



T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**CEREBROLYSİNİN SIÇANLARDA SİSPLATİNLE
İNDÜKLENEN OKSİDATİF OPTİK SİNİR HASARINA ETKİSİ**

Burak SARIKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ERZİNCAN
2020

T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**CEREBROLYSİNİN SIÇANLARDA SİSPLATİNLE
İNDÜKLENEN OKSİDATİF OPTİK SİNİR HASARINA ETKİSİ**

Burak SARIKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ




Tez Danışmanı

Prof. Dr. Halis SÜLEYMAN

**ERZİNCAN
2020**

TEZ KABUL SAYFASI

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programında öğrenci Burak SARIKAYA tarafından Prof.Dr.Halis SÜLEYMAN danışmanlığında hazırlanan “**Cerebrolysinin Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Oksidatif Optik Sinir 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 Doç.Dr.Bahadır SÜLEYMAN	
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 içerdđiđi yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılamadığını, tezin herhangi bir kısmının başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.


Burak SARIKAYA

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sűresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrűbeleri ile bana yol gűsterici ve destek olan çok deęerli Erzincan Binali Yıldırım Ŭniversitesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Baőkanı ve danıőman hocam sayın Prof. Dr. Halis SŬLEYMAN'a, ilgisini ve bilgilerini gűstermekten kaçınmayan Erzincan Binali Yıldırım Ŭniversitesi Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı'ndan sayın hocamlarım Doç. Dr. Bahadır SŬLEYMAN ve Dr. Őęr. Ŭyesi Renad MAMMADOV 'a sonsuz teőekkűr ve saygılarımı sunarım.

Çalıőmalarım boyunca yardımını hiç esirgemeyen, sűrekli beni motive eden deęerli arkadaőım Feryaz HİRA'ya teőekkűrű bir borç bilirim.

Çalıőmalarım boyunca maddi ve manevi desteęiyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan eőim Nurcan SARIKAYA'ya da sonsuz teőekkűrler ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL SAYFASI	ii
TEZ BEYANI.....	ii
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. Optik Sinir Anatomi ve Histolojisi.....	1
2.1.1. Göz İçi Bölüm (Optik Sinir Başı)	1
2.1.2. Orbita İçi Bölüm (Kas Dokusu İçine Yerleşmiştir)	2
2.1.3. Kanal İçi Bölüm (Optik Kanal İçine Yerleşmiştir).....	2
2.1.4. Kafa İçi Bölüm (Optik Kiyazmada Sonlanır)	2
2.2. Optik Sinir Beslenmesi.....	2
2.3. Oksidatif Stres	3
2.4. Serbest Radikaller	4
2.5. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	4
2.5.1. Süperoksit Radikalleri (O_2^-).....	4
2.5.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	5

2.5.3. Hidroksil Radikalleri (OH•).....	5
2.6. Antioksidanlar	5
2.6.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları.....	5
2.7. Oksidatif Stresin Hüresel Yapılar Üzerine Etkileri.....	7
2.8. ANTİKANSER İLAÇLAR.....	7
2.8.1 Sisplatin	8
2.9. Cerebrolizin.....	9
3. MATERYAL METOT.....	11
3.1. Hayvanlar	11
3.2. Deney Grupları.....	13
3.2.1. Deney Prosedürü.....	13
3.3. Biyokimyasal Analizler.....	14
3.3.1. Optik Sinir Dokusunun Biyokimyasal Analizi	14
3.3.2. Numunelerin Hazırlanması Aşaması	14
3.3.3. MDA Miktar Tayini	14
3.3.4. MPO Aktivite Tayini	14
3.3.5. tGSH Miktar Tayini	15
3.3.6. SOD Aktivite Tayini	15
3.3.7. TOS ve TAS Ölçümü.....	15
3.4. Histopatolojik İnceleme	16
3.5. İstatistiksel Analizler.....	16
4. BULGULAR	17
4.1. Biyokimyasal Bulgular.....	17
4.1.1. MDA Miktar Analiz Sonuçları	17

4.1.2. MOP Aktivite Analiz Sonuçları.....	18
4.1.3. tGSH Sonuçları	19
4.1.4. SOD Sonuçları	20
4.1.5. TAS Sonuçları.....	21
4.1.6. TOS Sonuçları.....	22
4.1.7. OSİ Sonuçları.....	23
4.2. Histopatolojik Bulgular	24
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
7. KAYNAKLAR.....	35
EKLER	47
EK 1. Etik Kurul Kararı	47
Ek 2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	51

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	: Süperoksit
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	SayfaNo
Tablo 2.2. Eksojen Antioksidanlar	6
Tablo 2.3. Endojen Antioksidanlar	6
Tablo 3.1. Cihazlar ve Ekipmanlar	11
Tablo 3.2. Kimyasallar.....	12
Tablo 4.1. MDA $\mu\text{mol/g}$ Protein Değerleri	17
Tablo 4.2. MPO u/g Protein Değerleri.....	18
Tablo 4.3. tGSH nmol/g Protein Değerleri	19
Tablo 4.4. SOD u/g Protein Değerleri	20
Tablo 4.5. TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri	21
Tablo 4.6. TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein)	22
Tablo 4.7. Oksidatif Stres İndeksleri	23

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 1. Gruplara Göre MDA $\mu\text{mol/g}$ Protein Değerleri	17
Şekil 2. Kontrol grubuna ait optik sinir dokusunda hematoksilen– eozin boyaması.	25
Şekil 3. Gruplara göre MPO u/g protein değerleri.....	18
Şekil 4. Sisplatin grubuna ait optik sinir dokusunda hematoksilen– eozin boyaması.	26
Şekil 5. Gruplara göre tGSHnmol/g protein değerleri	19
Şekil 6. Sisplatin grubuna ait optik sinir dokusunda hematoksilen– eozin boyaması.	27
Şekil 7. Gruplara göre SOD u/g protein değerleri	20
Şekil 8. Sisplatin + Cerebrolysin grubuna ait optik sinir dokusunda hematoksilen– eozin boyaması	28
Şekil 9. Gruplara göre TAS ($\mu\text{molTroloxEquiv/mg}$ protein) değerleri.....	21
Şekil 10. Gruplara göre TOS ($\text{nmolH}_2\text{O}_2/\text{mg}$ protein).....	22
Şekil 11. Gruplara göre oksidatif stres indeksleri.....	23

ÖZET

Cerebrolysinin Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Oksidatif Optik Sinir Hasarına Etkisi

Giriş ve amaç: Sisplatin erişkinlerde ve çocuklarda birçok malign hastalığın tedavisinde kullanılan platin türevi geniş spektrumlu antikanser bir ilaçtır. Sisplatinin hastalarda antikanser etki oluşturan dozları, sağlıklı doku ve organlar üzerinde toksik etki oluşturmaktadır. Sisplatin ilişkili önemli toksik etkilerden birinin optik nöropati olduğu ifade edilmektedir ve tedavinin sonlandırılmasına neden olmaktadır. Literetürlerde, sisplatin tedavisi esnasında, antioksidan azalmasına, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına ve hücre hasarı ile sonuçlanan lipidperoksidasyonuna (LPO) yol açmaktadır. Literetürlerden edinilen bilgiler, sisplatin ilişkili optik sinir hasarının tedavisinde antioksidan ve nörotrofik ilaçların yararlı olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda, sisplatine bağlı oksidatif optik sinir hasarına karşı koruyucu etkisini araştıracağımız cerebrolysin, domuz beyin dokusundan elde edilen düşük molekül ağırlıklı peptidler ve aminoasitlerin bir karışımı olup, potansiyel nöroprotektif ve nörotrofik özelliklere sahiptir. Nöroprotektif ve nörotrofik etkisini antioksidan aktivitesi ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır. Edinilen bu bilgiler cerebrolysininsisplatinle indüklenen oksidatif optik sinir hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır. Literetürlerde, cerebrolysininsisplatin ilişkili oksidatif optik sinir hasarına etkisini araştıran klinik ve prelinik çalışmalara rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmamızın amacı, cerebrolysinin sıçanlarda sisplatinle oluşturulan oksidatif optik sinir hasarına etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.

Materyal ve metod: Albino Wistar türü sıçanlar deney öncesi sağlıklı (SG), tek başına 2,5 mg/kg sisplatin verilen (CIS) ve 2,5 ml/kg cerebrolysin + 2,5 mg/kg sisplatin (CCG) uygulanan gruplara ayrıldı. CCG (n=10) hayvan grubuna 2,5 ml/kg dozda cerebrolysinin hazır solusyonunintrapertoneal (ip) yoldan enjekte edildi. CIS (n=10) ve SG (n=10) grubuna ise çözücü olarak distile su aynı hacimde ip yoldan sevk edildi. Cerebrolysin ve distile su uygulandıktan bir saat sonra CCG ve CIS hayvan gruplarına sisplatin 2,5 mg/kg dozda ip yoldan enjekte edildi. Sisplatin ve distile su belirtilen doz ve hacimde günde bir defa 14 gün boyunca aynı yöntemle uygulandı. Bu süre sonunda, yüksek doz (50 mg/kg) tiopental anestezisi ile öldürülen hayvanların optik sinir dokuları çıkartıldı. Daha sonra çıkarılan optik sinir dokularında malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), total glutatyon (tGSH), superoksiddismutaz (SOD), total antioksidan status (TAS) ve total oksidanstatus (TOS) düzeyleri ölçüldü. Dokular histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Biyokimyasal deney sonuçlarımız, sisplatin uygulanan CIS grubu hayvanların optik sinir dokusunda MDA, MPO ve TOS düzeylerinin sağlıklı ve cerebrolysin uygulanan grubuna göre anlamlı ($p<0,0001$) yüksek, tGSH, SOD ve TAS düzeylerinin ise anlamlı ($p<0,0001$) düşük olduğunu göstermiştir.

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

Anahtar Kelimeler: Sinir, Optik Sinir Hasarı, Cerebrolysin, Oksidatif Stres, Oksidan, Antioksidan

ABSTRACT

The Effect of Cerebrolysin on Cisplatin Induced Optic Nerve Injury in Rats

Background and aim: Cisplatin is a platinum derived, wide-spectrum anti-cancer drug which has been used in adult and child patients with various malignancies. Effective dose of cisplatin which has an anti-cancer effect in patients is also toxic to normal tissues. Optic neuropathy has been reported to be one of the most important toxic effects related to usage of the cisplatin and a known reason for cessation of the treatment. During the cisplatin treatment, reduced antioxidant levels and increased reactive oxygen radicals (ROR) along with intercellular damage due to lipid peroxidation were reported in the literature. According to data in the literature, antioxidants and neurotrophic agents may be useful in the treatment of cisplatin related optic neuropathy. In our study, we aim to research the protective effect of cerebrolysin which is mixture of amino acids and low molecular weight peptides extracted from swine brain on cisplatin related oxidative optic nerve injury owing to its potential neuroprotective and neurotrophic properties. There are studies in the literature that associate its neuroprotective and neurotrophic effects with antioxidant potency. On the brink of these findings, cerebrolysin may be helpful in the treatment of cisplatin induced oxidative optic nerve injury. To our knowledge, there is no clinic and preclinic research has been conducted in the literature concerning the effect of cerebrolysin on the cisplatin induced oxidative optic nerve injury so far. We aim to investigate the histopathologic and biochemical effects of cerebrolysin in rats with oxidative optic nerve injury induced by cisplatin.

Materials and methods: Albino Wistar rats were divided into three groups as healthy (H), only cisplatin injected (2.5mg/kg) (CIS) and cisplatin plus cerebrolysin (2.5mg/kg and 2.5mL/kg respectively) injected (CCG). CCG (n=10) group received 2.5mL/kg dose of cerebrolysin solution preparation via intraperitoneal injection (IP). CIS (n=10) and H (n=10) groups received saline injection with the same dose and same route. One hour after the IP, CCG and CIS groups were further administered cisplatin with a dose of 2.5mg/kg via IP. Cisplatin and saline injections were repeated for 14 days with mentioned doses daily. After this period, all rats were killed using high dose of thiopental (50mg/kg) anesthesia and optic nerves were collected. Levels of malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), total glutathione (tGSH), superoxide dismutase (SOD) with total antioxidant status (TAS) and total oxidant status were measured in the specimens. Tissues also underwent histopathological examination.

Results: In biochemical analysis, MDA, MPO and TOS levels detected within the optic nerve tissue were significantly higher in CIS group compared to H and CCG groups ($p < 0,0001$) whereas tGSH, SOD and TAS levels were significantly lower in CIS group compared to H and CCG groups ($p < 0,0001$).

Conclusion: Our results imply that cerebrolysin may be helpful in the treatment of cisplatin induced oxidative optic nerve injury.

Keywords: Nerve, Optic Nerve Injury, Cerebrolysin, Oxidative Stress, Oxidant, Antioxidant

1. GİRİŞ

Sisplatin (cis-diklorodiaminplatin II), erişkinlerde ve çocuklarda birçok malign hastalığın tedavisinde kullanılan platin türevi geniş spektrumlu antikanser bir ilaçtır (1). Ancak, sisplatinin hastalarda istenilen düzeyde antikanser etki oluşturan dozları, sağlıklı doku ve organlar üzerinde toksik etki oluşturmaktadır ve tedavinin sonlandırılmasına neden olmaktadır (2). Literetürlerde, sisplatin tedavisinin kesilmesine veya istenilen dozlarda kullanılmasına engel olan önemli toksik etkilerden birinin optik nöropati olduğu ifade edilmektedir (3). Antikanser ilaca bağlı bu oküler nörotoksitelerin bazıları geri dönüşümsüzdür ve hatta körlüğe neden olabilmektedir (4). Hem uzun hem de kısa süreli sisplatin tedavisi antioksidan azaltılmasına, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına ve hücre lipidperoksidasyonuna (LPO) yol açmaktadır. Hücre LPO olayı oksidatif doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (5). Literetürlerden edinilen bilgiler, sisplatin ilişkili optik sinir hasarının patogenezinde ROS ile indüklenen oksidatif stresin majorkomponentlerden olduğunu işaret etmektedir. Bu da sisplatin ilişkili optik sinir hasarının tedavisinde antioksidan ve nörotrofik ilaçların yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, sisplatin ile oluşturulan oksidatif optik sinir hasarına karşı koruyucu etkisini araştıracağımız cerebrolysin, domuz beyin dokusundan elde edilen düşük molekül ağırlıklı peptidler ve aminoasitlerin bir karışımı olup, potansiyel nöroprotektif ve nörotrofik özelliklere sahiptir (6). Bu ilaç, Rusya, Çin ve diğer Asya ve Sovyet ülkelerinde nöroprotektif ve nörotrofik olarak akut iskemik inme sonucu gelişen sinir hücre hasarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (7). Cerebrolysin'in büyüme faktörü benzeri aktivitesinin olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, cerebrolysin'in nöroprotektif etkisinin yanı sıra sinir hücrelerin yenilenmesinde sağladığı belgelenmiştir (8). Literetürlerde, cerebrolysin'in nöroprotektif ve nörotrofik etki mekanizmasını tam açıklayan bilgiler rastlanmadı. Ancak, nöroprotektif ve nörotrofik etkisini antioksidan aktivitesi ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır. Abdel-Salam OME ve arkadaşları cerebrolysin'in ROS oluşumu ve LPO yuinhibe ederek nöron kaybını önlediğini bildirmişlerdir (9). Cerebrolysin'in ayrıca, travmatik optik sinir hasarının tedavisinde yararlı olduğu gösterilmiştir (10). Edinilen bu bilgiler cerebrolysin'in sisplatinle indüklenen oksidatif optik sinir hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini ortaya koymaktadır. Literetürlerde, sisplatinin optik

sinir dokusunda oksidatif hasar oluşturduğunu gösteren çok sayıda deneysel çalışmalar bulunmaktadır (11, 12). Ancak, cerebrolysinin sisiplatin ilişkili oksidatif optik sinir hasarına etkisini araştıran klinik ve preklinik çalışmalara rastlanmadı. Bu nedenle, çalışmamızın amacı, cerebrolysinin sıçanlarda sisplatinle oluşturulan oksidatif optik sinir hasarına etkisini biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Optik Sinir Anatomi ve Histolojisi

Optik sinir, retinada bulunan 1,2-1,5 milyon ganglion hücre aksonundan oluşur ve oksipital kortekse uzanır. Diğer kranial sinirlerden farklı olarak, optik sinir, beyin traktüsüne benzer. Optik sinirin yenilenme yeteneği yoktur (13- 15). Dört ayrı bölümü mevcuttur.

