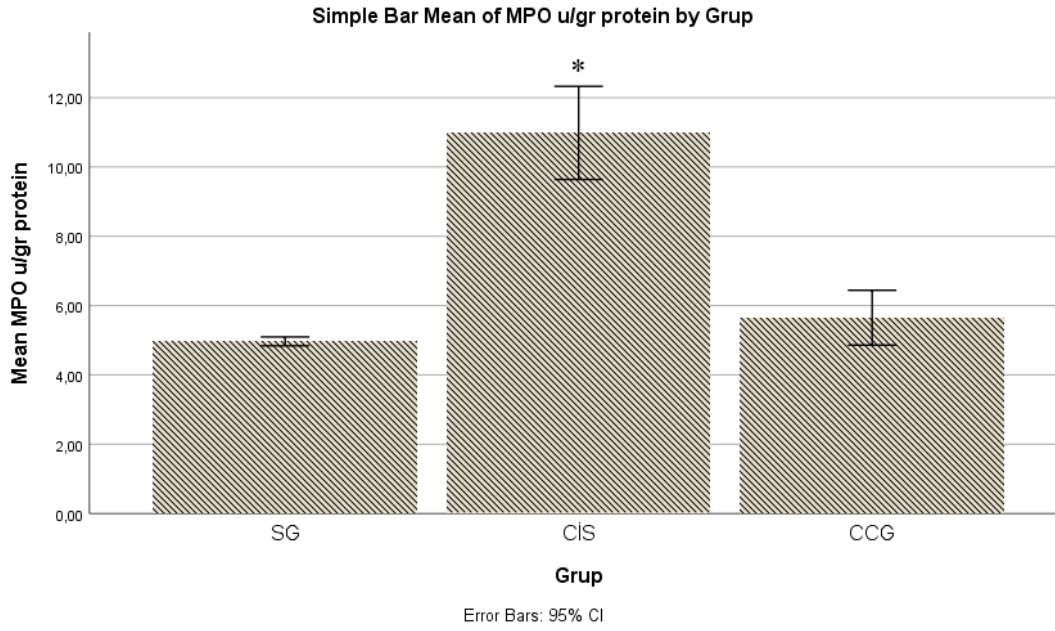
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.2. MOP Sonuçları

Sisplatin uygulanan hayvanların beyin dokusunda MPO ativitiesininin sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı olarak daha fazla arttığı gözlenmiştir ($p<0.0001$). Sağlıklı hayvanların beyin dokusunda MPO aktivitesi 4.97 ± 0.12 u/g protein olurken, sisplatin grubunda 10.98 ± 1.28 u/g proteine, cerebrolysin grubunda ise 5.65 ± 0.75 u/g protein olmuştur. Sağlıklı ve cerebrolysin grubunda MPO aktivite farkı istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur (Şekil 2).

Tablo 4.2. Beyin Dokusunda MPO u/g Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
MPO (u/g protein)	1. SG	10	4.97 ± 0.12	<0.0001	2>1, 2>3
	2. CİS	10	10.98 ± 1.28		
	3. CCG	10	5.65 ± 0.75		



Şekil 2. Gruplara Göre MPO u/g Protein Değerleri

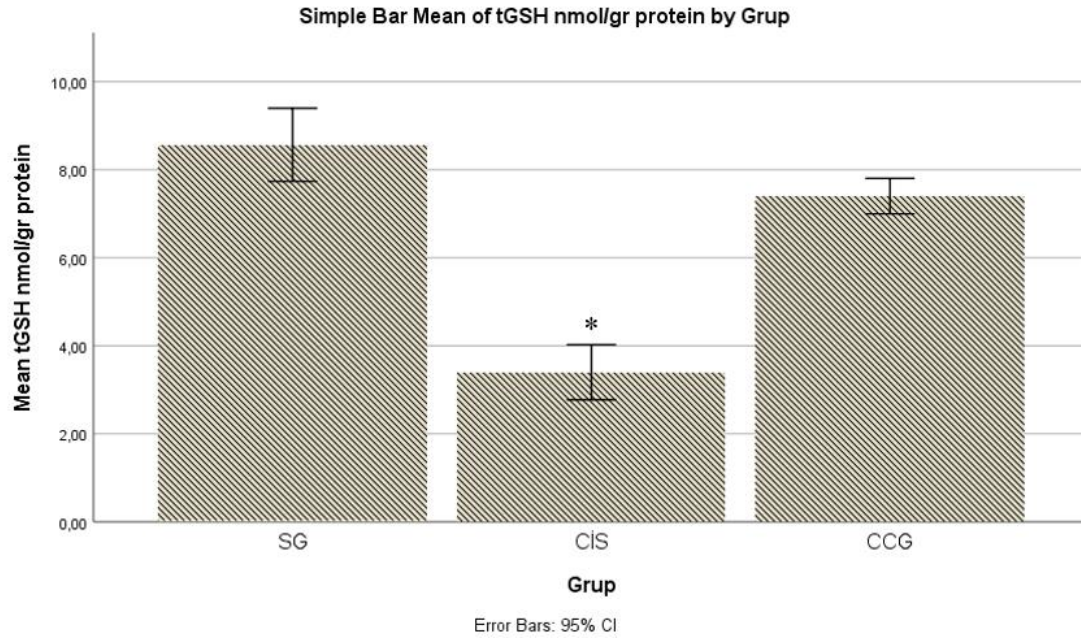
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.3. tGSH Sonuçları

Sisplatin uygulanan hayvanların beyin dokusundaki tGSH miktarının sağlıklı ve cerebrolysin gruplarındaki hayvanların tGSH miktarlarından anlamlı olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.0001$). Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda tGSH miktarı sırası ile 8.57 ± 0.79 , 3.40 ± 0.60 , 7.40 ± 0.38 nmol/g protein olarak ölçülmüştür. Sağlıklı ve cerebrolysin grubunun beyin dokusunda ölçülen tGSH miktar farkı da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$) (Şekil 3).

Tablo 4.3. Beyin Dokusunda tGSH nmol/g Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
tGSH (nmol/g protein)	1. SG	10	8.57 ± 0.79	<0.0001	1>2, 1>3; 3>2
	2. CİS	10	3.40 ± 0.60		
	3. CCG	10	7.40 ± 0.38		



Şekil 3. Gruplara Göre tGSH nmol/g Protein Değerleri

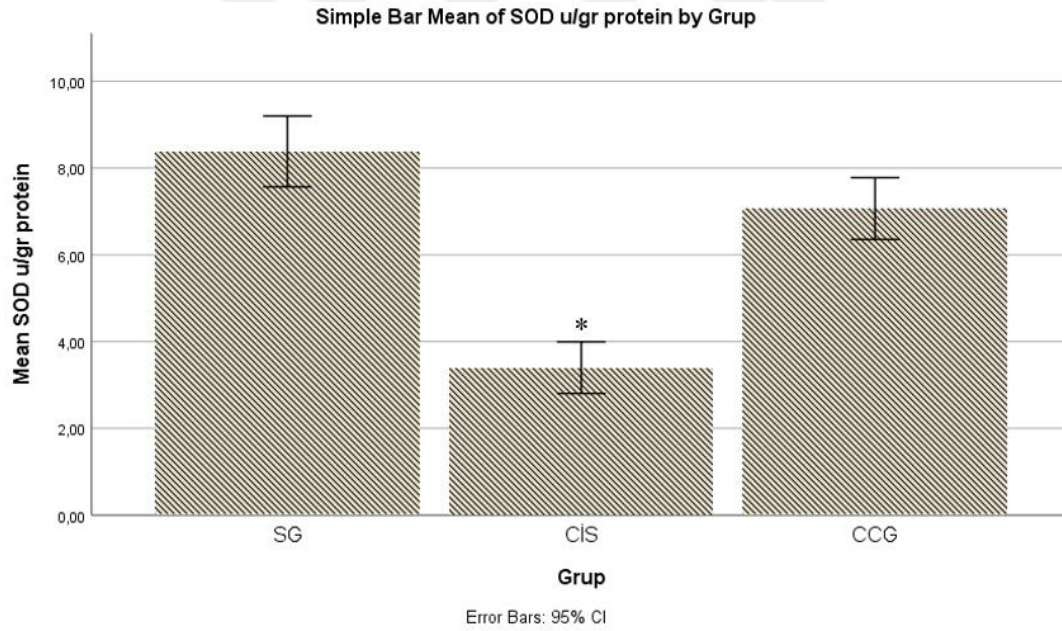
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.4. SOD Sonuçları

Sisplatin verilen hayvanların beyin dokusunda SOD aktivitesi sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.0001$). Sağlıklı grubunda SOD aktivitesi 8.38 ± 0.78 u/g protein olurken, sisplatin grubunda bu aktivite 3.40 ± 0.57 u/g protein olarak hesaplandı. Cerebrolysin grubunda SOD aktivitesi 7.07 ± 0.6 u/g protein olarak bulundu. Sağlıklı grup ile cerebrolysin grubundaki SOD aktivite farkı da anlamlı bulundu ($p<0.01$) (Şekil 4).

Tablo 4.4. Beyin Dokusunda SOD u/g Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
SOD (u/g protein)	1. SG	10	8.38 ± 0.78	<0.0001	1>2, 1>3; 3>2
	2. CİS	10	3.40 ± 0.57		
	3. CCG	10	7.07 ± 0.68		



Şekil 4. Gruplara Göre SOD u/g Protein Değerleri

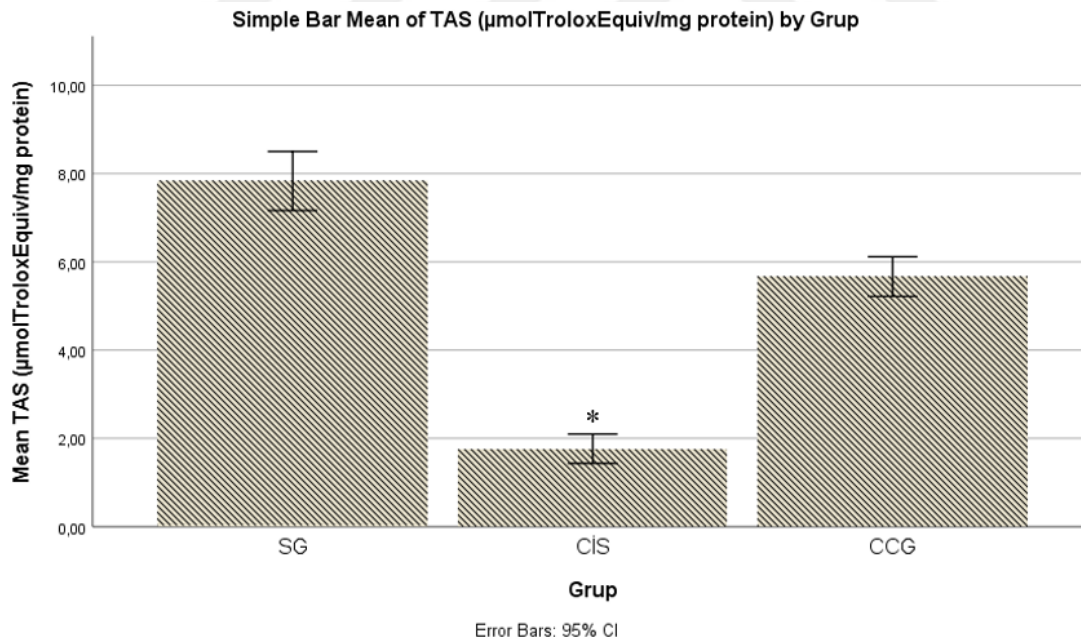
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.5. TAS Sonuçları

Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda TAS düzeyleri sırası ile 7.83 ± 0.64 , 1.77 ± 0.31 ve 5.67 ± 0.43 $\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein olarak ölçüldü. Bu da sisplatinin hayvanların beyin dokusunda antioksidan parametrelerin toplamını değerlendirmede kullanılan TAS düzeyini sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p < 0.0001$) azalttığını göstermektedir. Sağlıklı grup ile cerebrolysin grubu arasındaki TAS farkı da istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.01$) olduğu görüldü (Şekil 5).

Tablo 4.5. Beyin Dokusunda TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X} \pm Ss$	p	Post-Hoc
TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein)	1. SG	10	7.83 ± 0.64	< 0.0001	1>2, 1>3; 3>2
	2. CİS	10	1.77 ± 0.31		
	3. CCG	10	5.67 ± 0.43		



Şekil 5. Gruplara Göre TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri

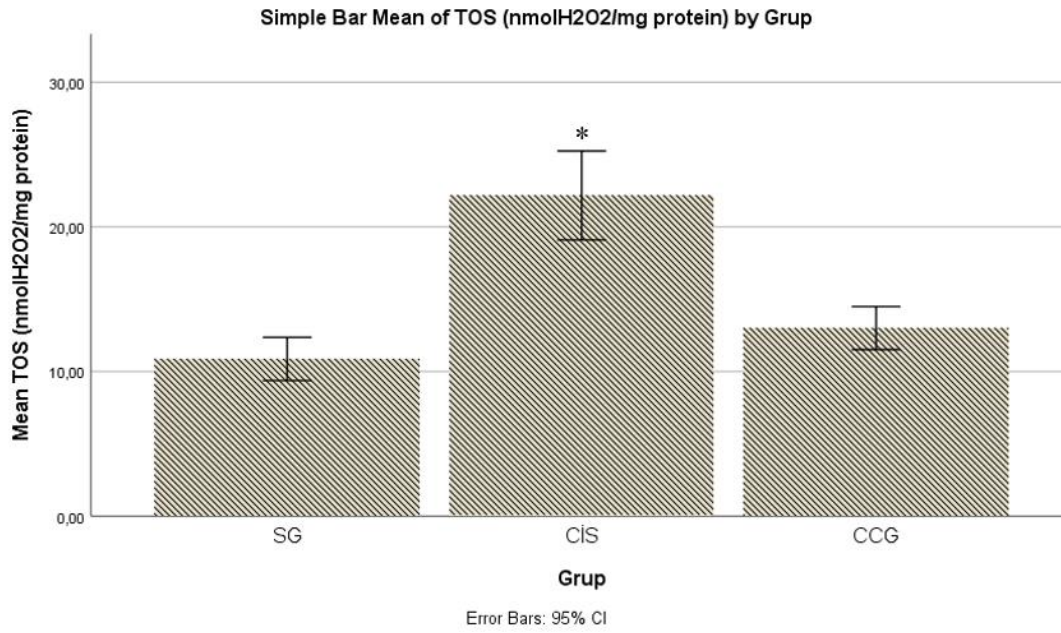
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p < 0.0001$, (n=10))

4.1.6. TOS Sonuçları

Sisplatinin, hayvanların beyin dokusunda TOS düzeyini sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) yükselttiği kaydedilmiştir. Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda TOS değerleri sırası ile 10.87 ± 1.42 , 22.17 ± 2.93 ve 13.00 ± 1.41 $\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein olmuştur. Sağlıklı ve cerebrolysin grubundaki TOS düzeyi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p>0.05$) (Şekil 6).

Tablo 4.6. Beyin Dokusunda TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein)

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein)	1. SG	10	10.87 ± 1.42	<0.0001	2>1, 2>3
	2. CİS	10	22.17 ± 2.93		
	3. CCG	10	13.00 ± 1.41		



Şekil 6. Gruplara Göre TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein)

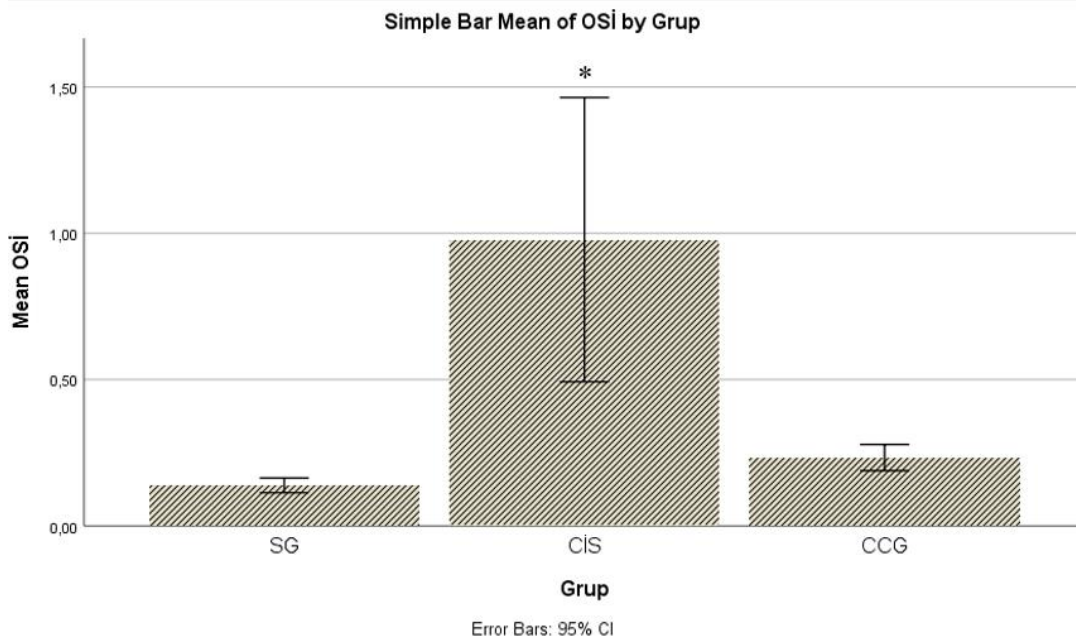
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.7. OSİ Sonuçları

OSİ sonuçları sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin gruplarında sırası ile 0.14 ± 0.02 , 0.98 ± 0.46 ve 0.23 ± 0.04 olduğunu göstermiştir. CİS grubu değerleri SG ve CCG grubuna göre anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0.01$) (Şekil 7).

Tablo 4.7. Beyin Dokusunda OSİ Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p	Post-Hoc
OSİ (nmolH ₂ O ₂ /mg protein)	1. SG	10	0.14 ± 0.02	<0.0001	2>1, 2>3
	2. CİS	10	0.98 ± 0.46		
	3. CCG	10	0.23 ± 0.04		