2.1.1. Göz İçi Bölüm (Optik Sinir Başı)

Retina ganglion hücre aksonlarının primer olarak birleşmesiyle oluşur. Üç tane nonnöronal hücre içerir: Astrositler, kapillerasosiyel hücreler ve fibroblastlar. Geçiş için major bölgeyi optik sinir başı oluşturur, çünkü bu bölgede sinir lifleri; (16, 17.). a) Daha yüksek intraoküler basıncın olduğu bir bölgeden, daha düşük basıncın olduğu, optik sinirin retro-orbitalsegmentine, geçerler. Retro-orbitalsegmentin basıncıyla intrakranial basınç eşittir. (16, 17). b) Santral retinal arterden kan akımı sağlarken posteriorsiliyer ve oftalmik arterin dallarından beslenmeye başlarlar. (16, 17). c) Laminakribozaya girişleri 90-derece dönüşle olur. (18, 19). d) Laminakribozanın girmeden miyelinli hale gelirler. Glial hücre ve bağ dokusu plaklarından oluşan laminakriboza, üzerinde optik sinir aksonlarının geçtiği 200-300 delik mevcuttur. Laminakribozanın fenestrasyonları sıkı bir bariyer oluşturarak basıncın daha yüksek olduğu intraoküler ortamla retrolaminar dokuları ayırır. Laminakribozanın yapısında oluşan değişiklikler nöronlara hasar verebilir. Ekstraselüler alan optik sinir başının toplam doku hacminden daha küçüktür. Sıvı koroidden optik sinir ekstraselüler alana veya vitreus ve serebrospinal sıvı arasında optik sinir başı üzerinden hareket edebilir. (16, 17).

Skleral kanalın büyüklüğüne ve optik sinirin gözü hangi açıyla terk ettiğine bağlı olarak optik sinir başının görünümü değişir. Artmış fizyolojik optik sinir başı çukuru büyüklüğüyle geniş skleral kanal orantılıdır. Küçük optik sinir başı çukuru, daha küçük skleral kanalla uyumludur. Optik sinir başının büyüklüğüyle retina ganglion hücre aksonları, foto reseptör, retina yüzey alanı arasında pozitif korelasyon mevcuttur (17).

2.1.2. Orbita İçi Bölüm (Kas Dokusu İçine Yerleşmiştir)

Gevşek yapıda ve 25 mm uzunluktadır. Böylelikle gerilim yaratmadan optik sinirin, her yöne gözün hareketine izin verir. Optik sinir tam olarak gerildiğinde gevşek yapı olması nedeniyle 9 mm proptozise olanak tanır. Sinir lifi demetlerinin çevresinde arteriol, venül ve kapiller damarlar içeren bağ dokusu septaları vardır. Santral retinal arterden başka, optik diskin bu kısmında, kapillerlerden daha büyük damar yoktur. Orbitaapeksinde optik sinirin laterelinde ve altında oftalmik arter uzanır. Okulomotor sinirin alt bölümü n. abduzens ve siliyerganglion optik sinirin lateralinde yer alır. (16).

2.1.3. Kanal İçi Bölüm (Optik Kanal İçine Yerleşmiştir)

Optik foramenden geçerek bu bölüm orbitayı terk eder, optik kanalın orbita apeksindeki ön açıklığı optik foramendir. 10 mm uzunluğundaki kanal sphenoid kemiğin küçük kanatları tarafından oluşturulur. Optik kanal posterior ve mediale 35 derece açıyla midsagittal planda uzanır. (16, 18).

2.1.4. Kafa İçi Bölüm (Optik Kiyazmada Sonlanır)

Sıkı bir dura kılıfının altından optik sinirin bu bölümü çıkar. Kanaldan çıktıktan sonra bir miktar yassılaştıran optik sinirler, posteriora, superiora ve mediale dönerek kiazmada birleşirler. Optik sinirin intrakranial uzunluğu 3 ve 16 mm arasında değişir. (17,19).

2.2. Optik Sinir Beslenmesi

Oftalmik arterin dalları optik sinirin büyük bölümü besler. İnternalkarotis arterin ilk majör dalı oftalmik arterdir. Oftalmik arter internalkarotis arterin kavernoöz sinüsten çıktığı yerden başlar. Optik kanal içerisinde, optik sinirin altında, sinirden dura kılıfı ile ayrılmış şekilde seyrederek. Oftalmik arter iki veya üç posteriorsiliyer arter dalını ve santral retinal arter dalını orbita içinde verir. Optik siniri globunun 12 mm gerisinde santral retinal arter deler ve daha sonra optik sinir içerisinde seyrederek. (16,17). Santral retinal arter dallarıyla optik sinir başı beslenir. Laminakribozanın beslenmesi kısa posteriorsiliyer arterlerden veya Zinn-Haller halkasından olur. Peripapiller ve kısa posteriorsiliyer arterlerle prelaminar bölge beslenir. Laminar beslenme ise direkt kısa posterior siliyer arterlerden veya Zinn-Haller halkasından

olur. Sklera içerisinde bu halka yer alır ve optik siniri nöro-oküler bileşkede çevreler. Halkanın kanlanması sayıları dörtle sekiz arasında değişen posteriorsiliyer arterlerden, koroideal besleyici arterlerden ve perinöral, pialarteryal ağdan olur. Santral retinal venöz sistem tarafından optik sinir başının venöz drenajı sağlanır. (16, 17). Posterior siliyer arterler yoluyla optik sinirin orbital kısmının kan akımı pial ağdan olur. Kan akımına santral retinal arter dalları da katkıda bulunur. Orbital apeksteeksternal karotis arterin kollateral dolaşimleri, orta meningeal arter yoluyla optik sinir kan akımına katkıda bulunur. Önden oftalmik arterin kollateral dalları ile arkadan internal karotis arterden köken alan pial damarlar ve superior hipofizyal arterler ile intrakanaliküler kısmın kan akımı olur. İnternalkarotis arter, superior hipofizyal arter, anterior serebral arterin A1 bölümü ve anterior komünikan arter yoluyla Intrakranial kısmın beslenmesi olur. Optik sinirin kan damarlarında kan-beyin bariyeri vardır (16, 19).

2.3. Oksidatif Stres

Serbest oksijen radikaller (SOR) ve antioksidanlar canlı dokularda sürekli olarak kontrollü bir şekilde üretilir. Aşırı üretilen SOR' lar, endojenglutatyon (GSH), glutatyonperoksidaz (GPO), glutatyonreduktaz (GRx), glutatyon s transferaz (GST), süperoksiddismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve diğer antioksidan (A, C, E vitaminler) savunma sistemlerince doku bütünlüğünün ve fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesi için nötralize edilirler (20). Oksidanları nötralize etmede, antioksidanlar, yetersiz kalırsa oksidan/antioksidan arasındaki denge oksidanların lehine bozulur. Fizyolojik şartlarda oksidan /antioksidan denge antioksidanların üstünlüğüyle sürdürülür (21, 22). Oksidanların lehine dengenin bozulması doku hasarına yol açmaktadır bu da literatürde oksidatif stres olarak ifade edilir (23). Oksidan moleküllerinin hücre yapı taşları olan protein, lipit, karbonhidrat, nükleik asit ve enzimler üzerindeki reaksiyonlar sonucu Oksidatif doku hasarı oluşmaktadır (24). Oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olan Reaktif oksijen türleri başta mitekondriyum olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemireperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler (25, 27).

2.4. Serbest Radikaller

Eşleşmemiş elektronu dış yörüngelerinden birinde bulunan bileşiklerdir. Kısa ömürlüdür ve aşırı reaktiftirler. Normal bir metabolizmanın devamı olarak veya hücrede enerji üretimi için gerekli olan birçok reaksiyon tarafından serbest radikaller üretilmektedir. Başlıca 3 yolla serbest radikaller meydana geldiği kabul edilmektedir (28, 29).

-Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi. $X: Y \rightarrow X\cdot + Y\cdot$

- Normal bir molekülün bir elektronun kaybına uğraması. $A- e- \rightarrow A.+ e$

- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi. $A + e- \rightarrow A\cdot-$

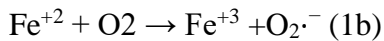
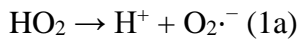
Üretilen bu radikaller membran lipitlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makro moleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açtığı ve hücrel hasar meydana getirdiği iyi bilinmektedir.

2.5. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Atmosferde bulunan oksijen, moleküler oksijen (O_2) veya dioksijen olarak adlandırılır. Normal oksijenin az bir kısmı başlıca mitekondri olmak üzere hücrel kompartımanlardaki metabolizma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşür. Başlıca reaktif oksijen türleri Süperoksit radikali (O_2^-), Hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve Hidrojen peroksit (H_2O_2) 'dir. Bunlardan ilk ikisi serbest radikal olup hidrojen peroksit ise prooksidan'dır (30-32).

2.5.1. Süperoksit Radikalleri (O_2^-)

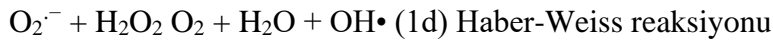
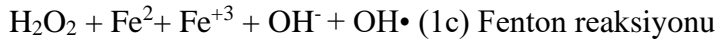
Aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2^-) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşurlar. Özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında ve ksantinoksidaz gibi flavo enzimlerce endojen olarak oluşturulur (1a).



Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (1b) (33- 37).

2.5.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Serbest radikal olmadığı halde ROS kapsamına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Hücresel kompartımanlarda bulunan ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim iki elektronun oksijene transferi ile direk olarak hidrojen peroksit oluşturulur. Fe⁺² veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve süperoksit radikalının (O₂⁻) varlığında (Haber-Weissreaksiyonu) en güçlü radikal olan hidroksil radikalini (OH•) oluşturur (35-40).



Hidrojen peroksit, süperoksit radikalinden farklı olarak yağda çözünür olduğundan oluştuğu yerden uzakta olan ve Fe⁺² içeren hücresel membranlarda da hasar oluşturabilir.

2.5.3. Hidroksil Radikalleri (OH•)

Son derece reaktif radikallerdir, yarılanma ömrü 9-10 saniye olup oldukça kısadır ve ROS'ların en güçlüsüdürler (32). Hidroksil radikali, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (1c ve d). Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluşturur ve sonuçta hücrede hasara neden olur (34, 41).

2.6. Antioksidanlar

Biyolojik sistemlerde genel olarak serbest radikallerin daha özellikli bir alt grup olarak ise ROS'un hücresel yapılara vereceği hasarı engellemek için antioksidan sistemler veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan savunma mekanizmaları mevcuttur. Endojen (antioksidan enzimler vb.) ve eksojen (vitaminler vb.) olmak üzere iki grupta sınıflandırılır (42).

2.6.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

a) Oksijeni ortamdan uzaklaştırır veya lokal olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltırlar

b) Katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırırlar

c) Süperoksit veya hidrojen peroksit gibi anahtar role sahip ROS'u ortamdaki uzaklaştırır veya daha zayıf moleküllere çevirirler.

d) Serbest radikal hasarına yol açan zincirleme reaksiyonların başlamasını engellerler.

e) Serbest radikallere bağlı oluşan hasarı onarıcı etkiler gösterirler.

Eksojen ve endojen antioksidan türleri ve etki mekanizmaları Tablo 1.1 ve 2.1 gösterilmiştir (43).

Tablo 2.1. Eksojen Antioksidanlar

Antioksidan	Etki mekanizması
Askorbik asit	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
B-Karoten	Yağda çözünür radikaller ile singlet oksijeni temizler
Vitamin E	Yağda çözünür, zincir kırıcı etki gösterir

Tablo 2.2. Endojen Antioksidanlar

Enzim olmayanlar	
Albümin	Bakır ve hem grubu bağlar, HOCl'u ortamdaki temizler
Seruloplazmin	Bakır iyonlarını bağlar, H ₂ O ₂ 'i kullanarak bakırın reoksidasyonunu sağlar
Transferrin	Ferrik haldeki demiryonlarını (Fe ⁺³) bağlar
Laktoferrin	Ferrik haldeki demir iyonlarını (Fe ⁺³) düşük pH değerlerinde bağlar
Haptogloblin	Hemoglobini bağlar
Hemopeksin	Hem grubunu bağlar
Bilirübin	Peroksil radikallerini temizler
Glikoz	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler

Ürat	Radikalleri temizler ve metalleri bağlar
Melatonin	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
Mukus	Hidroksil radikallerini (OH•) temizler
Enzim yapıda olanlar	
Süperoksitdismutaz (SOD)	Süperoksit radikalini temizler ($O_2^{\cdot-}$) $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksiti (yüksek konsantrasyonda ise) ortamdaki uzaklaştırır $2H_2O_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
Glutasyonperoksidaz (GPx)	Hidrojen peroksiti (düşük konsantrasyonda ise) ortamdaki uzaklaştırır $H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
Sitokromoksidaz	Oksijenin suya indirgenmesi sırasında aktif oksijenin ortama salınımını engelleyerek ROS (H_2O_2 , OH•, $O_2^{\cdot-}$) oluşumunu engeller.

2.7. Oksidatif Stresin Hüresel Yapılar Üzerine Etkileri

Hücre içerisinde reaktif oksijen türlerinin yukarıda sayılan nedenlere bağlı olarak artışı veya antioksidanların patolojik nedenler sonucunda azalmasına bağlı olarak oksidatif denge bozulur (44). ROS miktarındaki bu artış sonuçta hücre membranlarında hasar, hücre içi proteinlerin yapı ve fonksiyonlarında bozulma ve DNA'da yapısal hasar meydana getirerek hücre zedelenmesine yol açar.

2.8. ANTİKANSER İLAÇLAR

Antikanser, kemoterapi ilaçları 3 durumda uygulanmaktadır: 1. Lokal veya sistemik kemosensitif tümörlerin primer tedavisi, 2. Primer tümörün çıkarılmasından sonra metastaza yönelik genellikle palyatif amaçla adjuvan tedavi 3. Cerrahi gibi başka yollarla eradikasyon olasılığını arttırmak için primer tümörün boyutunu azaltmak amacıyla neo-adjuvan tedavi (45). Kanser için ilaç tedavisinin evrimi, alkilleyici ajanlardan ve antimetabolitlerden doğal ürünlere ve son zamanlarda moleküler hedefli ilaçlara hızla ilerlemiştir. Buna yönelik sitotoksik ilaçlar aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir. 1. Alkilleyici ajanlar- mekloretemin, klorambusil, melfalan, siklofosamid busulfan, prokarbazin. 2. Tubulin bağlayıcı maddeler- vinkristin,

vinblastin, etoposide, paklitaksel. 3. Antrasiklin antibiyotikler- doksorubisin, mitoksantron, idarubisin, epirubisin. 4. Diğer antitümör antibiyotikler- plikamisin, aktinomisin D, bleomisin. 5. Platin analogları- sisplatin, karboplatin. 6. Antimetabolitler- metotreksat, sitozin, arabinosid, 5-fluorourasil. 7. L-asparaginaz, hidroksiüre

Kemoterapi ilaçlarının birçoğu, hücre döngüsüne bağımlıdır ve yüksek bir büyüme fraksiyonu olan tümörlere karşı daha etkili olmaktadır. Bazı ilaçlar, tek bir ilaç maruziyetiyle sınırlı sayıda hücre öldürerek faza özgüdür, bazıları ise hücre döngüsünden bağımsızdır (45). Platin analogları arasında sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin, kanser kemoterapisinin de yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (46).

2.8.1 Sisplatin

Sisplatin Peyrone tarafından 1845 yılında sentezlenmiş ve daha sonraları deneysel ortamlarda en aktif platinyum bileşiğinin sisplatin olduğu ortaya konulmasıyla beraber 1970'li yılların başlarında kemoterapötik molekül olarak kullanılmaya başlanmıştır. Sisplatin (cis-diamminedchloroplatinum II) çok çeşitli neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılan, güçlü alkilleyici olan bir antineoplastik ilaçtır. Sisplatin baş boyun lokasyonu squamöz hücreli kanserleri, testis, over, serviks, mesane ve akciğer kanseri benzeri yumuşak doku neoplazmlarının tedavisinde kullanılan oldukça etkili bir antineoplastik moleküldür. Sisplatinin içerdiği platinyum atomları pürin bazlarının N7 pozisyonundaki DNA ile kovalent bağ oluşturarak, tümör hücrelerinde apoptozisiagreveder. Apoptozisin iyice artmasıyla beraber tümör hücresinde daha sonra nekroz oluşur ve sisplatinin bu yolla antineoplastik etkisi oluşur (47, 48). Sisplatinin, öncelikle böbrekler tarafından eline edilir. Vücuda verilen sisplatinin yarısı idrardan serbest şekilde ilk 24 saatte elimine edilir. Sonrasında sisplatin plazma proteinlerine bağlanarak hızlı bir şekilde dokularda birikir. Diğer organlarla kıyasladığımızda böbrek daha fazla oranda sisplatin birikir. (49). Bu grup ilaçları incelerken önemli durumlardan biri de ilaç toksisitesi olmasının en önemli nedenidir (50). Sisplatinin ototoksisite, nefrotoksisite, gastrointestinal toksisite, myelotoksisite ve periferik nöropati gibi ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Özellikle nefrotoksisite ve ototoksisite doz sınırlayıcı majör yan etkileridir (51). Sisplatinin neden olduğu toksik etkilerin altında yatan mekanizmalar

tam olarak aydınlatılamamış olsa da devam eden deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre; sisplatinin etki mekanizması dört ana adımda incelenebilir:

- i. Hücreye giriş,
- ii. Sisplatinin aktivasyonu ile toksik metabolitlerine dönüşümü
- iii. DNA hasarı iv. Apoptoz indüksiyonu (52).

İlacın hücre çekirdeğine alınmasını takiben oluşan platin-DNA katımı, bu ilaçların sitotoksitesine aracılık eden çeşitli hücresel süreçleri aktive etmektedir (53). Sisplatinin ototoksik etkisi irreversible, bilateral, progresif, yüksek frekanslardaki sensorinöral işitme kaybı ve tinnitus ile karakterizedir. Bu ototoksite insidansını veriliş yolu, yaş, diyet faktörleri, genetik faktörler, serum protein düzeyleri, kranial radyoterapi hikayesi gibi faktörler etkilemektedir (47, 54, 55). Tinnitus genellikle geçicidir ancak nadiren kalıcı da olabilir. Sisplatin tedavisi alan hastaların %2-3,6'sında tinnitus görülürken, sensorinöral işitme kaybı hastaların %93'ünde görülmektedir (57, 58). Sisplatin ototoksitesinin mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir. Yapılan bazı çalışmalarda sisplatinden en çok etkilenen yerlerin dış tüylü hücreler ve striavaskülaris olduğunu ileri sürülmüştür (54). Posteriorsegment lezyonları oluşabilecek belirgin görme kaybı nedeniyle önemlidir. Retinopatiye ikincil görme kaybı, sisplatin kullanımı ile ortaya çıkar (59-62). Görme kaybı iki taraflı olabilir ve geri alınamaz olabilir ve görme alanları bilateral santral skotomları gösterir (60). Sisplatin ve etoposidinretinotoksitesini belgelemek için görsel uyarılmış tepki ve elektoretinogram kullanılmıştır (61). Elektoretinogram belirgin bir şekilde azalmış bir dalga genliği ve olmayan b dalgaları gösterdi (60).

2.9. Cerebrolysin

Cerebrolysin endojen nörotrofik faktörlerine benzer farmakodinamik özelliklere sahip paranteral olarak uygulanan domuz beyninden saflaştırılmış peptit karışımıdır (63). Nörotrofik faktörler demans, felç ve travmatik beyin hasarı gibi nörolojik bozukluklar için terapötik stratejinin bir parçası olarak kabul edilir. Cerebrolysin endojen nörotrofik faktörlerin beyin korunması ve onarımı üzerindeki etkisini taklit eden bir nöropeptit bir preparattır (7). Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) dâhil olmak üzere çeşitli aktif peptid fragmanlarının ve nörotrofik

faktörlerin bir karışımı olan cerebrolizin (CBL) şu anda demans hastalarında bilişsel değişikliklerin tedavisinde kullanılmaktadır (64). Cerebrolysin, nörotrofik faktörlerin etkisini taklit eden bir peptid preparatıdır ve nörodejeneratif hastalıklar ve inme üzerinde olumlu etkileri vardır (65). İlaç, alzheimer hastalarında bilişsel performansı artırır; bu da otoimmün aktivasyonu durdurma ve / veya gelişmiş nörojenez ile ilişkili olabilir (66, 67). Cerebrolysin, demans ve inme sekanslarının tedavisi için uzun zamandır kullanılmış olan saflaştırılmış domuz beyin proteinlerinden elde edilen bazı önemli nörotrofik faktörlerin aktif fragmanlarını içeren klinik kullanım için mevcut tek ilaçtır. Cerebrolysinin büyüme faktörü benzeri aktiviteleri vardır ve nöronal sağkalım ve ağlanmayı teşvik eder, ancak moleküler mekanizmasının hala belirlenmesi gerekir (8). Cerebrolysin, bu ilacın doza bağlı olarak antioksidan etkisini gösterebilir. İlacın, lipit peroksidasyonunu inhibe etme ve burada bildirildiği gibi sonuçta ortaya çıkan TBAR'ları üretme yeteneği, nöronal (hem de kalp) dokuyu serbest radikal hasarından koruma yeteneğini yansıtabilir (68). Cerebrolysin uygulaması, glutamat maruziyetinden sonra apoptotik nöronların sayısını önemli ölçüde azaltır. Ayrıca, cerebrolysinin serbest radikal oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Günümüzde, cerebrolysin, lezyon sonrası beyinde önceden bildirilen dört nörobiyolojik sürecin tümünü aynı anda düzenleyebilecek kapasiteye sahip olan, pleiotropik nöroprotektif etkileri olan multimodal bir ilaçtır (8). Farmakolojik multimodal etki, acil akut nöroproteksiyonu, uzun süreli onarıcı süreçlerle (nörotrofiklik, nöroplastisite, nörogenez) endojen lezyon sonrası düzenleme sekansına benzer şekilde bağlama yeteneğine dayanmaktadır (69).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvanlar

Deney hayvanları, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Deney için ağırlıkları 280-295 gram arasında değişen toplam 30 adet albino wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Hayvanların ortama adepte olabilmeleri için deneyden önce normal laboratuvar ortamında bir hafta 22C oda sıcaklığında barındırıldı ve beslendi. Çalışmamız Etik Kurallar ve Çalışma İlkeleri” ne özen gösterilmiştir. Çalışmamızın bütün aşamalarının etik kurallara uygun olduğu, “Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (AÜHADYEK)” tarafından verilen tarihli ve sayılı yazı ile onaylanmıştır.

Tablo 3.1. Cihazlar ve Ekipmanlar

-80 0C derin dondurucu	Sanyo
Santrifüj cihazı	Beckman
Vorteks (karıştırıcı)	VELP Scientifica
Mikroplateokuyucu spektrofometre	BioTek
+4 soğutucu buzdolabı	Ariston
1,5 mL’likependorf tüpler	Isolab
Pipetler (2-20, 20-200, 100-1000 µL)	Ependorf
Homojenatör	IKA
Hassas terazi	KERN
Manyetik karıştırıcı	SCIOLOGEX
Saf su cihazı	NTS

96'lık mikroplate	TermoFisherScientific
-------------------	-----------------------

Tablo 3.2. Kimyasallar

TAS analiz kiti	RelAssayDiagnostic
TOS analiz kiti	RelAssayDiagnostic
Nitrobluetetrazolium	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
Glutasyonredüktaz (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
Sisplatin (flakon)	EbeweLiba
Cerebrolysin (ampul)	EVER Pharma

3.2. Deney Grupları

Hayvanlar deney öncesi sağlıklı (SG), tek başına 2,5 mg/kg sisplatin verilen (CIS) ve 2,5 ml/kg cerebrolysin + 2,5 mg/kg sisplatin (CCG) uygulanan gruplara ayrıldı.

3.2.1. Deney Prosedürü

Deneyin gerçekleştirilmesi için, CCG (n=10) hayvan grubuna 2.5 ml/kg dozda cerebrolysin hazır solusyonu intraperitoneal (ip) yoldan enjekte edildi. CIS (n=10) ve SG (n=10) grubuna ise çözücü olarak distile su aynı hacimde ip yoldan sevk edildi. Cerebrolysin ve distile su uygulandıktan bir saat sonra CCG ve CIS hayvan gruplarına sisplatin 2.5 mg/kg dozda ip yoldan enjekte edildi. Sisplatinin 2.5 mg/kg dozunun optik sinirde hasar oluşturduğu bundan önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (11,12). Cerebrolysin, sisplatin ve distile su belirtilen doz ve hacimde günde bir defa 14 gün boyunca aynı yöntemler uygulandı. Literatürlerde sisplatin toksisitesine karşı koruyucu etkisi araştırılan ilaçlar genelde deney hayvanlarına sisplatinden bir saat önce verilmektedir (70). Bu süre sonunda, hayvanlar yüksek doz (50 mg/kg) thiopental anestezisi ile öldürüldü ve optik sinir dokuları çıkartıldı. Çıkarılan gözün optik sinir dokusunda malondialdehid (MDA), myeloperoksidaz (MPO), total glutatyon (tGSH), superoksiddismutaz (SOD) total antioksidan (TAS) ve oksidan status (TOS) düzeyleri ölçüldü ve dokular histopatolojik olarak incelendi. CCG ve SG hayvan gruplarının optik sinir dokusundan elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik sonuçlar CIS grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. Optik Sinir Dokusunun Biyokimyasal Analizi

Optik sinir dokularındaki tGSH ve MDA ölçümü için ilk etapta bu dokulardan homojenatlar hazırlandı. Hazırlanmış homojenatlardan elde edilen süpernatantlardatGSH ve MDA miktarları literatüre dayalı, uygun metotlar kullanılmak suretiyle saptandı.

3.3.2. Numunelerin Hazırlanması Aşaması

Hayvanlardan çıkarılan optik sinir dokusundan 0,2 gr tartıldı. Sırasıyla MPO tayini için %0,5'lik HDTMAB (%0,5 hegzadesiltrimetil amonyum bromid) içeren pH=6 olan 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. Daha sonra +4 °C'de 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı.

3.3.3. MDA Miktar Tayini

Bilindiği gibi, MDA tayini yüksek sıcaklıkta (95°C'de) tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin absorbansının 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (71). Önceden hazırlanmış homojenatlar, 5000 g'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar, MDA miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Daha sonra, kapaklı deney tüpleri içerisine 250 µl homojenat, 100 µl %8 sodyum dodesil sülfat (SDS), 750 µl %20 asetik asit, 750 µl %0.08 TBA ve 150 µl saf su pipetlenerek vortekslendi. Elde edilen bu karışım 100°C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 2,5 ml n-bütanol ilave edildi ve spektrofotometrik olarak ölçümü yapıldı. Oluşan kırmızı renk miktarları 532 nm'de 3 ml'lik küvetler kullanılarak okundu. Daha sonra, seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan MDA stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanarak numunelerin MDA miktarı belirlendi.