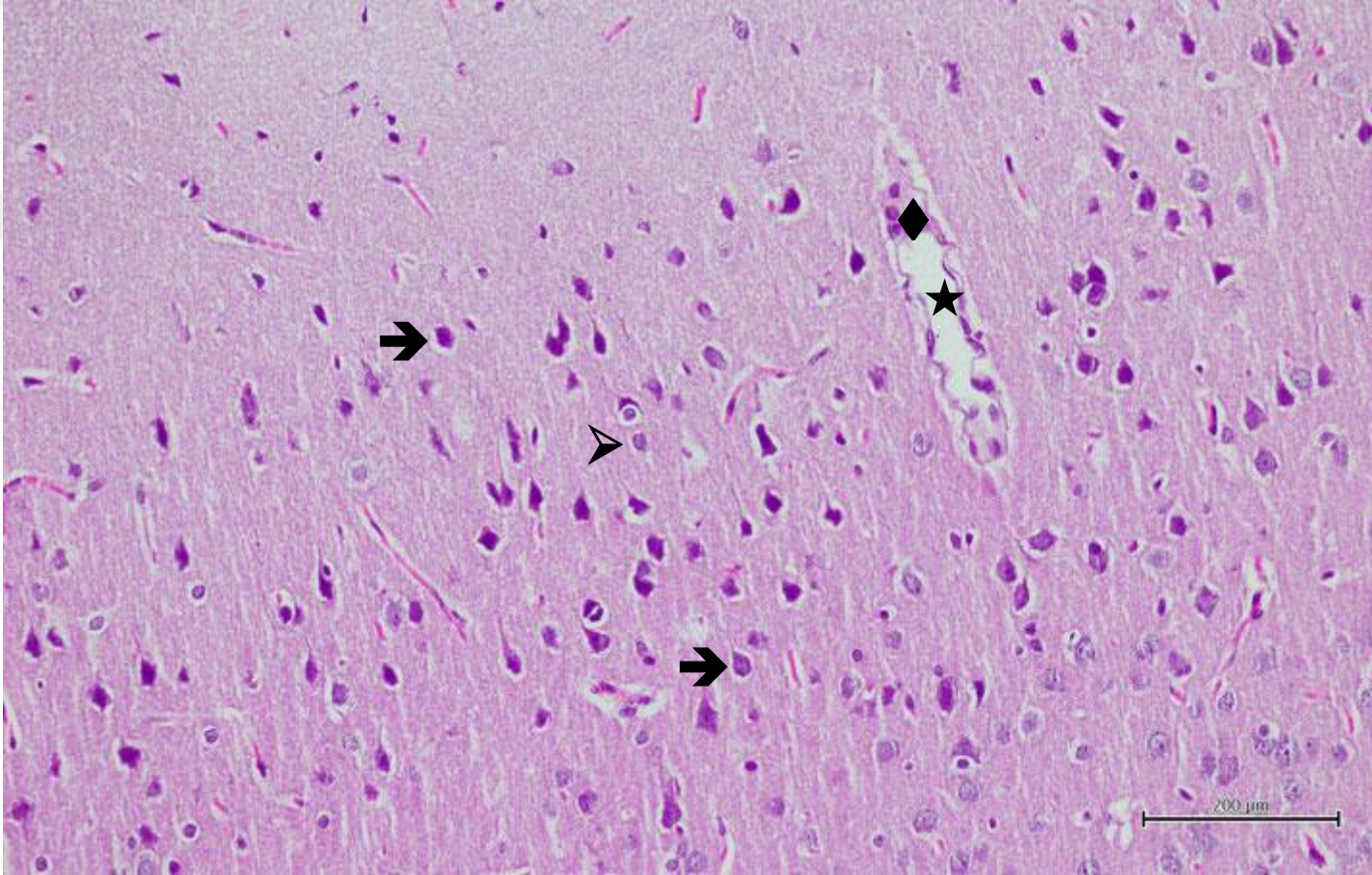


Şekil 7. Gruplara Göre OSİ Değerleri

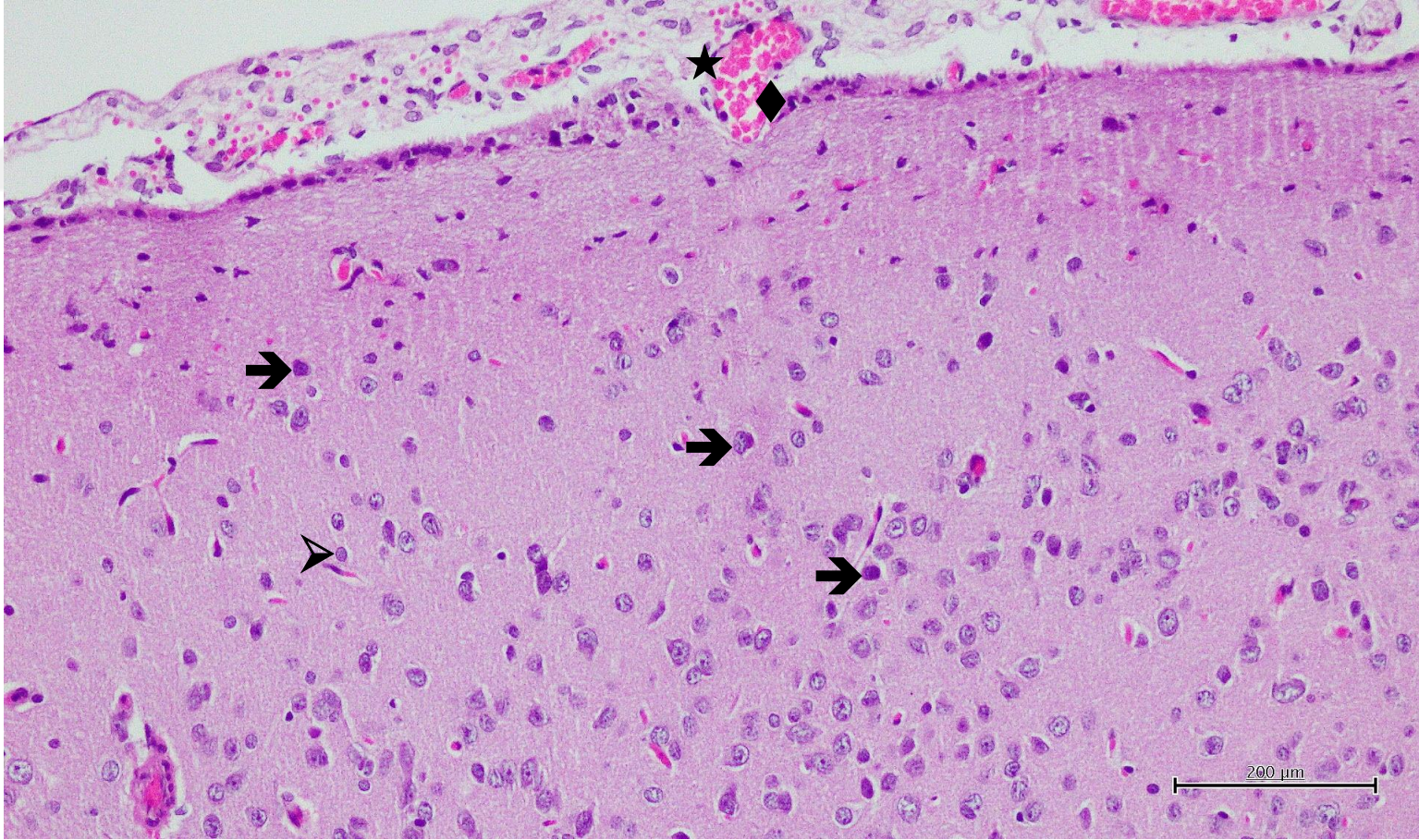
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.2. Histopatolojik Bulgular

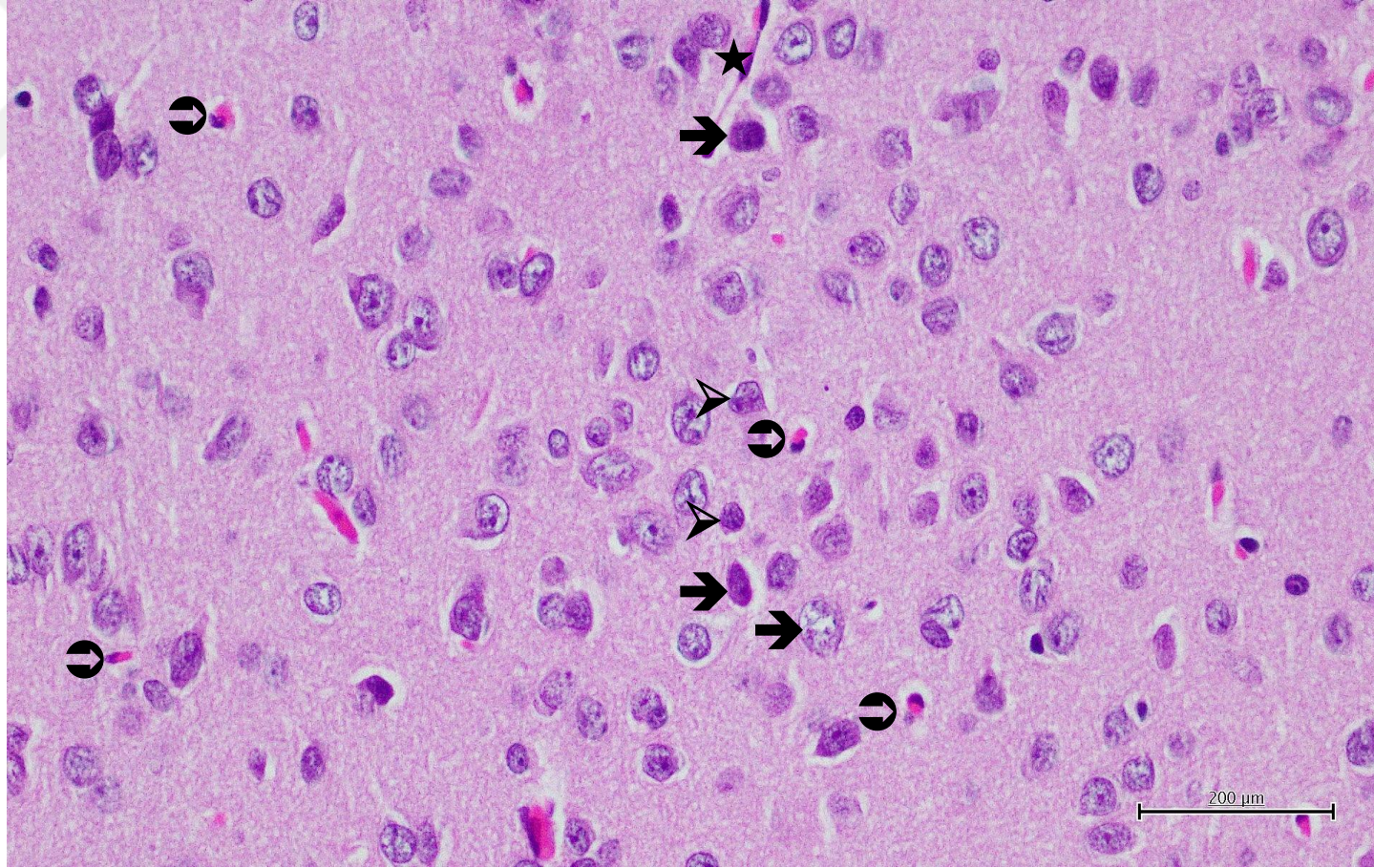
Yapılan histopatolojik incelemede, beyin dokusunun sağlıklı grubunda normal histolojik yapıya sahip olduğu gözlemlendi. Nöronlar normal oval ve bazofilik boyanma özelliğine sahip somaya, içlerinde belirgin bir çekirdekçik ile beraber ökromatik görünen bir çekirdeğe sahiptiler. Glial hücreler, özellikle de astrositler oval çekirdekleri ile ilgiyi çekiyordu, nöron ve glial hücrelerin içerisinde yayılım gösterdikleri nötrofil ise normal görünümündeydi (Şekil 8). Cisplatin uygulanmış gruba ait kesitler değerlendirildiğinde, piramidal nöronların şekillerinin genellikle düzensiz ve soma kısımlarının koyu renkte boyandığı gözlemlendi. Beyin dokusunun içerisinde ve eşliğindeki kan kapillerlerinin yüksek derecede kongeste ve dilate olduğu dikkati çekti. Bunun yanı sıra kapillerleri çevreleyen endotelial hücrelerde de şişkinlik görüldü (Şekil 9). Diğer nöronların çevresinde periselüler hareler görülmekle beraber, çekirdeklerinin ökromatik görüntülerini kaybettikleri ve çekirdekçiklerinin soluklaştığı gözlemlendi. Bazı nöronlar ise apoptotik süreçte idiler. Astrositler değerlendirildiğinde genel olarak hipertrofiye ve dejenere oldukları tespit edildi. Bunun yanı sıra dokuda belirgin bir mikrogial hücre popülasyonu artışı vardı (Şekil 10). Sisplatin + cerebrosin grubuna ait preparatlar değerlendirildiğinde, piramidal nöronların normal morfolojide oldukları ve belirgin bir çekirdekçik ile birlikte ökromatik çekirdeğe sahip oldukları gözlemlendi. Kan kapillerleri hafif derecede kongeste ve dilate olmakla beraber endotelial hücrelerin normal olduğu tespit edildi (Şekil 11). Bunun dışında astrositlerin normal görünümde oldukları ve sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında mikrogial hücre popülasyonunun azaldığı gözlemlendi (Şekil 12).



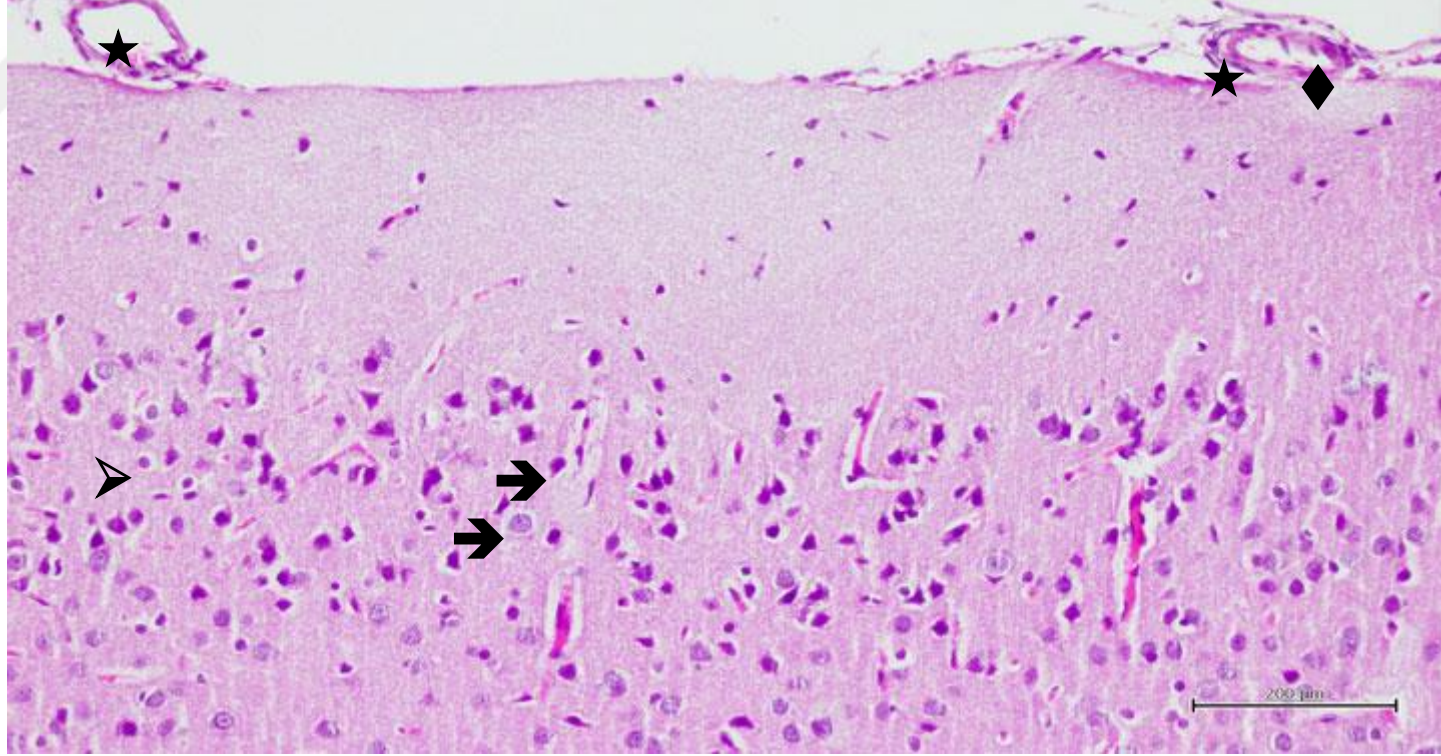
Şekil 8. Kontrol grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; ➔: nöron, ➤: astrosit, ★: kan kapilleri, ◆: endotelial hücre, x200.