3.3.4. MPO Aktivite Tayini

Optik sinir doku homojenatlarında MPO tayini için %0,5'lik HDTMAB (%0,5 hegzadesiltrimetil amonyum bromid) içeren pH=6 olan potasyum fosfat

tamponu hazırlandı. Daha sonra +4 °C'de 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı analiz numunesi olarak kullanıldı. MPO enziminin aktivitesinin belirlenmesinde, substrat olarak 4-amino anti pirin/fenol solüsyonunun yer aldığı MPO aracılı H₂O₂ ile yapılan oksidasyon reaksiyonu kullanılmıştır (72).

3.3.5. tGSH Miktar Tayini

tGSH analizi için Sedlak ve arkadaşlarını yöntemi kullanıldı (73). Yukarıda belirtildiği gibi, önceden hazırlanmış homojenatlar, 12000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar, GSH miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüpleri içerisine 1500 µl ölçüm tamponu (0,2 mM EDTA içeren 200 mMTris-HCl, pH=8.2 , 500 µl süpernatant, 100 µl 5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ve 7900 µlmetanol pipetlenerek vortekslendi. Karışım 37°C' de 30 dakika inkübasyona bırakıldı ve sonra spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Oluşan sarı renk miktarları 412 nm'de 3 ml'lik kuartz küvetler kullanılarak okundu ve seyreltme katsayıları dikkate alınarak önceden hazırlanan GSH stok çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart grafikten yararlanılarak numunelerin GSH miktarı belirlendi.

3.3.6. SOD Aktivite Tayini

Reaksiyon ortamına eklenen ksantinoksidaz enzimi aracılığıyla üretilen O₂⁻ radikallerinin reaksiyon ortamında bulunan nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesi ile meydana gelen mor renkli bir bileşik olan formazanınabsorbansının 560 nm dalga boyunda ölçülmesi esasındadır. İndirgenme reaksiyonunun şiddeti numunede bulunan Cu/Zn SOD enziminin aktivitesine bağlıdır. Ortamda ne kadar çok enzim bulunursa, NBT ile reaksiyona girecek O₂⁻ radikali o kadar az olur. Böylece formazan varlığıyla ortaya çıkan mor rengin şiddeti de o kadar azalır (74).

3.3.7. TOS ve TAS Ölçümü

Örneklerin TOS ve TAS düzeyleri, Erel tarafından geliştirilen otomatik ölçüm yöntemi ve ticari olarak temin edilebilen kitler (RelAssayDiagnostics, Türkiye) kullanılarak belirlendi. 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 hidrojenperoksit (H₂O₂) eşdeğer / L olarak ifade edilir. TOS yönteminde, örnekte bulunan oksidanlar demir iyonu-o-dianisidin kompleksini ferrik

iyona 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 $\mu\text{mol Trolox eşdeğeri} / \text{L}$ olarak ifade edildi. TOS'un TAS'a olan yüzdesi oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kullanılmıştır ve aşağıdaki formule göre hesaplanmıştır (75, 76).

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

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 akarsuyun 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 \pm standart sapma” ($\bar{x} \pm \text{SD}$) 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

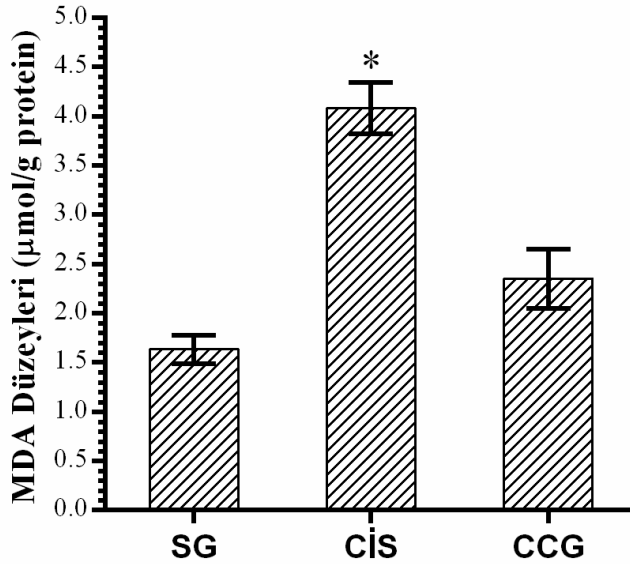
4.1. Biyokimyasal Bulgular

4.1.1. MDA Miktar Analiz Sonuçları

Şekil 1'den anlaşılacağı gibi, sisplatin optik sinir dokusunda MDA miktarını sağlıklı ve cerebrolysin uygulanan gruba göre anlamlı ($p < 0.0001$) artırmıştır. Sağlıklı hayvan grubunun optik sinir dokusunda MDA miktarı 1.60 ± 0.36 $\mu\text{mol/g}$ protein olurken, sisplatin ve cerebrolysin grubunda MDA miktarı sırası ile 4.10 ± 0.64 ve 2.30 ± 0.73 $\mu\text{mol/g}$ protein olmuştur. Ayrıca, sağlıklı grup ile cerebrolysin grubundaki MDA miktar farkı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunmuştur.

Tablo 4.1. Optik Sinir Dokusunda MDA $\mu\text{mol/g}$ Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X} \pm Ss$	p
MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	SG	10	1.60 ± 0.36	<0.0001
	CİS	10	4.10 ± 0.64	
	CCG	10	2.30 ± 0.73	



Şekil 1. Optik Sinir Dokusunda Gruplara Göre MDA $\mu\text{mol/g}$ Protein Değerleri

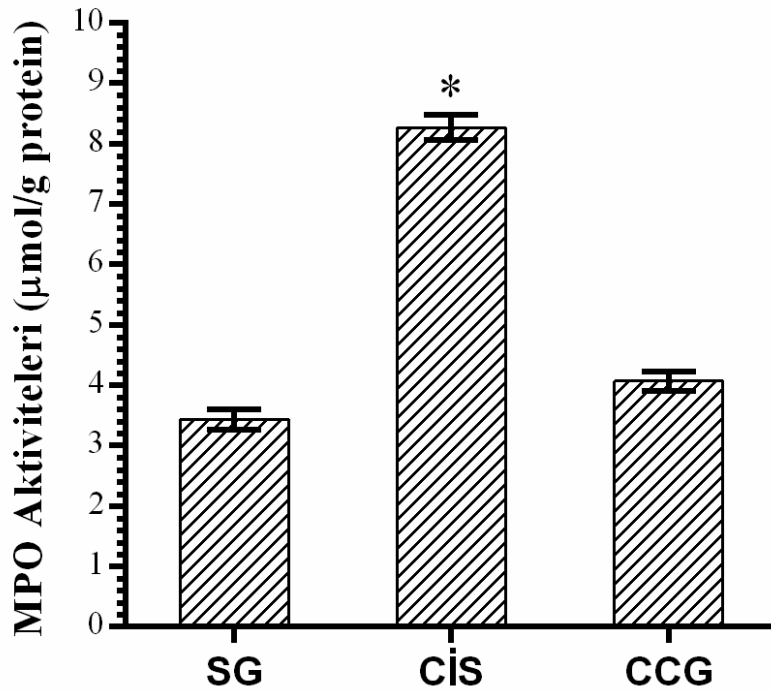
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p < 0.0001$, (n=10))

4.1.2. MOP Aktivite Analiz Sonuçları

Şekil 2’den görüldüğü gibi, sisplatin hayvanların optik sinir dokusunda MPO ativitesinide sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) yükseltmiştir. Sağlıklı hayvanların optik sinir dokusunda MPO aktivitesi 3.40 ± 0.35 u/g protein iken. sisplatin grubunda MPO aktivitesi 8.30 ± 0.25 u/g proteine yükselmiş. cerebrolysin grubunda ise MPO aktivitesi 4.00 ± 0.20 u/g proteine gerilemiştir. Sağlıklı ve cerebrolysin grubunda da MPO aktivite arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) saptanmıştır.

Tablo 4.2. Optik Sinir Dokusunda MPO u/g Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p
MPO (u/g Protein)	SG	10	3.40 ± 0.35	<0.0001
	CİS	10	8.30 ± 0.25	
	CCG	10	4.00 ± 0.20	



Şekil 2. Optik Sinir Dokusunda Gruplara Göre MPO u/g Protein Değerleri

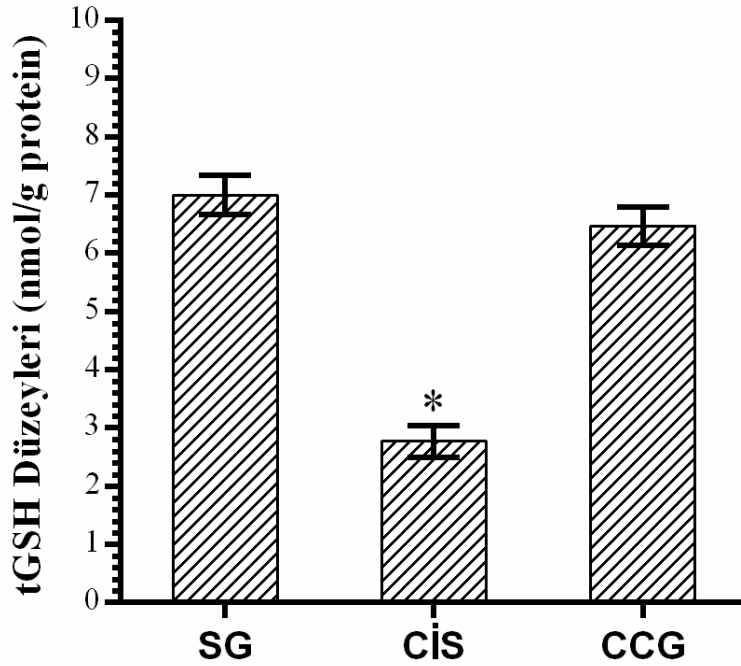
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0,0001$. (n=10))

4.1.3. tGSH Sonuçları

Sisplatin hayvanların optik sinir dokusunda endojen antioksidan bir parametre olan tGSH miktarının sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0,0001$) artmasına neden olmuştur. Sağlıklı hayvanların optik sinir dokusunda tGSH miktarı 7.00 ± 0.45 nmol/gr protein olarak ölçülmüştür. Sisplatin grubunda tGSH miktarı 2.70 ± 0.30 nmol/gr proteine gerilerken, cerebrolysin tGSH miktarının 6.40 ± 0.30 nmol/gr protein seviyelerinde kalmasını sağlamıştır. Sağlıklı ve cerebrolysin grubunda tGSH miktar farkı anlamsız olarak hesaplanmıştır (Şekil3).

Tablo 4.3. Optik Sinir Dokusunda tGSH nmol/gr Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p
tGSH (nmol/gr Protein)	SG	10	7.00 ± 0.45	<0.0001
	CİS	10	2.70 ± 0.30	
	CCG	10	6.40 ± 0.30	



Şekil 3. Optik Sinir Dokusunda Gruplara Göre tGSHnmol/g Protein Değerleri

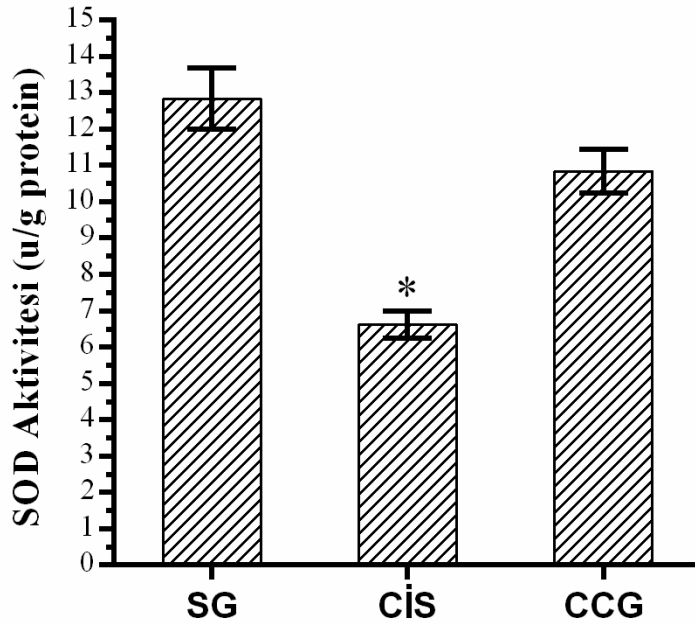
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.4. SOD Sonuçları

Sisplatinin ayrıca, hayvanların optik sinir dokusunda SOD aktivitesinde sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) baskıladığı anlaşılmıştır. Sağlıklı grubunda SOD aktivitesi 12.80 ± 0.80 u/g protein olarak ölçülürken, sisplatin grubunda SOD aktivitesi 6.60 ± 0.40 u/g protein olarak azaldığı görülmüştür. Ancak, cerebrolysin SOD aktivitesinin 10.80 ± 0.60 u/g protein düzeylerinde korunmasını sağlamıştır. Sağlıklı grup ile cerebrolysin grubu arasındaki SOD farkı anlamsız ($p<0.0001$) olarak değerlendirilmiştir (Şekil4).

Tablo 4.4. Optik Sinir Dokusunda SOD u/g Protein Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p
SOD (u/g Protein)	SG	10	12.80 ± 0.80	<0.0001
	CİS	10	6.60 ± 0.40	
	CCG	10	10.80 ± 0.60	



Şekil 4. Optik Sinir Dokusunda Gruplara Göre SOD u/g Protein Değerleri

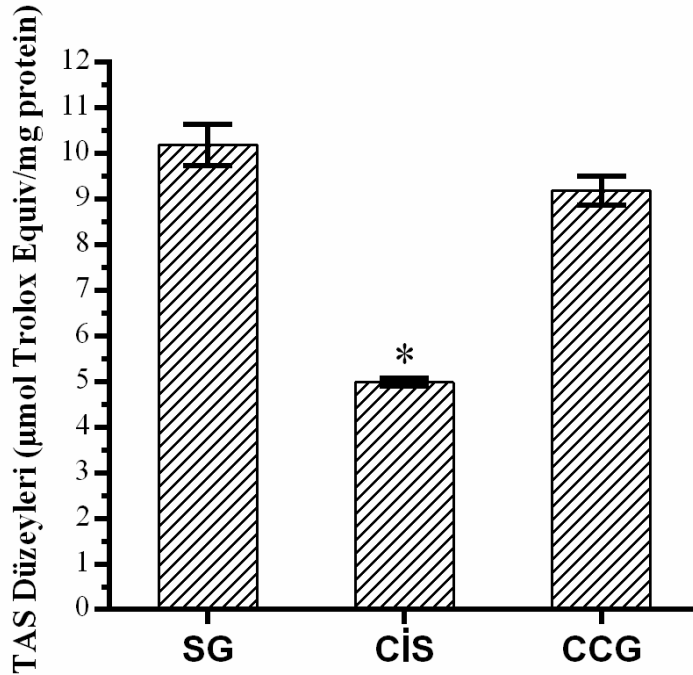
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.5. TAS Sonuçları

Sisplatin hayvanların optik sinir dokusunda TAS düzeyinde azalmasına neden olmuştur. Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda TAS düzeyleri sırası ile 10.10 ± 0.40 ; 4.90 ± 0.19 ve $9,20 \pm 0.30$ $\mu\text{mol TroloxEquiv/mg}$ protein olarak hesaplandı. Sisplatin TAS düzeyini sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre belirgin ($p < 0.0001$) azaltmıştır. Ancak, cerebrolysin TAS insisplatinle azalmasını önlemiştir. Sağlıklı grup ile cerebrolysin grubu arasındaki TAS farkı birbirlerine çok yakın bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) hesaplanmıştır (Şekil 5).