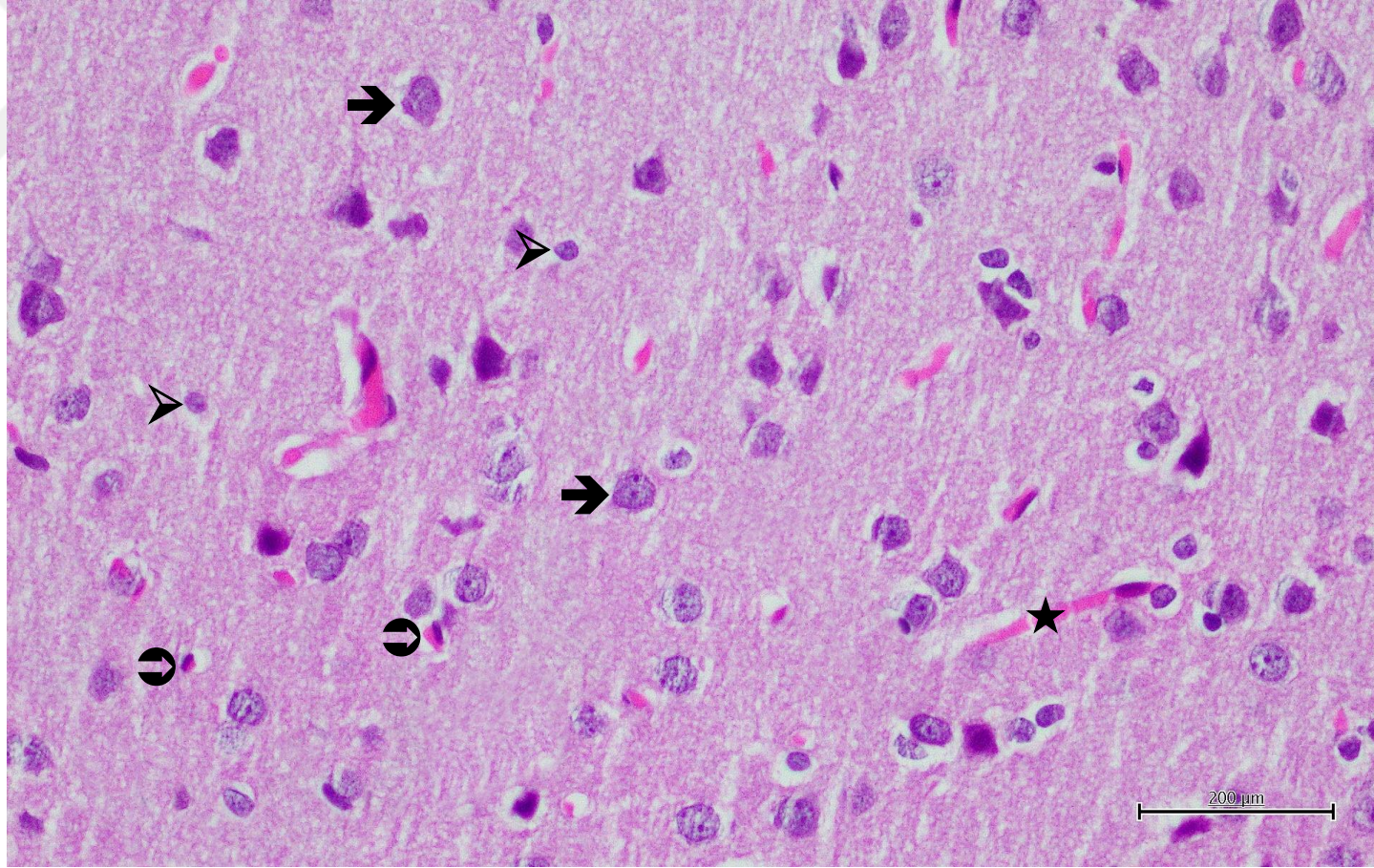
Şekil 9. Sisplatin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilen – eozin boyaması; →: düzensiz nöron, ★: kuvvetli dilate ve kongeste kan kapilleri, ◆: şişkin endotelyal hücre, x200.



Şekil 10. Sisplatin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilin – eozin boyaması; →: dejenere olmuş nöron, ➤: hipertrofiye ve dejenere olmuş astrosit, ⊙: microglia hücresi, ★: kan kapilleri, x200.



Şekil 11. Sisplatin + Cerebrolysin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilin – eozin boyaması; ➔: nöron, ➤: astrosit, ★: hafif kongeste ve dilate olmuş kan kapilleri, ◆: endotel hücresi, x200.



Şekil 12. Sisplatin + Cerebrolysin grubuna ait beyin dokusunda hematoksilin – eozin boyaması; →: nöron, >: astrosit, ★: kan kapilleri, ⊖: azalmış microglia hücresi, x200.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, cerebrolysinın sıçanlarda sisplatinle indüklenen oksidatif beyin hasarına etkisi biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırıldı. Bilindiği gibi, sisplatin akciğer, kolorektal, meme, baş, boyun, yumurtalık, testis ve mesane karsinomları dahil olmak üzere birçok malignitelerinin tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir kemoterapötik ajandır (130). Sisplatinin belirgin antikanser aktivite gösteren yüksek dozları, doku ve organlarda ciddi toksik etki oluşturmaktadır (3). Kemoterapötik ilaçlara bağlı en sık görülen yan etkiler bulantı, kusma ve miyelosüpresyon olmakla birlikte, ilaçların kendine özgü daha spesifik toksisitelede bulunmaktadır. Sisplatin kaynaklı epilepsi, felç, nöropati, bilinç bozuklukları, serebral infarktlar gibi nörotoksikite doz azalmasına veya kemoterapinin erken kesilmesine neden olmaktadır (4, 5). Sisplatin ile tedavi edilen hastaların yaklaşık %30' unda nörotoksikite görülmektedir. Sisplatin ilişkili nörotoksikitenin nedeni olarak kan beyin bariyerini kolayca geçebilmesi ve tekrarlanan dozajla birikebilmesi savunulmaktadır (131). Bu nedenle, kemoterapide kullanılan ilaçların spesifik yan etki mekanizmalarının aydınlatılması ve tedavinin sonlandırılmasına neden olan toksik etkilerin azaltılması önemlidir. Sisplatinin sitotoksik etkisinin, DNA hasarı ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (132). Ancak, DNA'nın fraksiyonunda hücre içi konsantrasyonunun sadece %5-10' u bulunurken, %75-85' i tiyol peptidleri, proteinler ve RNA gibi sitoplazmik yapılarla etkileştiği gösterilmiştir (133). Sisplatinin neden olduğu nörotoksikitenin kesin mekanizması bilinmemektedir. Ancak oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz, nekroz ve mitokondriyal disfonksiyon gibi nörotoksikitesini açıklayan birkaç patofizyolojik mekanizmalar bulunmaktadır (134, 135).

Literetür bilgileri ile uyum sağlayan deney sonuçlarımız, sisplatin uygulanan hayvanların beyin dokusunda MDA miktarının sağlıklı ve cerebrolysin ile tedavi edilen gruplara göre anlamlı olarak arttığını göstermiştir. Yukarıda belirtildiği gibi MDA, LPO nun son ürünüdür. Sisplatinin hücrelerde ROS üretimini artırarak LPO yu hızlandırdığı bilinmektedir. LPO, yaygın oksidatif doku hasarına yol açan zincirleme bir reaksiyondur (136). MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olarak, LPO nun oluşturduğu hasarın dahada şiddetlenerek devam etmesini sağlar (9). Beyin dokusundaki yüksek MDA seviyeleri,

hücrelerin tahrip olmasına neden olan ROS artışını gösterir (137). Deney sonuçlarımız ve literetürlerden edinilen bilgiler oksidatif stresin sisplatin toksisitesinde önemli role sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bundan önce yapılan çalışmalarda da, oksidatif stresin sisplatin ve diğer kemoterapötik ajanların toksisitesindeki önemli mekanizmalardan biri olduğu ileri sürülmüştür (138). Cerebrolysinin beyin dokusunda sisplatine bağlı MDA miktarı artışını önlemesi onun, aşırı ROS üretimini baskıladığını işaret etmektedir. Deviatkina TA ve arkadaşlarının çalışmasında da cerebrolysinin akut strersle indüklenen LPO nun artışını stabilize ettiği ifade edilmiştir (13). Bu da, cerebrolysinin beyin dokusunu sisplatinin oksidatif hasarından koruduğunu ve antioksidan aktivite göstrediğini düşündürmektedir. Cerebrolysinin antioksidan aktivitesi ile ilgili bu düşüncemizi destekleyen bir başka çalışmada, cerebrolysinin oksidatif stresi baskıladığı bildirilmiştir ve antioksidan özelliklerini gösteren veriler ortaya konulmuştur (11, 12).

Doku hasarı hangi nedenle olursa olsun, inflamasyona yol açan maddelerin salgılanmasına neden olur. Çalışmamızda, sisplatinin hayvanların beyin dokusunda MPO aktivitesinin artmasına neden olmuştur. MPO, memeli nötrofillerinin granüllerinden salgılanan bir enzim olup, fagosite edilmiş bakterilerin öldürülmesinde önemli rol oynamaktadır (139). MPO, H₂O₂ ile birlikte tiyosiyonat iyonların veya iyodit, bromit, klorit iyonlardan birinin de beraber bulunduğu bir ortamda antibakteriyel etki göstermektedir. Yani, etkili kombinasyon MPO+ H₂O₂+I üçlüsüdür. MPO' nun Escherihia coli, Lactobacillus acidophilus ve Staphylococcus aureus üzerinde baktericid etkisi gösterilmiştir (140). Ayrıca, MPO demir içeren bir hem proteini olup, vücudun savunma sistemlerinde ve inflamatuvar doku hasarında kritik roller oynar (141). Hasarlı bölgeye sevk edilen aktive edilmiş nötrofil ve monositler O₂, H₂O₂ ve iltihabın yeşil renginden sorumlu olan MPO enzimi salgılar. MPO, H₂O₂ ve klordan hipokloros asit (HOCl) oluşumunu katalizler. Oksidan olarak bilinen bu HOCl hem patojenlere ve hemde protein, aminoasit, lipid ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek doku hasarına neden olabilmektedir (142). Nötrofiller ayrıca, NADPH-oksidadz yoluyla süperoksit ve H₂O₂ üretir ve bu da MPO ile reaksiyona girerek ROS ların aşırı üretimini başlatır (143). Literetürlerde, MPO'nun mikrobisidal etkisi yanında dejeneratif nörolojik ve diğer inflamatuvar hastalıklarda

rolünün olduğu rapor edilmektedir (144). Bu nedenle, dokuyu HOCl nin hasarlayıcı etkisinden korumak için, MPO aktivitesinin azaltılmasına yönelik antioksidan tedaviler uygulanmaktadır. Turan MI ve arkadaşları sisplatin ilişkili hasarlı beyin dokusunda MPO aktivitesinin arttığını ve antioksidan uygulanmasıyla MPO aktivitesinin ve oksidatif beyin hasarının azaldığını bildirmişlerdir (145). Benzer bir başka çalışmada Gulec M ve arkadaşları sisplatinin beyin dokusunda MPO aktivitesini anlamlı yükselttiğini ve antioksidan tedavi ile MPO ve oksidatif beyin hasarının azaldığı ifade edilmiştir (146). Cerebrolysinin sağlıklı ve hasarlı beyin dokusunda MPO ya etkisini bildiren çalışmalara rastlanmadı. Ancak, cerebrolysin grubunda MPO naktivitesi azalmıştır. Bu da onun antioksidan özelliğinden ileri gelmiş olabileceğini düşündürmektedir. Literetürlerde de cerebrolysinin antioksidan özelliklerini gösteren veriler bulunmaktadır (11).

Yine bu çalışmamızda, sisplatinin beyin dokusunda MDA ve MPO düzeylerini yükselten dozda, tGSH miktarını hem sağlıklı ve hemde cerebrolysin grubuna göre azalttığı görülmüştür. Bilindiği gibi, tüm canlı dokularda kontrollu bir şekilde ROS ve antioksidanlar üretilir. Doku bütünlüğünün ve fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesi için aşırı üretilen ROS lar, endojen GSH ve diğer enzimatik ve non enzimatik antioksidan savunma sistemlerince nötralize edilirler (40). Ancak antioksidanlar, oksidanları nötralize etmede yetersiz kalırsa oksidan düzeylerinde artma, antioksidan düzeylerinde azalma görülür. Bu olay, literetürlerde oksidatif stres olarak ifade edilen doku hasarına yol açmaktadır (147). Benzer şekilde Turan MI ve arkadaşları, beyin dokusunda sisplatin kaynaklı oksidatif stresin MDA yı önemli ölçüde arttırdığını ve tGSH seviyelerini düşürdüğünü bulmuşlardır (145). Doku GSH düzeyinin yüksek olması doku bütünlüğünü ve fonksiyonunun normal düzeylerde sürdürüldüğünü gösterir. GSH, birçok hücrede bulunan L-glutamat, L-sistein ve glisinden oluşan tripeptiddir. GSH aktif bölgesinde selenyum içeren GPO katalizörlüğünde H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki gösterir. Ayrıca, H₂O₂ ve detoksifiye eder ve hücrelerden uzaklaştırır (148). Cerebrolysinin canlılarda sisplatin ilişkili beyin hasarında azalan tGSH düzeylerine etkisini araştıran çalışmalara rastlanmadı. Ancak, cerebrolysinin beynin hipokampal bölgesinde GSH miktarının stresle azalmasını ve fonksiyon bozukluğunu önlediği savunulmuştur (149). Başka bir çalışmada ise, cerebrolysinin beyin dokusunda GSH

düzeşinin düşmesini, dopamin, LPO, H₂O₂ ve MDA düzeylerinin yükselmesini önleyerek beyin dokusunu 3-nitropropiyonik asit ilişkili oksidatif streşten koruduğu bildirilmiştir (150). Deney sonuçlarımız ve literetür bilgileri, cerebrolysinin beyin dokusunda sisplatine bağlı tGSH harcanmasını anlamlı baskıladığını açıkça ortaya koymaktadır.

Canlılarda doku bütünlüğünün ve fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesi için aşırı üretilen ROS ları nötralize etmede iştirak eden bir diğer antioksidan molekülün SOD olduğu bilinmektedir (40). SOD, süperoksitin H₂O₂ ve O₂ ye dönüşümünü katalizler. Hemen hemen bütün canlılarda bulunan SOD'un tüm çeşitleri süperoksitin dismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilir (151, 152). Sisplatin uyguladığımız grubun beyin dokusunda, SOD aktivitesinin sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı düşük olması, sisplatin ilişkili oksidatif streşin cerebrolysinle baskılandığını göstermektedir. Abdel-Wahab WM ve arkadaşının yapmış oldukları bir çalışmada, sisplatinin neden olduğu hasarlı beyin dokusunda SOD aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, antioksidan n-acetylcysteinin sisplatine bağlı SOD aktivitesinin azalmasını önlediği ve oksidatif streşi ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (153). Bizim çalışmamızda da cerebrolysin uygulanan grubun beyin dokusunda, SOD aktivitesi sağlıklı grubuna çok yakın bulunmuştur. Ancak bazı çalışmalarda cerebrolysinin beyin dokusunda SOD aktivitesini azalttığına dair bilgiler sunulmaktadır (154). Ancak başka bir çalışmada cerebrolysinin beyin dokusunda SOD düzeyini yükselttiği saptanmıştır (155).

Çalışmamızda ayrıca sisplatin, sisplatin+cerebrolysin uygulanan sağlıklı grubu hayvanların beyin dokusunda tüm oksidan ve antioksidan parametre düzeylerini değerlendirmek için doku TOS ve TAS seviyelerinin ölçümü yapıldı. Canlı dokuda bulunan bütün oksidanların toplam etkisini TOS, antioksidanların toplam etkisini ise TOS yansıtır. Günümüzde antioksidan/oksidan durum TOS ve TAS ölçümü ile daha kolay değerlendirilebilmektedir (128, 129). Deney sonuçlarımızdan anlaşılacağı gibi, MDA ve MPO nun yüksek, tGSH ve SOD un düşük bulunduğu sisplatin grubunun beyin dokusunda TOS düzeyi yüksek, TAS düzeyi ise düşük bulunmuştur. Cerebrolysin grubunda MDA, MPO ve TOS düzeyleri düşük, tGSH, SOD ve TAS düzeylerinin yüksek bulunması deney sonuçlarımızın literetür bilgileri ile örtüştüğünü göstermektedir. Oksidatif streşle TAS ın tükenmesi

durumunda başlangıçta karaciğer ve yağ dokusundan endojen antioksidanların salınımı artar. Ancak, oksidatif stresin daha ileri döneminde ise antioksidanların tükenmesine bağlı olarak TAS düşer (156). Ayrıca, TAS genel ROS süpürme kabiliyetini belirler, TOS ise numunedeki ROS olarak tanımlanır (157). TAS düzeyi azalmış, TOS düzeyi artmış sisplatin grubunda OSİ değeri sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre yüksek olarak kaydedilmiştir. Bu bulgularımız, cerebrolysin grubunun beyin dokusunda TAS ın TOS' a oranla daha yüksek olduğunu açıklamaktadır. Lityeretürlerde de oksidatif stresin altın göstergesi” olarak adlandırılan OSİ, TAS ın TOS a oranını belirlemede kullanılmaktadır (158).

Çalışmamızda, biyokimyasal deney sonuçlarımızın histopatolojik bulgularla örtüştüğü görülmüştür. Oksidatif stresin ROS üretimini artırdığı bilinmektedir. ROS, hücrelerde oksidan antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengenin oksidanların lehine bozulmasına ve hücrelerde hasarın meydana gelmesine neden olmaktadır (159). Sisplatinin, insan ve hayvan sinir sistemleri üzerindeki toksik etkileri elektrofizyolojik ve histopatolojik incelemelerle kanıtlanmıştır. Oksidan parametrelerin sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı artış gösteren sisplatin grubunda nöron, astrosit, kapiller damarlar, microglia ve endotelial hücrelerde histopatolojik bulgulara rastlanmıştır. Histopatolojik hasarın belirgin bulunduğu sisplatin grubunda, antioksidan parametrelerin sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı azaldığı saptanmıştır. Bundan önce yapılan çalışmalarda da bu bulgularımızı destekleyen bilgiler sunulmuştur. Kaya K ve arkadaşlarıda oksidan parametrelerin yüksek, antioksidan parametrelerin düşük tespit edildiği sisplatin grubunun beyin dokusunda hücre ve damar hasarının geliştiğini rapor etmişlerdir (160). Kronik sisplatin uygulaması, spinal ganglion nöronlarında ciddi hasara yol açtığı ve hücre boyutunu azalttığı bildirilmiştir (161, 162). Karavelioglu E ve arkadaşları ise sisplatinin nöroglia hücresinin sayısında azalmaya, sinir hücre ve kapiler damarların histopatolojisine neden olduğunu göstermişlerdir (163). Sisplatin toksisitesine karşı etkisi araştırılan cerebrolysin grubunun beyin dokusunda histopatolojik bulguların hafif izlenmiş olması, onun oksidant moleküllerin üretimini, antioksidanların ise tüketimini baskılamış olmasından ileri geldiği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda cerebrolysinin sıçanlarda deneysel hemorajik inme modelinde ortaya çıkan nöron dejenerasyonu ve nöron kaybını önlediği ve nöronların canlılığını arttırdığı ifade

edilmiştir (164). Ayrıca, cerebrolysin, oksidatif stresi baskılayarak, hücre apoptozisini önlediği bildirilmiştir (12).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tüm hayvan gruplarından elde edilen biyokimyasal deney sonuçlarımız, histopatolojik bulgularla örtüşmektedir.

Sisplatin verilen hayvanların beyin dokusunda oksidan antioksidan denge oksidanların lehine değişmiştir.

Oksidan antioksidan dengenin oksidanların üstünlüğüyle sürdürülen sisplatin grubunun beyin dokusunda ciddi histopatolojik hasar ortaya çıkmıştır.

Cerebrolysin oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değişmesini önlemiştir.

Cerebrolysin antioksidan etkili bu dozu, hayvanların beyin dokusunda sisplatin ilişkili histopatolojik hasarı belirgin bir şekilde önlediği anlaşılmıştır.

Biyokimyasal ve histopatolojik deney sonuçlarımız, cerebrolysinin sisplatine bağlı oksidatif beyin hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini işaret etmektedir.

Bu da cisplatinin kanser tedavisinde istenilen dozlarda kullanılmasını sağlamada yardımcı olabilir.