Tablo 4.5. Optik Sinir Dokusunda TAS ($\mu\text{mol TroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X} \pm Ss$	p
TAS ($\mu\text{mol TroloxEquiv/mg}$ protein)	SG	10	10.10 ± 0.40	<0.0001
	CİS	10	4.90 ± 0.19	
	CCG	10	$9,20 \pm 0.30$	



Şekil 5. Optik Sinir Dokusunda Gruplara Göre TAS ($\mu\text{mol TroloxEquiv/mg}$ protein) Değerleri

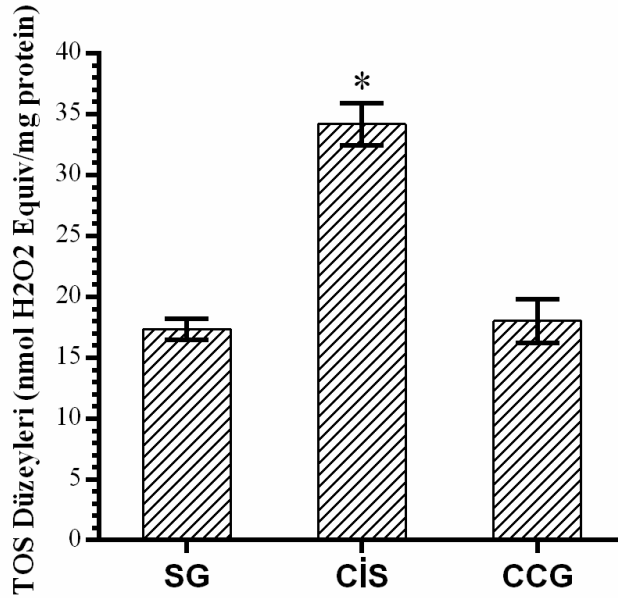
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p < 0.0001$, (n=10))

4.1.6. TOS Sonuçları

Sisplatinin TAS düzeyini azlatan bu dozunda, optik sinir dokusunda TOS düzeyini yükselttiği görülmüştür. Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda TOS değerleri sırası ile 17.30 ± 0.90 ; 34.10 ± 1.70 ve 18.00 ± 1.70 nmolH₂O₂/mg protein olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar. Sisplatin'in TOS düzeyini sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) artırdığını göstermektedir. İstatistiksel analiz sonuçları cerebrolysin TOS un sisplatinle artmasını anlamlı ($p<0.0001$) önlediğini gösterirken, sağlıklı ve cerebrolysin grubundaki TOS düzey farkının anlamsız ($p>0.05$) olduğunu göstermiştir (Şekil 6).

Tablo 4.6. Optik Sinir Dokusunda TOS (nmolH₂O₂/mg protein)

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p
TOS (nmolH ₂ O ₂ /mg protein)	SG	10	17.30 ± 0.90	<0.0001
	CİS	10	34.10 ± 1.70	
	CCG	10	18.00 ± 1.70	



Şekil 6. Gruplara Göre TOS (nmol H₂O₂/mg protein)

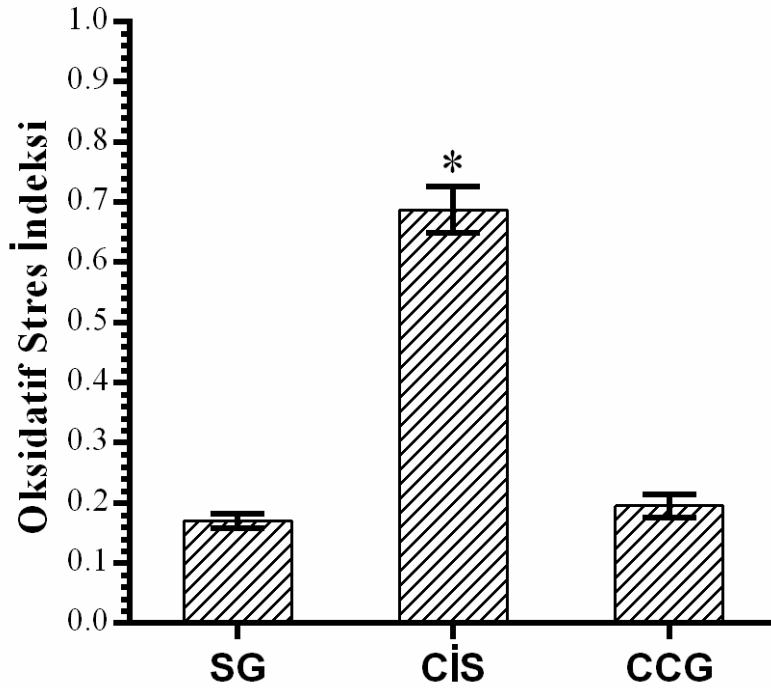
(CİS deney gurubu SG ve CCG gruplarıyla karşılaştırıldı * = $p<0.0001$, (n=10))

4.1.7. OSİ Sonuçları

Şekil 7’de sunulduğu gibi sisplatin OSİ değerini yükeltmiştir. Günümüzde TOS'un TAS'a olan yüzdesi oksidatif stres indeksi -OSİ olarak kullanılmaktadır. Sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubunda OSİ değerleri sırası ile 0.17 ± 0.01 ; 0.68 ± 0.03 ve 0.19 ± 0.02 olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz sonuçları sisplatinin OSİ değerini sağlıklı ve cerebrolysin grubuna göre anlamlı ($p<0.0001$) yükselttiğini göstermiştir. Ayrıca, sağlıklı grup ile cerebrolysin grubu arasındaki farkın anlamsız ($p>0.05$) olduğunu ortaya koymuştur.

Tablo 4.7. Optik Sinir Dokusunda Oksidatif Stres İndeksleri

Değişkenler	Grup	N	$\bar{X}\pm Ss$	p
OSİ	SG	10	0.17 ± 0.01	<0.0001
	CİS	10	0.68 ± 0.03	
	CCG	10	0.19 ± 0.02	

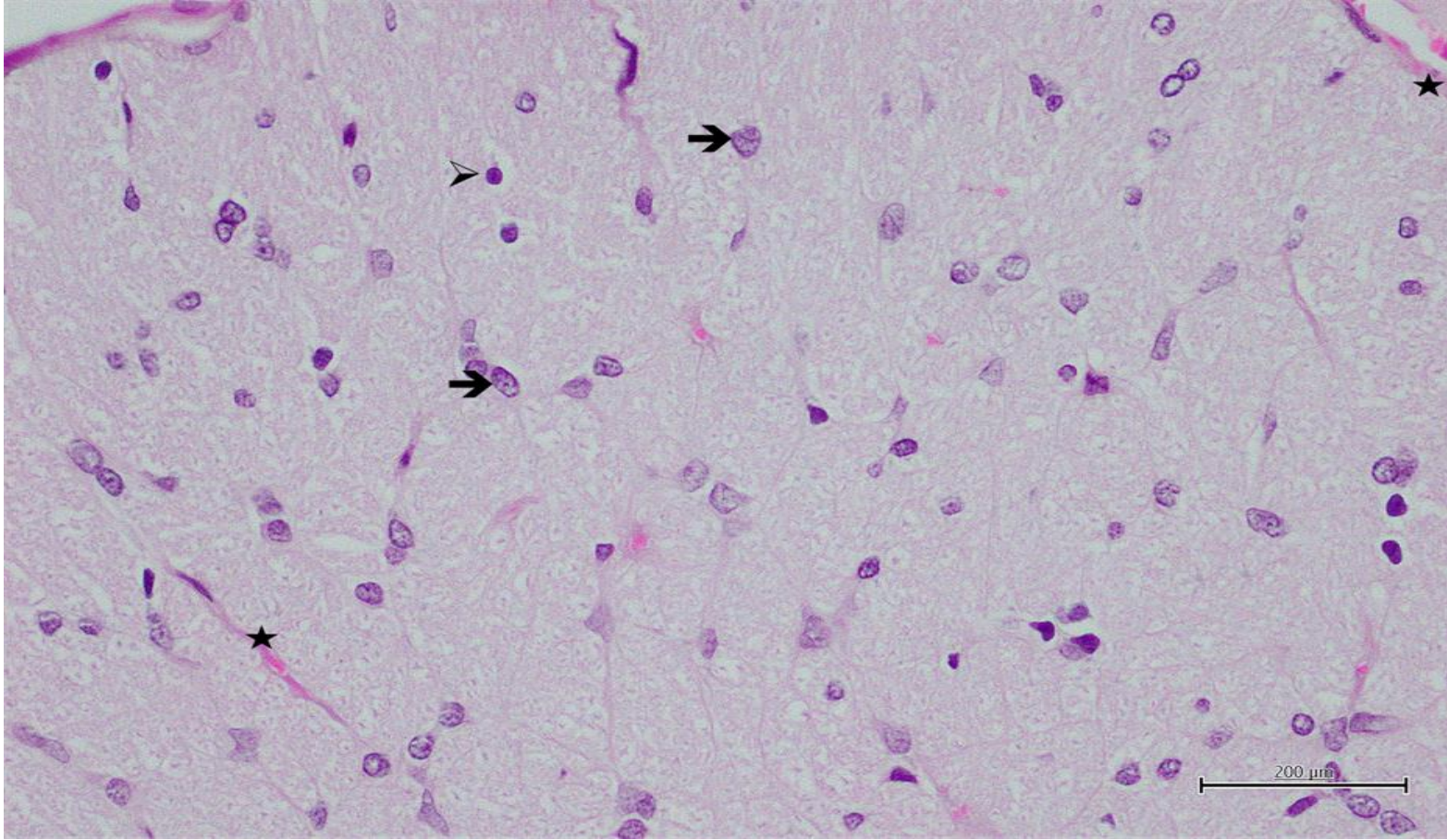


Şekil 7. Gruplara Göre Oksidatif Stres İndeksleri

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

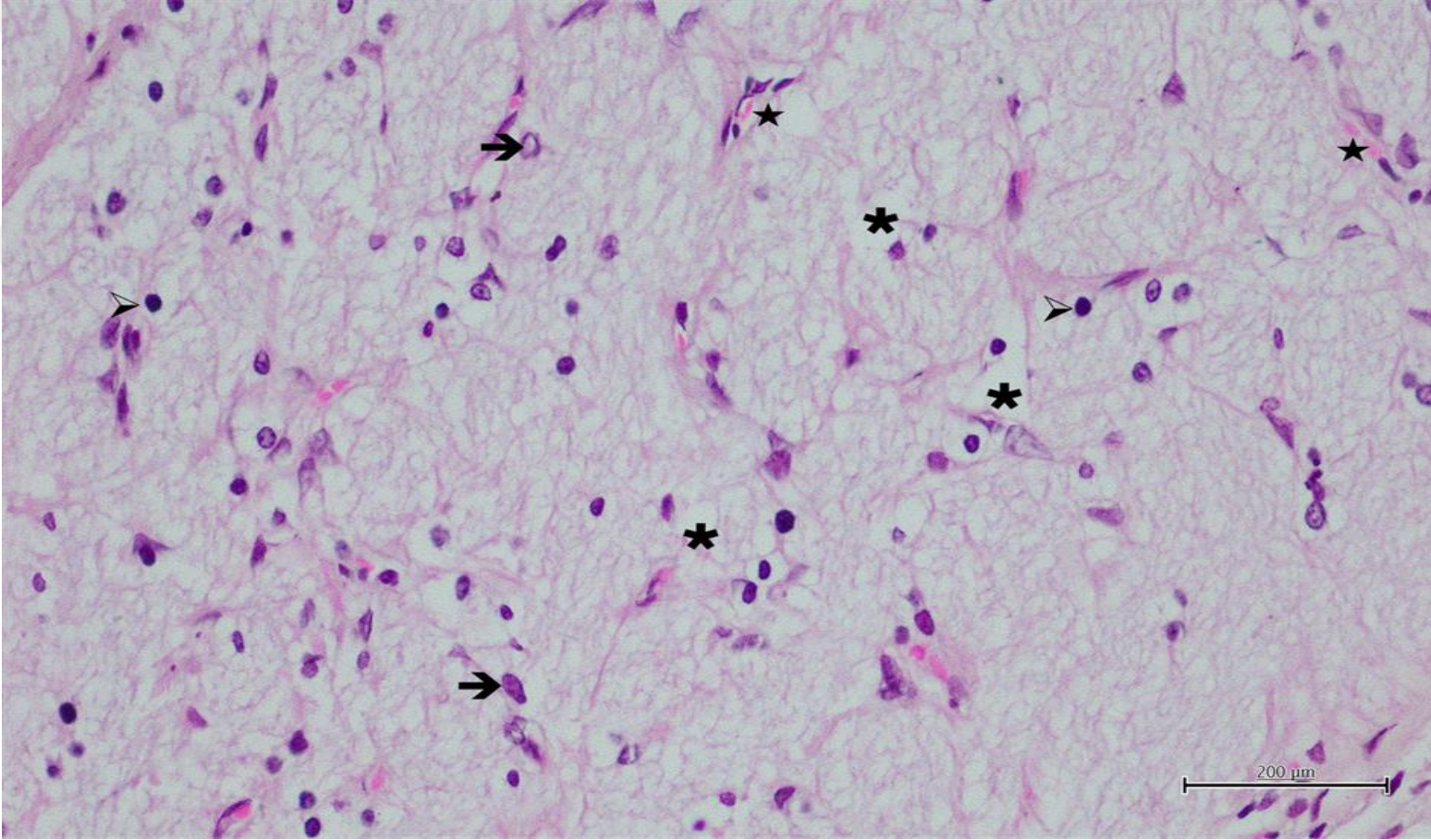
4.2. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirmede, kontrol grubuna ait optik sinir kesitlerinde, dokunun normal histolojik yapıya sahip olduğu belirlendi. Optik siniri çevrelemekte olan bağ doku kılıfının kalınlığı normaldi. Aksonlar ve aksonlara ait bağlantı birimlerinin oluşturduğu yapı içerisinde dağılmış biçimde glial hücrelerin varlığı gözlemlendi. Akson ve bağlantı birimlerinin bulunduğu bölgenin eozinofilik boyanma özelliği gösterdiği, astrositlerin açık bazofilik, oligodendrositlerin ise daha koyu bazofilir boyanma özelliği gösterdiği gözlemlendi. Astrosit çekirdeklerinin oval ve bağlantı birimlerinin uzun uzantılara sahip olduğu görüldü. Optik sinir dokusu kesitleri içerisinde nadiren kan kapillerlerinin varlığı dikkati çekti (şekil 8). Sisplatin grubuna ait kesitler incelendiğinde, çoğunlukla astrosit ve oligodendrosit çekirdeklerinin koyu boyandığı gözlemlendi. Yine astrositlerin çoğunluğunun hipertrofiye ve dejenere oldukları dikkati çekti (şekil 9). Bazı oligodendrositlerin de dejenere olduğu ilgiyi çekti. Kan kapillerlerinin hafif derecede dilate olduğu gözlemlendi. Bunun yanı sıra optik sinir dokusunun bu gruba ait kesitlerinde dokunun vakuolize ve ödemli olduğu belirlendi (şekil 10). Cerebrolysin + sisplatin uygulanmış gruba ait kesitler değerlendirildiğinde, astrosit ve oligodendrosit genel morfolojilerinin normal olduğu gözlemlendi. Kan kapillerleri normal görünümde iken dokunun ödemli yapısının önemli derecede azaldığı tespit edildi (şekil 11).