KAYNAKLAR

1. Rabik, C. A., and Dolan, M. E. (2007). Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Reviews*, 33(1), 9-23.
2. Chtourou, Y., Aouey, B., Kebieche, M., and Fetoui, H. (2015). Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-mediated NF- κ B and P53 signaling pathways. *Chemico-biological Interactions*, 239, 76-86.
3. Kim, J. H., Jeong, S. J., Kwon, H. Y., Park, S. Y., Lee, H. J., Lee, H. J., ... and Kim, S. H. (2010). Decursin prevents cisplatin-induced apoptosis via the enhancement of antioxidant enzymes in human renal epithelial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(8), 1279-1284.
4. Brouwers, E. E., Huitema, A. D., Boogerd, W., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. (2009). Persistent neuropathy after treatment with cisplatin and oxaliplatin. *Acta Oncologica*, 48(6), 832-841.
5. Cavaletti, G., Bogliun, G., Crespi, V., Marzorati, L., Zincone, A., Marzola, M., ... and Tredici, G. (1997). Neurotoxicity and ototoxicity of cisplatin plus paclitaxel in comparison to cisplatin plus cyclophosphamide in patients with epithelial ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 15(1), 199-206.
6. Ginsberg, S., Kirshner, J., Reich, S., Panasci, L., Finkelstein, T., Fandrich, S., ... and Comis, R. (1981). Systemic chemotherapy for a primary germ cell tumor

- of the brain: a pharmacokinetic study. *Cancer Treatment Reports*, 65(5-6), 477-483.
7. Ravi, R., Somani, S. M., and Rybak, L. P. (1995). Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacology ve Toxicology*, 76(6), 386-394.
8. Davies, K. J., and Goldberg, A. L. (1987). Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 262(17), 8220-8226.
9. Goulart, M., Batoreu, M. C., Rodrigues, A. S., Laires, A., and Rueff, J. (2005). Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers. *Mutagenesis*, 20(5), 311-315.
11. Berent, D., Zboralski, K., and Macander, M. (2014). Antioxidant properties of cerebrolysin—an old drug with newly discovered capabilities. *The Polish Journal of Aviation Medicine and Psychology*, 20(1), 25.
12. Boshra, V., and Atwa, A. (2016). Effect of cerebrolysin on oxidative stress-induced apoptosis in an experimental rat model of myocardial ischemia. *Physiology International (Acta Physiologica Hungarica)*, 103(3), 310-320.
13. Deviatkina, T. A., Vazhnichaia, E. M., and Lytsenko, R. V. (2000). Characteristics of lipid peroxidation in various tissues during acute stress and its correction by pyracetam and cerebrolysin. *Eksperimental'naiia i klinicheskaia farmakologiiia*, 63(4), 38-41.

14. Arıncı K, Elhan A. (2014). *Anatomi*. Ankara: Güneş Kitabevi.
15. Yıldırım M, Mesut R. (2000). *Topografik Anatomi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
16. Taner D. (2013). *Fonksiyonel Nöroanatomi*. Ankara: ODTÜ Geliştirme Vakfı ve İletişim A.Ş. Yayınları.
17. Strandring S. (2016). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. New York: Elsevier Churchill Livingstone.
18. Patestas MA, Gartner LP. A (2006). *Textbook of Neuroanatomy*. Oxford: Blackwell Publishing.
19. Lavie, L. (2003). Obstructive sleep apnoea syndrome – an oxidative stress disorder. *Sleep Medicine Reviews*, 7(1), 35-51.
20. Barden, A., Beilin, L., Ritchie, J., Croft, K., Walters, B. and Michael, C. (1996). Plasma and Urinary 8-iso-Prostane as An Indicator of Lipid Peroxidation in Pre-Eclampsia and Normal Pregnancy. *Clinical Science*, 91(6), 711-718.
21. Kinnula, V., Ilumets, H., Myllarniemi, M., Sovijarvi, A. and Ryttila, P. (2006). 8-Isoprostane as a marker of oxidative stress in nonsymptomatic cigarette smokers and COPD. *European Respiratory Journal*, 29(1), 51-55.
22. Seet, R., Lee, C., Lim, E., Tan, J., Quek, A., Chong, W., Looi, W., Huang, S., Wang, H. and Chan, Y. (2010). Oxidative damage in Parkinson disease: Measurement using accurate biomarkers. *Free Radical Biology and Medicine*, 48(4), 560-566.

23. Hozawa, A., Ebihara, S., Ohmori, K., Kuriyama, S., Ugajin, T., Koizumi, Y., Suzuki, Y., Matsui, T., Arai, H., Tsubono, Y., Sasaki, H. and Tsuji, I. (2004). Increased Plasma 8-Isoprostane Levels in Hypertensive Subjects: The Tsurugaya Project. *Hypertension Research*, 27(8), 557-561.
24. Schwedhelm, E. (2004). Urinary 8-iso-Prostaglandin F₂ as a Risk Marker in Patients With Coronary Heart Disease: A Matched Case-Control Study. *Circulation*, 109(7), 843-848.
25. Johns, N. and Johns, J. (2012). Assessment of 8-isoprostane (8-isoPGF₂ α) in Urine of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients Undergoing Chemotherapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(3), 775-780.
26. Öner-İyidoğan, Y., Koçak, H., Gürdöl, F., Koçak, T. and Erol, B. (2004). Urine 8-isoprostane F₂ α concentrations in patients with neurogenic bladder due to spinal cord injury. *Clinica Chimica Acta*, 339(1-2), 43-47. 63
27. Muriel, P., (2009). Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology international*, 3(4), 526-536.
28. Maher, P., ve Schubert, D. (2000). Signaling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(8-9), 1287-1305.
29. Gutteridge JMC. Halliwell B. (1991). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press.

30. Sánchez-Valle, V., C Chavez-Tapia, N., Uribe, M., ve Méndez-Sánchez, N. (2012). Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review. *Current Medicinal Chemistry*, 19(28), 4850-4860.
31. Babusikova, E., Andrea, E., Jozef, H., Dobrato, D., and Jurecekova, J. (2013). *Oxidative changes and possible effects of polymorphism of antioxidant enzymes in neurodegenerative disease*. In U. KISHORE, Neurodegenerative Disease (pp. 421455). USA: InTech.
32. Nordberg, J., and Arnér, E. S. (2001). Arner, Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
33. Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Boimedical Science*, 4(2), 89-96.
34. Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., and Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4(1), 1-11.
35. Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza Yayınları.
36. Jaeschke, H., (2000). Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15(7), 718-724.

37. Mates, J. M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104.
38. Gutteridge, J. M., and Halliwell, B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000: a historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), 136-147.
39. Halliwell B, Gutteridge JMC. (1999). *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford.
40. Urso, M. L., and Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54.
41. Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., and Rezaiee, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.
42. Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutrition reviews*, 55(1), 44-49.
43. Dündar Y, Aslan R. (1999). Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi*, 2(2): 134-142.
44. Poljsak, B., Šuput, D., ve Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11.

45. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., and De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.
46. Sen, S., and Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1-37). American Chemical Society.
47. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry ve Cell Biology*, 39(1), 44-84.
48. Is, Y., and Woodside, J. V. (2001). Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 54(3), 176-186.
49. Kirkman, H. N., Galiano, S., and Gaetani, G. F. (1987). The function of catalase-bound NADPH. *Journal of Biological Chemistry*, 262(2), 660-666.
50. Zámocký, M., and Koller, F. (1999). Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 72(1), 19-66.
51. Limón-Pacheco, J., and Gonsebatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 137-147.

52. Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J., and van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 141-152.
53. Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., ... and AcuñaCastroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 18(1), 1-11.
54. Özkan A, Fışkın K. (2004). Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, 14: 52-60.
55. Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.
56. Willcox, J. K., Ash, S. L., and Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 275-295.
57. Townsend, D. M., Tew, K. D., and Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine ve Pharmacotherapy*, 57(3-4), 145-155.
58. Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., and Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *PloS One*, 9(10), 1-10.

59. Reiter, R. J., ACUÑA-CASTROVIEJO, D. A. R. I. O., TAN, D. X., and Burkhardt, S. (2001). Free radical-mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 939(1), 200-215.
60. Kumar, A. N., Aruna, P., Naidu, J. N., Kumar, R., and Srivastava, A. K. (2015). Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(1), 19-40.
61. Waring, W. S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *Qjm*, 95(10), 691-693.
62. Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.
63. Burtis CA, Ashwood ER. (2005). *Vitaminler*. Aslan D. Eds. Klinik Kimyada Temel İlkeler. Ankara: Palme Yayınları.
64. Roche, M., Rondeau, P., Singh, N. R., Tarnus, E., and Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*, 582(13), 1783-1787.
65. Gürkan, A. S., and Bozdağ-Dündar, O. (2005). Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 34(2), 129-54.
66. Kim, Y., Kim, D. C., Cho, E. S., Ko, S. O., Kwon, W. Y., Suh, G. J., and Shin, H. K. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation*, 11(1), 1-8.

67. Chauhan, A., Chauhan, V., Brown, W. T., and Cohen, I. (2004). Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life Sciences*, 75(21), 2539-2549.
68. Şener G, Yeğen Berrak Ç. (2009). İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22(3), 5-13.
69. Li, Y., and Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *The Journal of Nutrition*, 137(10), 2171-2184.
70. Aydemir B, Karadağ Sarı E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2(2): 56-60.
71. Hussein, H. K., Elnaggar, M. H., and Al-Zahrani, N. K. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Glo. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol*, 1(4), 066-071.
72. Ebaid, H., Bashandy, S. A., Alhazza, I. M., Rady, A., and El-Shehry, S. (2013). Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. *Nutrition ve Metabolism*, 10(1), 20.
73. Langerak AD, Dreisbach LP. (2001). *Chemotherapy Regimens and Cancer Care*. Georgetown Texas: Landes Bioscience.
74. Curran, W. J. (2002). New chemotherapeutic agents: update of major chemoradiation trials in solid tumors. *Oncology*, 63(Suppl. 2), 29-38.

75. Hacımüftüoğlu, A. (2007). Nörotoksisite ve Glutamat İlişkisi, 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 24-27 Ekim, Trabzon.
76. Rosenberg, B., Vancamp, L., Trosko, J. E., ve Mansour, V. H. (1969). Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature*, 222(5191), 385-386.
77. Kelland, L. (2007). The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 7(8), 573-584.
78. Chirino, Y.I. and J. Pedraza-Chaverri, Role of oxidative and nitrosative stress in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 2009. 61(3), 223-242.
79. Dkhil, M. A., Al-Quraishy, S., Aref, A. M., Othman, M. S., El-Deib, K. M., and Abdel Moneim, A. E. (2013). The potential role of Azadirachta indica treatment on cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in female rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1-9.
80. Tsang, R. Y., Al-Fayea, T., and Au, H. J. (2009). Cisplatin overdose. *Drug Safety*, 32(12), 1109-1122.
81. Pabla, N., and Dong, Z. (2008). Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International*, 73(9), 994-1007.
82. Hanigan, M. H., and Devarajan, P. (2003). Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer Therapy*, 1, 47-61.

83. Goren, M. P. (2003). Cisplatin nephrotoxicity affects magnesium and calcium metabolism. *Medical and pediatric oncology*, 41(3), 186-189.
84. Kayaalp S.O. (1998). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şirketi.
85. Klaassen CD, (2001). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. USA: McGraw-Hill Companies Inc. Medical Publishing Division.
86. Kelly, T. C., Whitworth, C. A., Husain, K., and Rybak, L. P. (2003). Aminoguanidine reduces cisplatin ototoxicity. *Hearing Research*, 186(1-2), 10-16.
87. Minami, T., Okazaki, J., Kawabata, A., Kuroda, R., and Okazaki, Y. (1998). Penetration of cisplatin into mouse brain by lipopolysaccharide. *Toxicology*, 130(2-3), 107-113.
88. Sharma, H. S., Zimmermann-Meinzingen, S., Sharma, A., and Johanson, C. E. (2010). Cerebrolysin attenuates blood–brain barrier and brain pathology following whole body hyperthermia in the rat. In *Brain Edema XIV* (pp. 321-325). Springer, Vienna.
89. Sharma, H.S.; Zimmermann-Meinzingen, S.; Sharma, A.; Muresanu, D.F. (2009). Neuroprotective effects of cerebrolysin in animal models of CNS injuries. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29, 423-424.

90. Sharma, H. S., Muresanu, D., Sharma, A., and Zimmermann-Meinzingen, S. (2010). Cerebrolysin treatment attenuates heat shock protein overexpression in the brain following heat stress: an experimental study using immunohistochemistry at light and electron microscopy in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1199(1), 138-148.
91. Muresanu, D. F., Alvarez, X. A., Moessler, H., Novak, P. H., Stan, A., Buzoianu, A., ... and Popescu, B. O. (2010). Persistence of the effects of Cerebrolysin on cognition and qEEG slowing in vascular dementia patients: results of a 3-month extension study. *Journal of the Neurological Sciences*, 299(1-2), 179-183.
92. Muresanu, D. F., Alvarez, X. A., Moessler, H., Buia, M., Stan, A., Pintea, D., ... and Popescu, B. O. (2008). A pilot study to evaluate the effects of Cerebrolysin on cognition and qEEG in vascular dementia: cognitive improvement correlates with qEEG acceleration. *Journal of the Neurological Sciences*, 267(1-2), 112-119.
93. Zhang, C., Chopp, M., Cui, Y., Wang, L., Zhang, R., Zhang, L., ... and Zhang, Z. G. (2010). Cerebrolysin enhances neurogenesis in the ischemic brain and improves functional outcome after stroke. *Journal of Neuroscience Research*, 88(15), 3275-3281.
94. Ren, J., Sietsma, D., Qiu, S., Moessler, H., and Finklestein, S. P. (2007). Cerebrolysin enhances functional recovery following focal cerebral infarction in rats. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 25(1), 25-31.

95. Johanson, C., Stopa, E., Baird, A., and Sharma, H. (2011). Traumatic brain injury and recovery mechanisms: peptide modulation of periventricular neurogenic regions by the choroid plexus–CSF nexus. *Journal of Neural Transmission*, 118(1), 115-133.
96. Hong, Z., Moessler, H., Bornstein, N., Brainin, M., and Heiss, W. D. (2009). A double-blind, placebo-controlled, randomized trial to evaluate the safety and efficacy of Cerebrolysin in patients with acute ischaemic stroke in Asia–CASTA. *International Journal of Stroke*, 4(5), 406-412..
97. Tatebayashi Y. (2003). Dentat girus nörogenezi: Alzheimer hastalığı ve senil depresyonu için ortak bir terapötik hedef mi? *Seishin Shinkeigaku Zasshi*, 105, 398-404.
98. Darsalia, V., Heldmann, U., Lindvall, O., and Kokaia, Z. (2005). Stroke-induced neurogenesis in aged brain. *Stroke*, 36(8), 1790-1795.
99. Sharma, H. S., Zimmermann-Meinzingen, S., and Johanson, C. E. (2010). Cerebrolysin reduces blood-cerebrospinal fluid barrier permeability change, brain pathology, and functional deficits following traumatic brain injury in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1199(1), 125-137.
100. Murray, C. J., and Lopez, A. D. (2013). Measuring the global burden of disease. *New England Journal of Medicine*, 369(5), 448-457.
101. Masliah, E., and Diez-Tejedor, E. (2012). The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract

- pathologies of acute and chronic neurological disorders. *Drugs of today* (Barcelona, Spain: 1998), 48, 3-24.
102. Zhang, L., Chopp, M., Lu, M., Zhang, T., Winter, S., Doppler, E., ... and Gang Zhang, Z. (2016). Cerebrolysin dose-dependently improves neurological outcome in rats after acute stroke: A prospective, randomized, blinded, and placebo-controlled study. *International Journal of Stroke*, 11(3), 347-355.
103. Muresanu, D. F., Buzoianu, A., Florian, S. I., and von Wild, T. (2012). Towards a roadmap in brain protection and recovery. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16(12), 2861-2871.
104. Ladurner, G., Kalvach, P., and Moessler, H. (2005). Neuroprotective treatment with cerebrolysin in patients with acute stroke: a randomised controlled trial. *Journal of Neural Transmission*, 112(3), 415-428
105. Shamalov, N. A., Stakhovskaia, L. V., Burenchev, D. V., Kichuk, I. V., Tvorogova, T. V., Botsina, A., ... ve Skvortsova, V. I. (2010). The effect of cerebrolysin in dosage 50 ml on the volume of lesion in ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova*, 110(12 Pt 2), 34-37.
106. Goldstein, L., Bushnell, C., Adams, R., Appel, L., Braun, L., Chaturvedi, S., and Hinchey, J. (2011). American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; Council for High Blood Pressure Research; Council on Peripheral Vascular Disease, and Interdisciplinary Council on Quality of Care and Outcomes

- Research. *Guidelines for the Primary Prevention of Stroke. Headache*, 51(6), 1011-1021.
107. Mackay J. (2004). *The atlas of heart disease and stroke/Judith Mackay and George A. Mensah; with Shanthy Mendis and Kurt Greenlund*. Geneva: World Health Organization.
108. Writing Group Members, Thom, T., Haase, N., Rosamond, W., Howard, V. J., Rumsfeld, J., ... and Kittner, S. (2006). Heart disease and stroke statistics—2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*, 113(6), 85-151.
109. Zhang, Y., Chopp, M., Meng, Y., Zhang, Z. G., Doppler, E., Winter, S., ... and Xiong, Y. (2015). Cerebrolysin improves cognitive performance in rats after mild traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*, 122(4), 843-855.
110. Cadilhac, D. A., Kim, J., Lannin, N. A., Kapral, M. K., Schwamm, L. H., Dennis, M. S., ... and Meretoja, A. (2016). National stroke registries for monitoring and improving the quality of hospital care: a systematic review. *International Journal of Stroke*, 11(1), 28-40.
111. Boulikas, T. (2009). Clinical overview on Lipoplatin™: A successful liposomal formulation of cisplatin. *Expert opinion on Investigational Drugs*, 18(8), 1197-1218.
112. Florea, A. M., and Büsselberg, D. (2009). Anti-cancer drugs interfere with intracellular calcium signaling. *Neurotoxicology*, 30(5), 803-810.

113. Sueishi, K., Mishima, K., Makino, K., Itoh, Y., Tsuruya, K., Hirakata, H., and Oishi, R. (2002). Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *European Journal of Pharmacology*, 451(2), 203-208.
114. Yasuyuki, S., Takahiro, S., and Yoshio, T. (1991). Change of lipid peroxide levels in rat tissues after cisplatin administration. *Toxicology Letters*, 57(2), 159-166.
115. Borch, R. F., and Pleasants, M. E. (1979). Inhibition of cis-platinum nephrotoxicity by diethyldithiocarbamate rescue in a rat model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(12), 6611-6614.
116. Sharma, H.S.; Muresanu, D.F.; Patnaik, R.; Stan, A.D.; Vacaras, V.; Perjudumbrav, L.; Alexandru, B.; Buzoianu, A.; Opincariu, I.; Menon, P.K.; Sharma, A. (2011). Superior neuroprotective effects of cerebrolysin in heat stroke following chronic intoxication of Cu or Ag engineered nanoparticles. A comparative study with other neuroprotective agents using biochemical and morphological approaches in the rat. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(9), 7549-7569.
117. Sharma, H., F Ali, S., Patnaik, R., Zimmermann-Meinzingen, S., Sharma, A., and F Muresanu, D. (2011). Cerebrolysin attenuates heat shock protein (HSP 72 KD) expression in the rat spinal cord following morphine dependence and withdrawal: possible new therapy for pain management. *Current Neuropharmacology*, 9(1), 223-235.

118. Shimazu, S. N., Tachikawa, N., Iwamoto, D., Itho, T., Komatsu, S., and Fujimoto, M. (1992). The neurotrophic and brain protein effect of Cerebrolysin. *Neurobiol Aging*, 13(suppl 1), 50.
119. Windisch, M., Albrecht, E., Eggenreich, U., and Paier, B. (1992). Neurotrophic effects of the nootropic drug cerebrolysinR-A summary. *Neurobiology of Aging*, 13, 133.
120. Riley, C., Hutter-Paier, B., Windisch, M., Doppler, E., Moessler, H., and Wronski, R. (2006). A peptide preparation protects cells in organotypic brain slices against cell death after glutamate intoxication. *Journal of Neural Transmission*, 113(1), 103-110.
121. Makarenko, A. N., Kositsin, N. S., Nazimov, I. V., Svinov, M. M., Goloborod'ko, E. V., and Pasikova, N. V. (2005). A comparative study of antistroke activity of the new drug "cerebral" and its fractions in rats. *Ekspierimental'naia i klinicheskaia farmakologiiia*, 68(2), 15-20.
122. Saponov, N. S., Bul'on, V. V., Kuznetsova, N. N., and Selina, E. N. (2005). The neuroprotector effect of a new taurine derivative on a model of compression spinal cord trauma in rats. *Ekspierimental'naia i klinicheskaia farmakologiiia*, 68(6), 45-48.
123. Bajenaru, O., Tiu, C., Moessler, H., Antochi, F., Muresanu, D., Popescu, B. O., and Novak, P. (2010). Efficacy and safety of Cerebrolysin in patients with hemorrhagic stroke. *Journal of Medicine and Life*, 3(2), 137.

124. Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
125. Bradley, P. P., Priebat, D. A., Christensen, R. D., and Rothstein, G. (1982). Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of Investigative Dermatology*, 78(3), 206-209.
126. Sedlak, J., and Lindsay, R. H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25, 192-205.
127. Sun, Y. I., Oberley, L. W., and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
128. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
129. Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37(2), 112-119.
130. Rossi, A., Di Maio, M., Chiodini, P., Rudd, R. M., Okamoto, H., Skarlos, D. V., ... and Shibata, T. (2012). Carboplatin-or cisplatin-based chemotherapy in

- first-line treatment of small-cell lung cancer: the COCIS meta-analysis of individual patient data. *Journal of Clinical Oncology*, 30(14), 1692-1698.
131. Namikawa, K., Asakura, M., Minami, T., Okazaki, Y., Kadota, E., and Hashimoto, S. (2000). Toxicity of cisplatin to the central nervous system of male rabbits. *Biological Trace Element Research*, 74(3), 223-235.
132. Wang, D., and Lippard, S. J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(4), 307.
133. Ahmad, S. (2010). Platinum–DNA interactions and subsequent cellular processes controlling sensitivity to anticancer platinum complexes. *Chemistry ve Biodiversity*, 7(3), 543-566.
134. Gill, J. S., and Windebank, A. J. (1998). Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. *The Journal of Clinical Investigation*, 101(12), 2842-2850.
135. Englander, E. W. (2013). DNA damage response in peripheral nervous system: coping with cancer therapy-induced DNA lesions. *DNA Repair*, 12(8), 685-690.
136. SUGIHARA, K., and GEMBA, M. (1986). Modification of cisplatin toxicity by antioxidants. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 40(2), 353-355.
137. Slater, T. F., Cheeseman, K. H., Davies, M. J., Proudfoot, K., and Xin, W. (1987). Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proceedings of the Nutrition Society*, 46(1), 1-12.