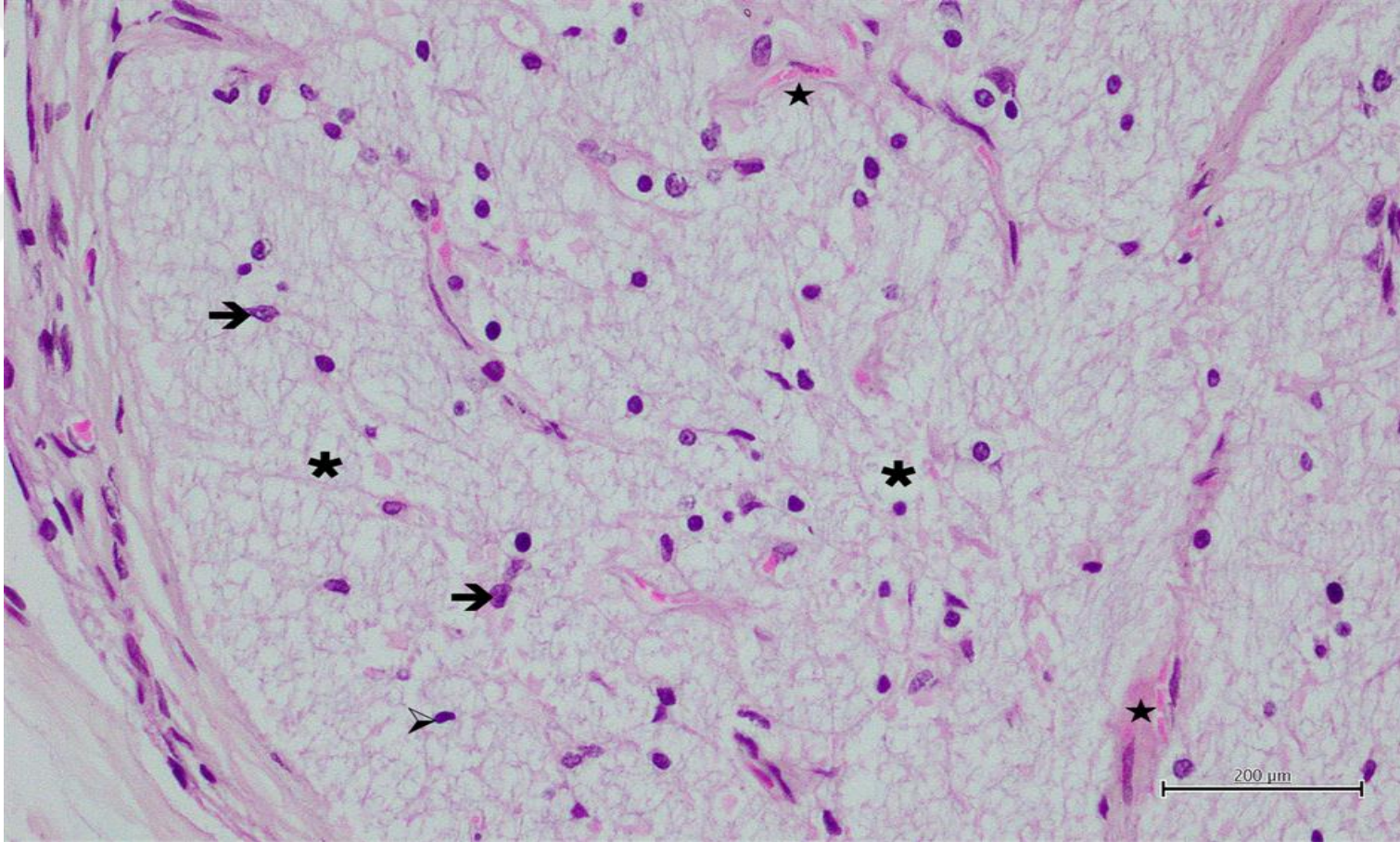
Şekil 8. Kontrol Grubuna Ait Optik Sinir Dokusunda Hematoksilen– eozin boyaması;

→: nöron, ➤: astrosit, ★: kankapilleri, ◆: endotelyalhücre, x200.



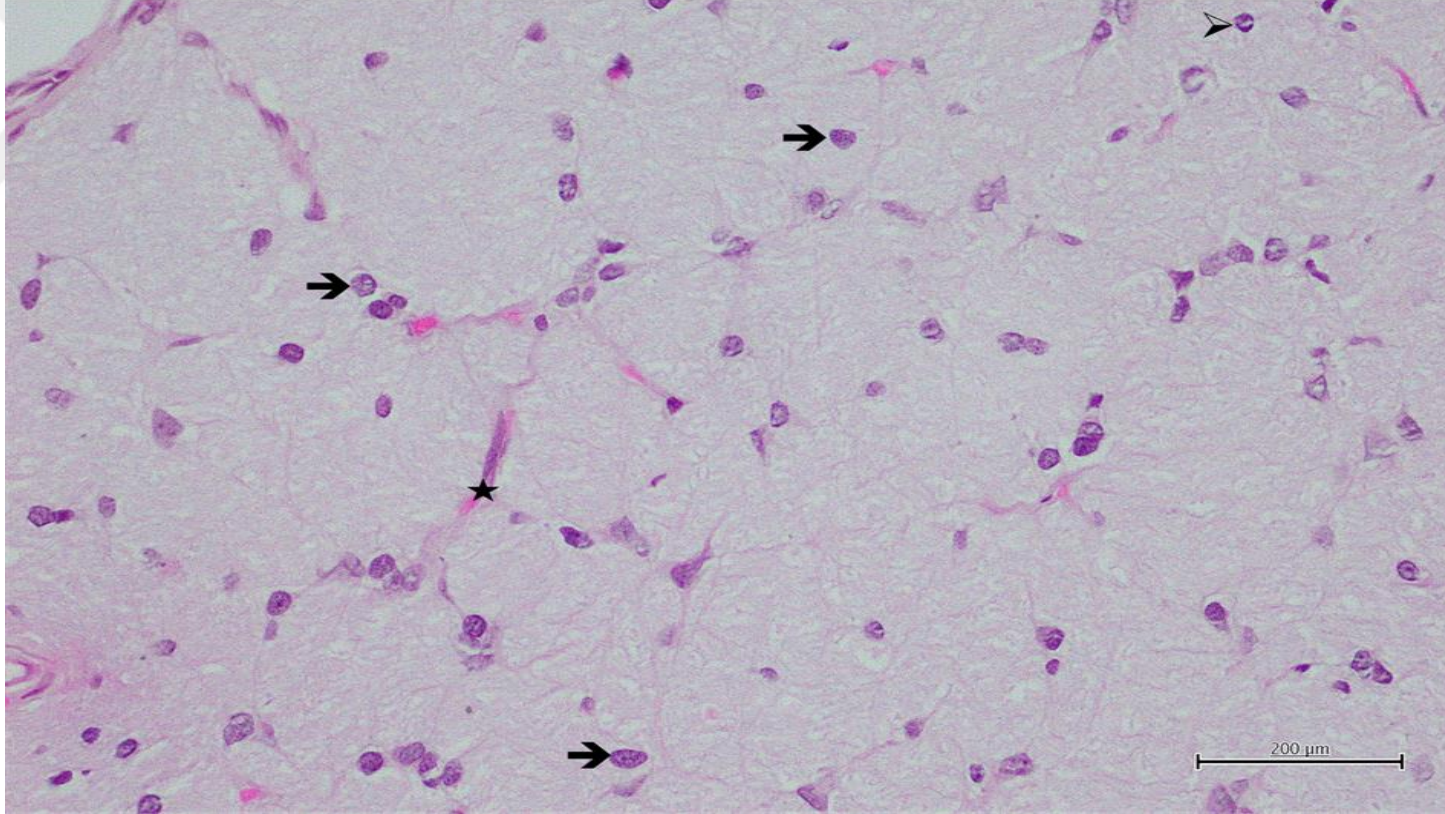
Şekil 9. Sisplatin Grubuna Ait Optik Sinir Dokusunda Hematoksilen– eozin boyaması;

➔: hipertrofiye ve dejenere olmuş astrosit, ➤: dejenere olmuş oligodendrosit, ★: hafif dilate kan kapillerleri, * : vakuolizasyon, x200.



Şekil 10. Sisplatin Grubuna Ait Optik Sinir Dokusunda Hematoksilen– eozin boyaması;

➔: hipertrofiye ve dejenere olmuş astrosit, ➤: dejenere olmuş oligodendrosit, ★: hafif dilate kan kapillerleri, ✱: vakuolizasyon, x200.



Şekil 11. Cerebrosin + Sisplatin Grubuna Ait Optik Sinir Dokusunda Hematoksilen– eozin boyaması;

→: astrosit, >: oligodendrosit, ★: kankapilleri, x200.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, cerebrolysinin sıçanlarda sisplatin kullanımına bağlı olarak gelişen oksidatif optik sinir hasarına etkisi biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırıldı. Bundan önce yapılan çalışmalarda da sisplatinin, nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite, miyelosupresif etki, lökopeni, trombositopeni ve anemi gibi doz bağımlı belirgin yan etkileri gösterilmiştir (77). Ancak, sisplatin güçlü kemoterapötik bir ajan olması sebebiyle günümüzde kullanımı halen devam etmektedir (78). Yukarıda belirtildiği gibi, sisplatine bağlı bu oküler nörotoksisitelerin bazıları geri dönüşümsüzdür ve hatta körlüğe neden olabilmektedir (4). Bu nedenle, sisplatin tedavisinin kesilmesine veya istenilen dozlarda kullanılmasına engel olan önemli toksik etkilerden birinin optik nöropati olduğu ifade edilmektedir (3). Sisplatin toksisitesinden kaynaklanan kontrendikasyonları ortadan kaldırmak için farklı tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan deneysel çalışmalar, sisplatin ve diğer antikanser ilaçların toksik etkilerinin antioksidan tedavi ile azaltılabileceğini göstermektedir (11, 12, 75). Biyokimyasal Deney sonuçlarımızdan anlaşılacağı gibi, sisplatin optik sinir dokusunda MDA üretimini artırmıştır. Ancak, cerebrolysin MDA'nın sisplatinle artmasını anlamlı olarak azaltmıştır. Bu bulgular, cerebrolysinin optik sinir dokusunu sisplatinin toksik etkisinden koruduğunu işaret etmektedir. Bilindiği gibi, MDA lipidlerin ROS'la oksidasyonu sonucu oluşan sitotoksik bir üründür. Sisplatin toksisitesinin patogenezinde ROS'ların majör komponent olduğu bilinmektedir (80, 81). Sisplatinle ROS'un artması, hücrelerde LPO'ya yol açmaktadır ve oksidatif doku hasarı ile sonuçlanmaktadır (5). MDA, LPO sonrası oksidatif hücre hasarının devam ettirilmesinde rol oynar. MDA, toksik etkiyi, hücre membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına yol açarak ve membranlarda reseptör ve enzimleri inaktive etmek suretiyle gerçekleştirir (82). Icel E ve arkadaşları sisplatine bağlı hasarlı optik sinir dokusunda MDA miktarının arttığını göstermişlerdir (12). Taşlı NG ve arkadaşlarının çalışmasında, siplatin uygulanan hayvanların optik sinir dokusunda MDA'nın yükselmesine doğru orantılı olarak antioksidanların düştüğü ifade edilmiştir (11). Deney sonuçlarımız ve literetürlerden edinilen bilgiler, cerebrolysinin ROS üzerinden antioksidan etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Literetürlerde, cerebrolysinin optik sinir üzerindeki protektif etki mekanizmasını tam açıklayan

bilgilere rastlanmadı. Ayrıca, cerebrolysinin optik sinir dokusunu sisplatin ilişkili oksidatif hasara karşı koruyucu etkisine ait bilgilerede rastlanmadı. Ancak, cerebrolysinin nöroprotektif ve nörotrofik etkisini antioksidan aktivitesi ile ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır. Abdel-Salam OME ve arkadaşları cerebrolysinin ROS oluşumunu ve LPO'yu inhibe ederek nöron kaybını önlediğini bildirmişlerdir (9). Cerebrolysinin ayrıca, travmatik optik sinir hasarının tedavisinde yararlı olduğu gösterilmiştir (10). Araştırmalar neticesinde, cerebrolysinin nörositoprotektif etkisinin apoptozis ve ROS ilişkili LPO inhibisyonuna, nöronal ölümün ve nöroenflamasyonun inhibe edilmesine ve nörojenezin uyarılmasına katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır (83).

Çalışmamızda ayrıca, sisplatin verilen hayvanların optik sinir dokusunda yükselen bir diğer parametre MPO olmuştur. MPO, nötrofil granüllerinde bol miktarda bulunur ve salgısı nötrofillerin aktivasyonu ile artar. MPO enzimi, Cl^- iyonlarını kullanarak ortamda bulunan hidrojen peroksid (H_2O_2)'den hipoklorik asit (HOCl) oluşturur. Çok reaktif olan HOCl birçok biyolojik molekülü oksitlemektedir (84). MPO düzeyinin artması inflamasyon ve oksidatif stresin artması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. MPO nun, koroner arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, arteriyel hipertansiyon, pulmoner arter hipertansiyonu, periferik arter hastalığı, miyokardiyal iskemi reperfüzyonla ilgili hasar, inme ve diğer bir çok patolojilerin patogeneğinde önemli bir komponent olduğu rapor edilmiştir (85). MPO nun ayrıca, akut optik nöropatininde patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir (86). Taşlı NG ve arkadaşları tarafından, sisplatin ilişkili optik sinir hasarında MPO aktivitesinin arttığını ve antioksidan verilmesiyle bu hasarın gerilediği açıklanmıştır (11). Literetür bilgileri ile örtüşen bu deney sonuçlarımız, cerebrolysinin optik sinir dokusunda sisplatin ilişkili MPO aktivite artışını inhibe ettiğini göstermektedir. Ancak literetürlerde, cerebrolysinin MPO aktivite üzerindeki etkisini araştıran çalışmalara rastlanmadı.

Bilindiği gibi, canlı dokularda sürekli kontrollu bir şekilde SOR ve antioksidanlar üretilir. Doku bütünlüğünün ve fonksiyonlarının normal düzeylerde sürdürülmesi için aşırı üretilen SOR lar, endojenglutatyon, glutatyonperoksidaz, glutatyonreduktaz, glutatyon-s-transferaz, süperoksiddismutaz, katalaz ve diğer antioksidan (A, C, E vitaminler) savunma sistemlerince nötralize edilirler (87).

Ancak, sisplatin uygulanan hayvan grubunun optik sinir dokusunda oksidan parametreler yüksek, endojen antioksidan parametreler ise düşük bulunmuştur. Literatürlerde, antioksidanların oksidanları nötralize etmede yetersiz kalırsa oksidan/antioksidan arasındaki denge oksidanların lehine bozulur şeklinde ifadeler yer almaktadır (23). Deney sonuçlarımızdan, sisplatin grubunda oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değiştiği anlaşılırken, cerebrolysin grubunda bu dengenin antioksidanların üstünlüğüyle sürdürüldüğü anlaşılmaktadır. Oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine bozulması literatürlerde oksidatif stres olarak ifade edilen doku hasarına yol açmaktadır (4). Cerebrolysinin MDA ve MPO'nun sisplatinle artmasını, tGSH'nin ise azalmasını önlemiş olması, onun optik sinir dokusunda oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değişmesini inhibe ettiğini işaret eder. GSH, glutatyonperoksidaz, glutatyonreduktaz, glutatyon-s-transferaz, süperoksiddismutaz ve katalazlar canlı dokularda en çok bilinen önemli antioksidanlardandır. GSH, L-glutamat, L-sistein ve glisinden oluşan tripeptiddir. GSH aktif glutatyonperoksidaz katalizörlüğünde, H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek detoksifiye eder ve hücreleri SOR hasarından korur (88). Optik sinir ve diğer dokuların oksidatif hasarında GSH miktarının zaldığını belgeleyen çok sayıda çalışmalar bulunmaktadır (79, 89, 90). Cerebrolysinin optik sinir dokusundaki tGSH ya etkisini araştıran çalışmalar bulunmamaktadır. Ancak, cerebrolysinin hipokampusta stres ilişkili GSH azalmasını önlediğini ve santral sinir sistemini oksidatif hasardan koruduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (91). Yine cerebrolysinin GSH miktarını arttırarak ve H₂O₂ düzeyini azaltarak nöroprotektif etki oluşturduğu vurgulanmıştır (92). Bilindiği gibi, GSH eksikliğinde dokularda mitokondriyel dejenerasyonla bağlantılı hücre hasarı meydana gelmektedir. Mitokondriyel dejenerasyonla ilişkili bu hücre hasarı nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, kanser, immun hastalıklar gibi birçok patofizyolojik durumun ortaya çıkmasına neden olmaktadır. GSH eksikliğine bağlı patolojilerin GSH veya GSH öncülleri verilerek önlenildiği veya geriye döndürülebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (93).

Çalışmamızda sisplatin verilen hayvanların optik sinir dokusunda harcanan ve düzeyi azalan endojen antioksidanlardan biride SOD olmuştur. MDA ve MPO düzeylerinin yüksek bulunduğu dokuda, SOD aktivitesinin düşük bulunması SOD'un

ROS'ları nötralize etmede yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Cerebrolysin grubunda ise MDA ve MPO düzeylerinin düşük, SOD düzeyinin yüksek olması SOD'un ROS'ları nötralize etmede yeterli olduğunu işaret etmektedir. Bilindiği üzere, SOD süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen enzimdir. SOD, hemen bütün canlılarda bulunmaktadır. SOD'un tüm çeşitleri süperoksitindismutasyon reaksiyonunu katalizleyebilir (94). Son zamanda yapılan çalışmalarda da oksidatif strese maruz kalan optik sinir dokusunda MDA ve MPO düzeyleri yüksek, SOD düzeyi düşük bulunmuştur (86). Taşlı NG ve arkadaşlarıdisiplatin ilişkili oksidatif optik sinir hasarında MDA ve MPO düzeylerinin artışına orantılı bir şekilde SOD aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir (11). Başka bir çalışmada SOD uygulamasının optik sinir dokusunu oksidatif strese karşı koruduğu kaydedilmiştir (95). Tüm bu bilgiler, cerebrolysinin optik sinir dokusunu sisplatin ilişkili oksidatif hasara karşı koruduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda ayrıca MDA, MPO ve diğer oksidan düzeylerini değerlendirmek için TOS ölçümü yapılmıştır. Deney sonuçlarımız, MDA ve MPO gibi oksidan düzeylerinin yüksek bulunduğu sisplatin grubunda, TOS düzeyinde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. TOS'un biyolojik sistemlerde çeşitli oksidanların kümülatif oksidatif etkilerini belirlemede kullanıldığı belirtilmektedir (75). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada da MDA'nın yüksek ölçüldüğü hasarlı optik sinir dokusunda TOS düzeyinin de yükseldiği rapor edilmiştir (96). Cerebrolysin grubunda MDA, MPO ve TOS düzeylerinin sisplatin grubuna göre düşük olması onun sisplatin ilişkili oksidatif stresi antogonize ettiğini işaret etmektedir. Yine çalışmamızda sisplatinin tGSH ve SOD diğer antioksidanlar üzerindeki etkilerini değerlendirmek için doku TAS düzeyleri ölçüldü. TAS'ın canlı organizmalarda tüm antioksidanların kümülatif antioksidatif etkilerini belirlemede kullanıldığı belinmektedir (76, 97). Cerebrolysin grubunda TAS düzeyinin sisplatin grubuna göre anlamlı yüksek olması onun tGSH, SOD ve diğer antioksidanların harcanmasını önlediğini ortaya koymaktadır. Icel E ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada da TAS düzeyi yüksek olan optik sinir dokusunda histopatolojik hasarın daha hafif olduğu rapor edilmiştir (96). Geyikoglu F ve arkadaşları da hasarlı dokuda TAS düzeyinin azaldığını deneysel olarak göstermişlerdir (98). Sisplatin grubunun optik sinir dokusunda oksidatif stresin

şiddetli, cerebrolysin grubunda ise hafif olduğunu gösteren bir diğer parametre OSI olmuştur. TOS değerinin TAS değerine oranıyla hesaplanan OSI, oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (99). Tüm bu literetür bilgileri deney sonuçlarımızı desteklediğini işaret etmektedir.

Çalışmamızda ayrıca, tüm hayvan gruplarının optik sinir dokuları histopatolojik olarak incelendi. Sisplatin tedavisi ile ilişkili optik sinir histopatolojik hasarın kanıtlandığı ilk vaka 1982 yılında rapor edilmiştir (100). Daha sonra ise, sisplatinin körlüğe yol açan optik sinir dejenerasyonu oluşturduğu vakası bildirilmiştir (101). Deney sonuçlarımız, sağlıklı, sisplatin ve cerebrolysin grubundan elde edilen biyokimyasal bulgularımızın histopatolojik bulgularla örtüştüğünü göstermektedir. MDA, MPO, TOS ve OSI düzeyleri yüksek, tGSH, SOD ve TAS düzeyleri düşük ölçülen sisplatin grubunun optik sinir dokusunda hipertrofiye ve dejenere olmuş astrosit, dejenere olmuş oligodendrosit, vakuolizasyon ve hafif dilatekapiller damarlar görülmüştür. Ancak oksidan parametrelerin düşük, antioksidan parametrelerin yüksek bulunduğu cerebrolysin grubunda astrosit ve oligodedrosit genel morfolojilerinin normale yakın olduğu gözlemlenmiştir. Cerebrolysinin kapiller damar dilatasyonunu önlediği saptandı. Ayrıca, cerebrolysin grubunun optik sinir dokusunda sisplatin ilişkili ödemin belirgin azaldığı tespit edildi. Bundan önce yapılan bir çalışmada Icel E arkadaşları, sisplatinin optik sinir dokusunda ödem, kan damar dilatasyonu ve hücre hasarına yol açtığını bildirmişlerdir (12). Taşlı NG ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, sisplatinin optik sinir astrosit hücre proliferasyonuna neden olduğu vurgulanmıştır (11).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sisplatinin hayvanların optik sinir dokusunda MDA, MPO, TOS ve OSİ düzeylerinin yükselmesine neden olmuştur. Sisplatin ayrıca, grubunun optik sinir dokusunda tGSH, SOD ve TAS düzeylerini düşürmüştür. Sisplatin uygulanan grubun optik sinir dokusunda oksidan antioksidan arasındaki dengenin oksidanların lehine değiştiği görülmüştür. Oksidan parametrelerin yüksek, antioksidan parametrelerin düşük bulunduğu sisplatin grubunun optik sinir dokusunda belirgin histopatolojik hasar saptanmıştır. Cerebrolysin optik sinir dokusunda MDA, MPO, TOS ve OSİ'lerin sisplatinle artmasını anlamlı önlemiştir. Cerebrolysin ayrıca, optik sinir dokusunda tGSH, SOD ve TAS düzeylerinin sisplatinle azalmasını antogonize etmiştir. Cerebrolysin optik sinir dokusunda oksidan antioksidan dengenin oksidanların lehine değişmesini engellemiştir. Cerebrolysin, sisplatin ilişkili optik sinir dokusundaki histopatolojik hasarı büyük ölçüde azaltmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bu bilgiler, cerebrolysinin sisplatin ilişkili optik sinir hasarının tedavisinde yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. McKeage, M. J. (1995). Comparative adverse effect profiles of platinum drugs. *Drug safety*, 13(4), 228-244.
2. Khan, R., Khan, A. Q., Qamar, W., Lateef, A., Ali, F., Rehman, M. U., ... and Sultana, S. (2012). Chrysin abrogates cisplatin-induced oxidative stress, p53 expression, goblet cell disintegration and apoptotic responses in the jejunum of Wistar rats. *British Journal of Nutrition*, 108(9), 1574-1585.
3. Golombek, T., Henker, R., Rehak, M., Quäschling, U., Lordick, F., and Knödler, M. (2019). A Rare Case of Mixed Adenoneuroendocrine Carcinoma (MANEC) of the Gastroesophageal Junction with HER2/neu Overexpression and Distinct Orbital and Optic Nerve Toxicity after Intravenous Administration of Cisplatin. *Oncology Research and Treatment*, 42(3), 123-127.
4. Li, Y., Li, Y., Li, J., Pi, G., and Tan, W. (2014). Paclitaxel-and/or cisplatin-induced ocular neurotoxicity: a case report and literature review. *Onco Targets and Therapy*, 7, 1361.
5. Polat, N., Ciftci, O, Cetin, A., and Yılmaz, T. (2016). Toxic effects of systemic cisplatin on rat eyes and the protective effect of hesperidin against this toxicity. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 35(1), 1-7.
6. Abakumova, T., Vernay, L., and Ziganshina, L. E. (2017). Cerebrolysin for acute ischaemic stroke. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(4).
7. 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.
8. Formichi, P., Radi, E., Battisti, C., Di Maio, G., Muresanu, D., and Federico, A. (2012). Cerebrolysin administration reduces oxidative stress-induced

apoptosis in lymphocytes from healthy individuals. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 16(11), 2840-2843.

9. Abdel-Salam, O. M., Mohammed, N. A., Youness, E. R., Khadrawy, Y. A., Omara, E. A., and Sleem, A. A. (2014). Cerebrolysin protects against rotenone-induced oxidative stress and neurodegeneration. *J Neurorestoratol*, 2, 47-63.
10. Huang, T. L., Huang, S. P., Chang, C. H., Lin, K. H., Sheu, M. M., and Tsai, R. K. (2014). Protective effects of cerebrolysin in a rat model of optic nerve crush. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 30(7), 331-336.
11. Taşlı, N. G., Uçak, T., Karakurt, Y., Keskin Çimen, F., Özbek Bilgin, A., Kurt, N., and Süleyman, H. (2018). The effects of rutin on cisplatin induced oxidative retinal and optic nerve injury: an experimental study. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37(3), 252-257.
12. Icel, E., Uçak, T., Agcayazi, B., Karakurt, Y., Yilmaz, H., Keskin Çimen, F., and Süleyman, H. (2018). Effects of Pycnogenol on cisplatin-induced optic nerve injury: an experimental study. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37(4), 396-400.
13. Liu, G. T., Volpe, N. J., and Galetta, S. L. (2010). *Neuro-Ophthalmology E-Book: Diagnosis and Management*. Elsevier Health Sciences.
14. Christensen, A. M. (2005). Assessing the variation in individual frontal sinus outlines. *American Journal of Physical Anthropology: The Official Publication of the American Association of Physical Anthropologists*, 127(3), 291-295.
15. Dacey, D. M., Liao, H. W., Peterson, B. B., Robinson, F. R., Smith, V. C., Pokorny, J., ... and Gamlin, P. D. (2005). Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, 433(7027), 749.

16. Miller, N. R., Walsh, F. B., and Hoyt, W. F. (Eds.). (2005). *Walsh and Hoyt's Clinical Neuro-Ophthalmology* (Vol. 2). Lippincott Williams and Wilkins.
17. Rowe, M. H. (1991). Functional organization of the retina. *Neuroanatomy of the visual pathways and their development*, (Eds. B. Dreher and SR Robinson), *In: Vision and Visual Dysfunction*, 4, 1-68.
18. Penfold, P. L., Madigan, M. C., and Provis, J. M. (1991). Antibodies to human leucocyte antigens indicate subpopulations of microglia in human retina. *Visual Neuroscience*, 7(4), 383-388.
19. Dartt, D. A. (2002). Regulation of mucin and fluid secretion by conjunctival epithelial cells. *Progress in retinal and eye research*, 21(6), 555-576.
20. Urso, M. L., and Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1-2), 41-54.
21. Clarkson, P. M., and Thompson, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2), 637S-646S.
22. Rikans, L. E., and Hornbrook, K. R. (1997). Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1362(2-3), 116-127.
23. 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.

24. Yu, B. P. (1999). Approaches to anti-aging intervention: the promises and the uncertainties. *Mechanisms of ageing and development*, 111(2-3), 73-87.
25. Yan, L. J., and Sohal, R. S. (1998). Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(22), 12896-12901.
26. Yan, L. J. (2014). Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biology*, 2, 165-169.
27. Dokuyucu, R., Karateke, A., Gokce, H., Kurt, R. K., Ozcan, O., Ozturk, S., ... and Duru, M. (2014). Antioxidant effect of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia–reperfusion injury. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 183, 23-27.
28. Kilinc, K., and Kilinc, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Med. J*, 33(2), 110-118.
29. 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.
30. Navarro, A., and Boveris, A. (2004). Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(5), 1244-1249.
31. Droge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

32. Schreck, R., and Baeuerle, P. A. (1991). A role for oxygen radicals as second messengers. *Trends in Cell Biology*, 1(2-3), 39-42.
33. Aggarwal, B. B., and Sung, B. (2009). Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(2), 85-94.
34. Priyadarsini, K. I. (1997). Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(6), 838-843.
35. Anand, P., Thomas, S. G., Kunnumakkara, A. B., Sundaram, C., Harikumar, K. B., Sung, B., ... and Aggarwal, B. B. (2008). Biological activities of curcumin and its analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical Pharmacology*, 76(11), 1590-1611.
36. Valko, M. M. H. C. M., Morris, H., and Cronin, M. T. D. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12(10), 1161-1208.
37. Banerjee, A., Kunwar, A., Mishra, B., and Priyadarsini, K. I. (2008). Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin: Studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. *Chemico-Biological Interactions*, 174(2), 134-139.
38. Moncada, S. R. M. J. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol rev*, 43, 109-142.
39. Jomova, K., and Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2-3), 65-87.
40. Biswas, S. K., McClure, D., Jimenez, L. A., Megson, I. L., and Rahman, I. (2005). Curcumin induces glutathione biosynthesis and inhibits NF- κ B activation and interleukin-8 release in alveolar epithelial cells: mechanism of free radical scavenging activity. *Antioxidants and Redox Signaling*, 7(1-2), 32-41.

41. Yin, H., Xu, L., and Porter, N. A. (2011). Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews*, 111(10), 5944-5972.
42. Gupta, R. K., Patel, A. K., Shah, N., Chaudhary, A. K., Jha, U. K., Yadav, U. C., ... and Pakuwal, U. (2014). Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer. *Asian Pac Cancer Prev*, 15, 4405-4409.
43. Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.
44. Sies, H. (1991). Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American Journal of Medicine*, 91(3), S31-S38.
45. Bibu, J. K. (2011). Antineoplastic drugs: Treatment principles and toxicity. *Veterinary World*, 4(8), 380.
46. Wang, D., and Lippard, S. J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(4), 307.
47. Daldal, A., Odabasi, O., and Serbetcioglu, B. (2007). The protective effect of intratympanic dexamethasone on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 137(5), 747-752.
48. Teranishi, M. A., and Nakashima, T. (2003). Effects of trolox, locally applied on round windows, on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 67(2), 133-139.
49. Erdemli, E. A., Ergeneci, D., Atahan, Ş., and IŞIKAY, L. (1999). Cisplatinin siçan böbrek ve testisleri üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 52(03).

50. Dilek, İ. (2010). Kemoterapide toksisite değerlendirmesi. *Türk Hematoloji Derneği*.
51. Cooley, M. E., Davis, L., and Abrahm, J. (1994). Cisplatin: a clinical review. Part II--Nursing assessment and management of side effects of cisplatin. *Cancer Nursing*, 17(4), 283-293.
52. Johnstone, T. C., Park, G. Y., and Lippard, S. J. (2014). Understanding and improving platinum anticancer drugs—phenanthriplatin. *Anticancer Research*, 34(1), 471-476.
53. Wang, D., and Lippard, S. J. (2005). Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(4), 307.
54. Rybak, L. P., Whitworth, C. A., Mukherjea, D., and Ramkumar, V. (2007). Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing research*, 226(1-2), 157-167.
55. Fetoni, A. R., Quaranta, N., Marchese, R., Cadoni, G., Paludetti, G., and Sergi, B. (2004). The protective role of tiopronin in cisplatin ototoxicity in Wistar rats. *International Journal of Audiology*, 43(8), 465-470.
56. Van den Berg, J. H., Beijnen, J. H., Balm, A. J. M., and Schellens, J. H. M. (2006). Future opportunities in preventing cisplatin induced ototoxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 32(5), 390-397.
57. Schellens, J. H., Planting, A. S., Ma, J., Maliepaard, M., de Vos, A., de Boer Dennert, M., and Verweij, J. (2001). Adaptive inpatient dose escalation of cisplatin in patients with advanced head and neck cancer. *Anti-cancer drugs*, 12(8), 667-675.
58. Schweitzer, V. G. (1993). Ototoxicity of chemotherapeutic agents. *Otolaryngologic Clinics of North America*, 26(5), 759-789.

59. Gonzalez, F., Menendez, D., and Gomez-Ulla, F. (2001). Monocular visual loss in a patient undergoing cisplatin chemotherapy. *International Ophthalmology*, 24(6), 301-304.
60. Katz, B. J., Ward, J. H., Digre, K. B., Creel, D. J., and Mamalis, N. (2003). Persistent severe visual and electroretinographic abnormalities after intravenous Cisplatin therapy. *Journal of Neuro-Ophthalmology*, 23(2), 132-135.
61. Hilliard, L. M., Berkow, R. L., Watterson, J., Ballard, E. A., Balzer, G. K., and Moertel, C. L. (1997). Retinal toxicity associated with cisplatin and etoposide in pediatric patients. *Medical and Pediatric Oncology: The Official Journal of SIOP—International Society of Pediatric Oncology (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique)*, 28(4), 310-313.
62. Yang, J., Yoshizawa, K., Shikata, N., Kiyozuka, Y., Senzaki, H., and Tsubura, A. (2000). Retinal damage induced by cisplatin in neonatal rats and mice. *Current eye research*, 20(6), 441-446.
63. Plosker, G. L., and Gauthier, S. (2010). Spotlight on cerebrolysin in dementia. *CNS drugs*, 24(3), 263-266.
64. Georgy, G. S., Nassar, N. N., Mansour, H. A., and Abdallah, D. M. (2013). Cerebrolysin ameliorates cognitive deficits in type III diabetic rats. *PloS one*, 8(6), 1-9.
65. 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.
66. Garmanchuk, L. V., Perepelitsyna, E. M., Sidorenko, M. V., Makarenko, A. N., and Kul'chikov, A. E. (2009). Cytoprotective effect of neuropeptides on immunocompetent cells (in vitro study). *Ekspерimental'naiia i Klinicheskaia Farmakologiiia*, 72(4), 28-32.

67. Tatebayashi, Y., Lee, M. H., Li, L., Iqbal, K., and Grundke-Iqbal, I. (2003). The dentate gyrus neurogenesis: a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 105(3), 225-232.
68. Patočková, J., Kršiak, M., Marhol, P., and Tůmová, E. (2003). Cerebrolysin inhibits lipid peroxidation induced by insulin hypoglycemia in the brain and heart of mice. *Physiol. Res*, 52(4), 55-460.
69. Wei, Z. H., He, Q. B., Wang, H., Su, B. H., and Chen, H. Z. (2007). Meta-analysis: the efficacy of nootropic agent Cerebrolysin in the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 114(5), 629-634.
70. Coskun, R., Turan, M. I., Turan, I. S., and Gulapoglu, M. (2014). The protective effect of thiamine pyrophosphate, but not thiamine, against cardiotoxicity induced with cisplatin in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 37(3), 290-294.
71. 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.
72. 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.
73. 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.
74. 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.
75. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.

76. Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37(2), 112-119.
77. Boulikas, T., and Vougiouka, M. (2003). Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. *Oncology reports*, 10(6), 1663-1682.
78. Hartmann, J. T., and Lipp, H. P. (2003). Toxicity of platinum compounds. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 4(6), 889-901.
79. Kulhan, N. G., Kulhan, M., Turkler, C., Ata, N., Kiremitli, T., Kiremitli, S., ... and Toprak, V. (2019). Effect of lycopene on oxidative ovary-damage induced by cisplatin in rats. *General Physiology and Biophysics*, 38(3), 253-258.
80. Podratz, J. L., Lee, H., Knorr, P., Koehler, S., Forsythe, S., Lambrecht, K., ... and Yang, A. (2017). Cisplatin induces mitochondrial deficits in *Drosophila* larval segmental nerve. *Neurobiology of Disease*, 97, 60-69.
81. Waseem, M., Kaushik, P., Tabassum, H., and Parvez, S. (2018). Role of mitochondrial mechanism in chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Current Drug Metabolism*, 19(1), 47-54.
82. 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.
83. Rezaei, Y., and Arjmand, N. (2016). Letter by Rezaei and Arjmand Regarding Article, "Cerebrolysin and Recovery After Stroke (CARS): A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Multicenter Trial". *Stroke*, 47(5), e90-e90.
84. Galijasevic, S. (2018). The development of myeloperoxidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 29(1), 1-7.
85. Ndrepepa, G. (2019). Myeloperoxidase—A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clinica Chimica Acta*.

86. Taşlı, N. G., Çimen, F. K., Karakurt, Y., Uçak, T., Mammadov, R., Süleyman, B., Süleyman, H. (2018). Protective effects of Rutin against methanol induced acute toxic optic neuropathy: an experimental study. *International Journal of Ophthalmology*, 11(5), 780.
87. Suleyman H, Gül V, Erhan E. (2018). Oxidative Stress and Tissue Damage. *Erzincan Medical Journal*. 1(1), 1-4.
88. Harper, H. A., Murray, R. K., Granner, D. K., and Mayes, P. A. (2000). *Harper's Biochemistry*. McGraw-Hill Health Professions Divisions.
89. Karakurt, Y., Uçak, T., Tasli, N., Ahiskali, I., Şipal, S., Kurt, N., and Süleyman, H. (2018). The effects of lutein on cisplatin-induced retinal injury: an experimental study. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37(4), 374-379.
90. Ozoner, B., Yuceli, S., Aydin, S., Yazici, G. N., Sunar, M., Arslan, Y. K., ... and Suleyman, H. (2019). Effects of pycnogenol on ischemia/reperfusion-induced inflammatory and oxidative brain injury in rats. *Neuroscience letters*, 704, 169-175.
91. 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.
92. Guzmán, D. C., Brizuela, N. O., Herrera, M. O., García, E. H., Mejía, G. B., Olguín, 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.
93. Aksoy, Y. (2002). The role of glutathione in antioxidant mechanism. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 22(4), 442-448.
94. 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.

95. Nebbioso, M., Scarsella, G., Tafani, M., and Pescosolido, N. (2013). Mechanisms of ocular neuroprotection by antioxidant molecules in animal models. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 27(1), 197-209.
96. Icel, E., Icel, A., Uçak, T., Karakurt, Y., Elpeze, B., Keskin Çimen, F., and Süleyman, H. (2019). The effects of lycopene on alloxan induced diabetic optic neuropathy. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 38(1), 88-92.
97. Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277-285.
98. Geyikoglu, F., Emir, M., Colak, S., Koc, K., Turkez, H., Bakir, M., ... and Ozek, N. S. (2017). Effect of oleuropein against chemotherapy drug-induced histological changes, oxidative stress, and DNA damages in rat kidney injury. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), 447-459.
99. Harma, M., and Erel, O. (2003). Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Medical Weekly*, 133(4142), 563-566.
100. Walsh, T. J., Clark, A. W., Parhad, I. M., and Green, W. R. (1982). Neurotoxic effects of cisplatin therapy. *Archives of Neurology*, 39(11), 719-720.
101. Shimamura, Y., Chikama, M., Tanimoto, T., Kawakami, Y., and Tsutsumi, A. (1990). Optic nerve degeneration caused by supraophthalmic carotid artery infusion with cisplatin and ACNU: case report. *Journal of Neurosurgery*, 72(2), 285-288.

EKLER

EK 1. Etik Kurul Kararı



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



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900138346
Konu : HADYEK Kararı.

02.05.2019

HUKUK MÜŞAVİRLİĞİNE

İlgi : 10.04.2019 tarihli ve 77040475-641.04-E.1900117424 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 85 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=521F347>

TOPLANTI TARİHİ : 30.04.2019

TOPLANTI SAYISI : 5

KARAR N0 85: Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Rektörlüğü, Tıp Fakültesi Dekanlığı, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Halis SÜLEYMAN'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan "Cerebrolysinin Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Oksidatif Optik Sinir Hasarına Etkisi" isimli yüksek lisans tezi çalışması ile ilgili 10.04.2019 tarih ve 77040475-641.04-E.1900117424 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.

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

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

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





Ek 2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası
(Certificate for Using Experimental Animals)

Doç. Dr. Halis SÜLEYMAN

adlı araştırmacı Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu Yönetim Kurulu'nun
28.03.2008 Tarih ve 4/21 sayılı kararı ile Deney Hayvanı Kullanım Sertifikası almaya hak kazanmıştır.

This is to certify that the above-named researcher was authorized according to the decision dated as
28.03.2008 and numbered as 4/21 with a Certificate for Using Experimental Animals by the Executive
Board of Local Ethics Committee for Animal Experiments of Atatürk University.


Prof. Dr. Mustafa ATASEVER
Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleeri
Yerel Etik Kurulu Başkanı
(Chairman of the Executive Board of Local Ethics Committee for
Animal Experiments of Atatürk University)


Prof. Dr. Hikmet KOÇAK
Atatürk Üniversitesi Rektörü
(Rector of Atatürk University)

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında İzmir Göztepe’de dünyaya geldim. İlkokulu Kayseri, ortaokulu Diyarbakır, liseyi de Ankara’da tamamladım. Lisans öğrenimini Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde 2008 yılında tamamladım. Askerlik hizmetimi 2009 yılında yedek subay olarak Bursa’da yaptım. 2008 yılı Kasım ayından bu yana Erzincan merkezde Burak Eczanesi adında faaliyet gösteren eczanenin sahibi ve mesul müdürlüğünü yapmaktayım. 2014 yılından itibaren Türk Eczacıları Birliği Erzincan İl Temsilciliği görevi yapmaktayım. 2016 yılından itibaren Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalında Tezli Yüksek Lisans yapmaktayım. 2019 yılı eylül ayında 13. Bölge Erzurum Eczacı Odası Olağan Seçimli Kongresinde Türk Eczacıları Birliği delegesi olarak seçilmiş olup bu görevi hali hazırda sürdürmekteyim. Evli ve Kutay Mete adında bir erkek çocuk babasıyım.