138. Almutairi, M. M., Alanazi, W. A., Alshammari, M. A., Alotaibi, M. R., Alhoshani, A. R., Al-Rejaie, S. S., ... and Al-Shabanah, O. A. (2017). Neuroprotective effect of rutin against Cisplatin-induced neurotoxic rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 472.
139. Klebanoff, S. J. (1968). Myeloperoxidase-halide-hydrogen peroxide antibacterial system. *Journal of Bacteriology*, 95(6), 2131-2138.
140. Lehrer R. (1980). Neutrophils and Host Defence. *Ann ni. Mal.*, 109, 127- 142.
141. Koller, D. Y. (2000). Sampling methods: urine/blood analysis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162(supplement_1), 31-33.
142. Bergt, C., Marsche, G., Panzenboeck, U., Heinecke, J. W., Malle, E., and Sattler, W. (2001). Human neutrophils employ the myeloperoxidase/hydrogen peroxide/chloride system to oxidatively damage apolipoprotein A-I. *European Journal of Biochemistry*, 268(12), 3523-3531.
143. Watanabe, K. I., Jinnouchi, K., and Yagi, T. (2002). Immunoreactivity for myeloperoxidase (MPO) in the vestibule after the injection of bacterial lipopolysaccharide into the middle ear. *Auris Nasus Larynx*, 29(3), 241-245.
144. Javed S. Myeloperoxidase deficiency (2004). *Allergy And Immunology; Pediatrics; eMedicine Specialties*.
145. Turan, M. I., Cayir, A., Cetin, N., Suleyman, H., Turan, I. S., and Tan, H. (2014). An investigation of the effect of thiamine pyrophosphate on cisplatin-

- induced oxidative stress and DNA damage in rat brain tissue compared with thiamine: thiamine and thiamine pyrophosphate effects on cisplatin neurotoxicity. *Human ve Experimental Toxicology*, 33(1), 14-21.
146. Gulec, M., Oral, E., Dursun, O. B., Yucel, A., Hacimuftuoglu, A., Akcay, F., and Suleyman, H. (2013). Mirtazapine protects against cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage in the rat brain. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 67(1), 50-58.
147. Yeum, K. J., Russell, R. M., Krinsky, N. I., and Aldini, G. (2004). Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 430(1), 97-103.
148. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, VM. R. (2000). *Harper's Biochemistry*. USA: McGraw-Hill Press.
149. Alzoubi, K. H., Al-ibbini, A. M., and Nuseir, K. Q. (2018). Prevention of memory impairment induced by post-traumatic stress disorder by cerebrolysin. *Psychiatry Research*, 270, 430-437.
150. Guzmán, D. C., Brizuela, N. O., Herrera, M. O., García, E. H., Mejía, G. B., Olgúin, H. J., ... and Ruíz, N. L. (2016). Effect of cerebrolysin on dopaminergic neurodegeneration of rat with oxidative stress induced by 3-nitropropionic acid. *Acta Pharmaceutica*, 66(3), 443-448.
151. Buettner, G. R., Ng, C. F., Wang, M., Rodgers, V. G. J., and Schafer, F. Q. (2006). A new paradigm: manganese superoxide dismutase influences the

- production of H₂O₂ in cells and thereby their biological state. *Free Radical Biology and Medicine*, 41(8), 1338-1350.
152. Mao, G. D., Thomas, P. D., Lopaschuk, G. D., and Poznansky, M. J. (1993). Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates. Role of hydrogen peroxide and the Fenton reaction in SOD toxicity. *Journal of Biological Chemistry*, 268(1), 416-420.
153. Abdel-Wahab, W. M., and Moussa, F. I. (2019). Neuroprotective effect of N-acetylcysteine against cisplatin-induced toxicity in rat brain by modulation of oxidative stress and inflammation. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 1155.
154. Gonzalez ME, Francis L, Castellano O (1998) Antioxidant systemic effect of short-term Cerebrolysin administration. *J Neural Transm*, 53, 333–341.
155. An, L., Han, X., Li, H., Ma, Y., Shi, L., Xu, G., ... and Wang, M. (2016). Effects and mechanism of cerebroprotein hydrolysate on learning and memory ability in mice. *Genet Mol Res*, 15(3), 1-10.
156. Psotová, J., Zahálková, J., Hrbac, J., Simanek, V., and Bartek, J. (2001). Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry. Two case reports. *Biomedical Papers-Palacky University in Olomouc*, 145(2), 81-83.
157. Maciejczyk, M., Żebrowska, E., Zalewska, A., and Chabowski, A. (2018). Redox balance, antioxidant defense, and oxidative damage in the

- hypothalamus and cerebral cortex of rats with high fat diet-induced insulin resistance. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 1-11.
158. Choromańska, M., Klimiuk, A., Kostecka-Sochoń, P., Wilczyńska, K., Kwiatkowski, M., Okuniewska, N., ... and Maciejczyk, M. (2017). Antioxidant defence, oxidative stress and oxidative damage in saliva, plasma and erythrocytes of dementia patients. Can salivary AGE be a marker of dementia?. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(10), 2205.
159. Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194.
160. Kaya, K., Ciftci, O., Cetin, A., Tecellioglu, M., and Başak, N. (2016). Beneficial effects of β -glucan against cisplatin side effects on the nervous system in rats 1. *Acta Cirurgica Brasileira*, 31(3), 198-205.
161. Siddik, Z. H. (2003). Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, 22(47), 7265.
162. Melnikov, S. V., Söll, D., Steitz, T. A., and Polikanov, Y. S. (2016). Insights into RNA binding by the anticancer drug cisplatin from the crystal structure of cisplatin-modified ribosome. *Nucleic Acids Research*, 44(10), 4978-4987.
163. Karavelioglu, E., Boyaci, M. G., Simsek, N., Sonmez, M. A., Koc, R., Karademir, M., ... and Eser, O. (2015). Selenium protects cerebral cells by cisplatin induced neurotoxicity. *Acta Cirurgica Brasileira*, 30(6), 394-400.

164. Savos'ko, S. I., Chaïkovs'kyi, I., Pogoriela, N., and Makarenko, O. M. (2012).
Histostructural changes of rat cerebral cortex during hemorrhagic stroke
modeling. *Fiziologichnyi Zhurnal*, 58(5), 28-35.



EKLER

EK 1. Etik Kurul Kararı



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



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900138333
Konu : HADYEK Kararı.

02.05.2019

HUKUK MÜŞAVİRLİĞİNE

İlgi : 10.04.2019 tarihli ve 77040475-641.04-E.1900117398 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 30.04.2019 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 84 no'lu kararı ile sözkonusu yüksek lisans tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#/birim-veteriner-fakultesi>

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vetfak@atauni.edu.tr

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr



1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=373C35E>

TOPLANTI TARİHİ : 30.04.2019

TOPLANTI SAYISI : 5

KARAR N0 84: Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr.Öğr.Üyesi Renad MAMMADOV'un yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuarlarında yürütülecek olan "**Cerebrolysinin Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Oksidatif Beyin Hasarına Etkisi**" isimli yüksek lisans tezi çalışması ile ilgili 10.04.2019 tarih ve 77040475-641.04-E.1900117398 sayılı Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Hukuk Müşavirliğinin yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen yüksek lisans tezi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.



Ek 2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

<p>TÜRKİYE CUMHURİYETİ MARMARA ÜNİVERSİTESİ SÜREKLİ EĞİTİM MERKEZİ EĞİTİM SERTİFİKASI</p>	 <p>REPUBLIC OF TURKEY MARMARA UNIVERSITY CONTINUING EDUCATION CENTER CERTIFICATE OF ACHIEVEMENT</p>
<h1>Feryaz Hira</h1>	
<p>Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 02-13 Ekim 2017 tarihleri arasında düzenlenen 40 saat teorik ve 40 saat pratik uygulamaları içeren Araştırmacılar İçin Deney Hayvanları Kullanımına ait Eğitim başlıklı sertifika programını başarı ile tamamlamıştır.</p>	<p>has successfully completed the certificate program entitled Education on Animal Use for Researchers consisting of 40 hours theoretical and 40 hours practical courses organized by Marmara University Animal Experiments Local Ethics Committee between October 02 and 13, 2017.</p>
 <p>Prof. Dr. Göksel Şener M.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanı Head of M.U. Committees of Local Ethics Concerning Experiments on Animals</p>	 <p>Prof. Dr. M. Emin Arat Marmara Üniversitesi Rektörü Rector of Marmara University</p>
№ MS-2017-01623	

KİMLİK BİLGİLERİ - IDENTITY INFORMATION

ADI - SOYADI NAME - SURNAME	Feryaz Hira
TC KİMLİK / PASAPORT NO TE IDENTITY / PASSPORT NUMBER	30484533886
BABA ADI FATHER'S NAME	Yusuf Ziya
DOĞUM TARİHİ DATE OF BIRTH	16.08.1978

ALINAN DERSLER - COURSES TAKEN

TURKCE	Hayvan Deneyleri Etiği - Tıbbi Teknikleri - Alternatif Yöntemler - Deney Hayvanlarında Anestezik Otakoz Teknikleri - Deney Hayvanlarının Üretimi - Hayvan Hastalıkları (Parazitoloji, Mikrobiyoloji, Viroloji) - Deney Hayvanlarının Beslenmesi - Hayvan Refahı ve Davranış Özellikleri - Deney Hayvanlarının Anestezisi, Histoloji, Fizyoloji ve Biyokimyası - Laboratuvar İşletmesi - İş Sağlığı ve Güvenliği - Temel Laboratuvar Güvenliği ve Tematik - İç Verme ve Enjeksiyon Teknikleri - Kan ve Örnek Alma Teknikleri - Pratik Uygulamalar
ENGLISH	Ethics of Animal Experimentation - Handling Techniques - Alternative Methods - Euthanasia and Anesthesia Techniques in Laboratory Animals - Breeding of Laboratory Animals - Diseases of Laboratory Animals (Parasites, Microbiology, Virology) - Nutrition of Laboratory Animals - Animal Welfare and Behavioral Features - Anesthesia, Physiology, Histology and Biochemistry of Laboratory Animals - Laboratory Administration - Occupational Health and Safety - Basic Laboratory Safety and Cleanliness - Drug Delivery and Injection Techniques - Blood and Specimen Sampling - Practical Training

13.10.2017

Kayıtlara uygundur.

Nese Akın

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Erzincan'ın Tercan ilçesinde dünyaya geldim. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzincan'da tamamladım. Lisans öğrenimini Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde (2004) tamamladım. Askerlik Hizmetini 2005 yılında kısa dönem olarak yaptım. Askerlik hizmetinden sonra özel bir şirkette teknik müdür olarak işe başladım. Hala aynı şirkette çalışmaktayım. 2008-2012 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Veteriner Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Ana Bilim Dalında tezli yüksek lisans yaptım. 2016 yılında Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalında Tezli Yüksek Lisans yapmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım.