

T. C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE OLUŞTURULAN
HEPATOTOKSİSİTEYE GERANİOLÜN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halime Tuba CANBAZ

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

KONYA 2018

T. C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE OLUŞTURULAN
HEPATOTOKSİSİTEYE GERANİOLÜN OLASI KORUYUCU
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halime Tuba CANBAZ

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 171418005 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2018

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Halime Tuba CANBAZ**'ın “**Sıçanlarda Siklofosamid ile Oluşturulan Hepatotoksisiteye Geraniolün Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA/05.06.2018

Tez Danışmanı

Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Salim GÜNGÖR

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Gökhan CÜCE

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Hasan CÜCE

KTO Karatay Üniversitesi

Jüri üyesi

Dr. Öğr. Üyesi M. Enes SÖZEN

Alaaddin Keykubat Üniversitesi

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun **11.06/2018** Tarih ve **12./12.** Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü



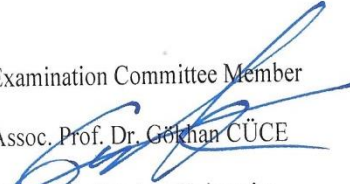
APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “**Investigation of the Potential Protective Effects of Geraniol on Cyclophosphamide-Induced Hepatotoxicity in Rats**” by “**Halime Tuba CANBAZ**” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of **Doctor of Philosophy** in the Department of “**Histology and Embryology**”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

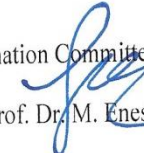
Konya, Turkey/05.06.2018


Principal Advisor
Prof. Dr. S. Serpil KALKAN
Necmettin Erbakan University



Examination Committee Member
Prof. Dr. Salim GÜNGÖR
Necmettin Erbakan University


Examination Committee Member
Assoc. Prof. Dr. Gülhan CÜCE
Necmettin Erbakan University


Examination Committee Member
Prof. Dr. Hasan CÜCE
KTO Karatay University


Examination Committee Member
Asst. Prof. Dr. M. Enes SÖZEN
Alaaddin Keykubat University

This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.


Prof. Dr. Kismet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK
Director of Institute of Health Sciences

Tez Beyan Sayfası

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilemeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynak listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

05.06.2018

Halime Tuba Canbaz



TURNİTİN

17.05.2018

Turnitin

[Yardım](#)

[Öğrenciler](#)

[Not Defteri](#)

[Kütüphaneler](#)

[Takvim](#)

[Tartışma](#)

[Tercihler](#)

Bu sayfa hakkında


Bu sizin ödev kutunuzdur. Bir yazılı ödevi görüntülemek için yazılı ödevin başlığını seçin. Bir Benzerlik Raporunu görüntülemek için yazılı ödevin benzerlik sütunundaki Benzerlik Raporu ikonunu seçin. Tıklanabilir durumda olmayan bir ikon Benzerlik Raporunun henüz oluşturulmadığını gösterir.

Sıçanlarda siklofosfamid ile oluşturulan hepatoto...

Gelen Kutusu | Görüntüleniyor: yeni ödevler ▼

[Dosyayı Gönder](#) [Çevrimiçi Derecelendirme Raporu](#) | [Ödev ayarlarını düzenle](#) | [E-posta bildirmeyenler](#)

[Sil](#) [İndir](#) [Şuraya taşı...](#)

<input type="checkbox"/>	Yazar	Başlık	Benzerlik	web	yayın	student papers	Puanla	cevap	Dosya	Ödev Numarası	Tarih
<input type="checkbox"/>	Halime Tuba Canbaz	 Sıçanlarda siklofosfamid ile oluşturulan...	$\frac{11}{11}$ %11	0%	4%	0%	–	–	ödev indir	964993301	17-May-2018

Önsöz ve Teşekkürler

Doktora eğitimim boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen, tez çalışmalarım boyunca bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren danışman hocam ve aynı zamanda Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı olan Prof. Dr. S. Serpil KALKAN'a,

Doktora eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Öğretim üyesi hocalarım Prof. Dr. Aydan ÖZGÖRGÜLÜ, Prof. Dr. Selçuk DUMAN, Prof. Dr. Murad AKTAN, Doç. Dr. Gökhan CÜCE, Öğr. Gör. Dr. Burcu GÜLTEKİN ve KTO Karatay Üniversitesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hasan CÜCE'ye,

Çalışmamda ve her konuda desteklerini gördüğüm Dr. Öğr. Üyesi M. Enes SÖZEN ve Dr. Öğr. Üyesi Seda ÇETİNKAYA KARABEKİR, mesai arkadaşlarım Arş Gör. Dr. Emine Utlu ÖZEN, Arş Gör. Dr. Fatma ÖZ BAĞCI ve Nihal CANBULAT'a

Hayatım boyunca maddi manevi desteklerini esirgemeyen ailem, kendilerinden fedakarlık yapıp bizleri gözeten annelerim ve babalarım, varlıklarıyla hayatımı anlamlandıran eşim ve kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

<i>İÇ KAPAK</i>	<i>i</i>
<i>TEZ ONAY SAYFASI</i>	<i>ii</i>
<i>APPROVAL</i>	<i>iii</i>
<i>TEZ BEYAN SAYFASI</i>	<i>iv</i>
<i>TURNİTİN</i>	<i>v</i>
<i>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER</i>	<i>vi</i>
<i>İÇİNDEKİLER</i>	<i>vii</i>
<i>KISALTMALAR VE SİMGELER</i>	<i>x</i>
<i>ŞEKİLLER</i>	<i>xii</i>
<i>TABLolar</i>	<i>xiv</i>
<i>ÖZET</i>	<i>xv</i>
<i>ABSTRACT</i>	<i>xvi</i>
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. <i>KARACİĞER</i>	<i>1</i>
2.1.1. <i>KARACİĞER ANATOMİ VE FİZYOLOJİSİ</i>	<i>1</i>
2.1.2. <i>KARACİĞER EMBRİYOLOJİSİ</i>	<i>3</i>
2.1.3. <i>KARACİĞER HİSTOLOJİSİ</i>	<i>5</i>
2.1.3.1. <i>HEPATOSİTLER</i>	<i>6</i>
2.1.3.2. <i>SİNÜZOİDAL ENDOTEL HÜCRELERİ</i>	<i>6</i>
2.1.3.3. <i>KUPFFER HÜCRELERİ</i>	<i>6</i>
2.1.3.4. <i>YILDIZ (İTO) HÜCRELERİ</i>	<i>6</i>
2.1.3.5. <i>PİT HÜCRELERİ</i>	<i>7</i>
2.2. <i>MAST HÜCRELERİ</i>	<i>7</i>
2.3. <i>SİKLOFOSFAMİD</i>	<i>7</i>
2.3.1. <i>CP TOKSİSİTESİ</i>	<i>8</i>
2.4. <i>APOPTOZİS</i>	<i>8</i>
2.4.1. <i>APOPTOZİS DÜZENLEYİCİLERİ</i>	<i>10</i>
2.4.1.1. <i>KASPAZLAR</i>	<i>10</i>
2.4.1.2. <i>IAPs</i>	<i>10</i>
2.4.1.3. <i>BCL-2 AİLESİ</i>	<i>11</i>

2.4.1.4. p53.....	11
2.4.2. APOPTOZİS SİNYAL YOLAĞI.....	11
2.4.2.1. İNTRİNSİK YOLAK.....	11
2.4.2.2. EKSTRİNSİK YOLAK.....	13
2.4.2.2.1. TNF YOLAĞI.....	13
2.4.2.2.2. FAS YOLAĞI.....	14
2.4.2.2.3. TRAIL YOLAĞI.....	14
2.5. TERPENLER VE GERANİOL.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
3.1. ETİK KURUL VE BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJE DESTEĞİ.....	17
3.2. DENEY HAYVANLARI.....	17
3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	17
3.4 GERANİOL.....	18
3.5 SİKLOFOSFAMİD.....	18
3.6. VÜCUT AĞIRLIKLARININ ÖLÇÜLMESİ.....	18
3.7. DOKULARIN VE KAN ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI.....	19
3.8. HİSTOLOJİK UYGULAMALAR.....	19
3.8.1. NÖTRAL FORMALDEHİT TESPİT SOLÜSYONUNUN HAZIRLANIŞI.....	19
3.8.2. IŞIK MİKROSKOBU İÇİN DOKULARIN HAZIRLANMASI.....	20
3.8.3. KESİTLERİN ALINMASI VE BOYANMASI.....	20
3.9 İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA.....	22
3.10. TUNEL METODU.....	24
3.11. APOPTOTİK İNDEKS.....	25
3.12. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. VÜCUT AĞIRLIĞI FARKI.....	27
4.2. OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ.....	27
4.3. SERUM BİYOKİMYA PARAMETRELERİ.....	29
4.4. TUNEL BOYAMA.....	30
4.5. HİSTOPATOLOJİK SKOR.....	34
4.6. İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BOYAMA.....	39
4.7. TOLUIDİN MAVİSİ BOYAMASI.....	43

5. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
6. KAYNAKLAR.....	54
7. ÖZGEÇMİŞ	61
8. EKLER.....	62



Kısaltmalar ve Simgeler

α = Alfa

β = Beta

δ = Delta

ABD = Amerika Birleşik Devletleri

APAF = Apoptotik Proteaz Aktive Edici Bölge-1

BH = Bcl-2 homology

BMP = Bone Morphogenetic Proteins

CAD = Kaspaz Aktiviteli DNaz

CARD = Kaspaz Toplayıcı Bölge

DD = Ölüm Bölgesi

DED = Ölüm Efektör Bölgesi

DNA = Deoksiribonükleik Asit

FGF = Fibroblast Growth Factor

H&E = Hematoksilen&Eozin Boyası

H₂O₂= Hidrojen Peroksit

IAPs= Apoptozis Protein İnhibitörleri

IFN γ = Interferon Gama

I κ B = Inhibitor of kappa B

IKK = Inhibitor of kappa B kinaz

iNOS= inducible nitrik oksit sentaz

MAPK = Mitojen-Aktive Protein Kinaz

Mg = Miligram

MHC = Major Doku Uygunluk Kompleksi

MR = Manyetik Rezonans Görüntüleme

NF- κ B = Nükleer Faktör Kappa B

O₂ = Oksijen

PBS = Fosfat Tamponlu Su

RNA = Ribonükleik Asit

ROS = Reaktif Oksijen Türevleri

Sn = Saniye

TEM = Transmission Elektron Mikroskobu

TNF = Tümör Nekrozis Faktör

TNFR = Tümör Nekroz Faktör Reseptör Gen

TRAIL = TNF-ilişkili apoptozis uyarıcı ligand

TUNEL = Terminal-Deoksi Nükleotidil Transferaz Nick End-Labeling

μm = Mikrometre

UV = Ultraviyole

Dk = Dakika

Şekiller

Şekil 2.1.3: Klasik karaciğer lobülü ve portal lobül.....	5
Şekil 4.4.1: Kontrol grubuna ait TUNEL boyama.....	30
Şekil 4.4.2: Ge 100 grubuna ait TUNEL boyama.....	31
Şekil 4.4.3: Ge 200 grubuna ait TUNEL boyama.....	31
Şekil 4.4.4: CP+Ge 100 grubuna TUNEL boyama.....	32
Şekil 4.4.5: CP+Ge 200 grubuna TUNEL boyama.....	33
Şekil 4.4.6: CP grubuna TUNEL boyama.....	33
Şekil 4.5.1: Kontrol grubuna ait H&E boyaması	34
Şekil 4.5.2: Ge 100 grubuna ait H&E boyaması	35
Şekil 4.5.3: Ge 200 grubuna ait H&E boyaması	35
Şekil 4.5.4: Cp+Ge 100 grubuna ait H&E boyaması	36
Şekil 4.5.5: Cp+Ge 200 grubuna ait H&E boyaması	36
Şekil 4.5.6: CP grubuna ait H&E boyaması	37
Şekil 4.5.7: CP grubuna ait H&E boyaması	38
Şekil 4.5.8: CP grubuna ait H&E boyaması	38
Şekil 4.6.1: Kontrol grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.....	39
Şekil 4.6.2: Ge 100mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.....	40
Şekil 4.6.3: Ge 200 NF-κB immünohistokimya boyaması.....	40
Şekil 4.6.4: CP grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.....	41
Şekil 4.6.5: CP grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.	41
Şekil 4.6.6: CP+Ge 100mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.	42

Şekil 4.6.7: CP+Ge 200mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması.....	42
Şekil 4.7.1: Kontrol grubu toluidine mavisi boyaması.....	43
Şekil 4.7.2: CP grubu toluidine mavisi boyaması.....	43
Şekil 4.7.3: CP grubu toluidine mavisi boyaması.	44
Şekil 4.7.4: Ge 100 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması.....	44
Şekil 4.7.5: Ge 200 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması.....	45
Şekil 4.7.6: CP+ Ge 100 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması.....	45
Şekil 4.7.7: CP+ Ge 200 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması.....	46

Tablolar

Tablo 2.1.1: Karaciğerin görevleri.....	2
Tablo 3.1 : Nötral formaldehit hazırlamak için kullanılan maddeler ve miktarları.....	19
Tablo 3.2 : Doku takip yönteminde kullanılan uygulama süreleri.....	20
Tablo 3.3 : H&E boyama yönteminin basamaklarına ait uygulamalar ve süreleri.....	21
Tablo 3.4: Toluidin Mavisi boyama yönteminin basamaklarına ait uygulamalar ve süreleri..	21
Tablo 3.5: NF-κB immünohistokimya boyama basamakları ve süreleri.....	22
Tablo 4.1: Gruplar arası ağırlık karşılaştırmaları.....	27
Tablo 4.2: Gruplar arası TOS ve TAS ortalamaları ve standart hata değerleri.....	27
Tablo 4.3: Gruplar arası AST, ALT ortalamaları ve standart hata değerleri, .	28
Tablo 4.4: Gruplar arası TUNEL pozitif hücre sayısı ortalamaları ve standart hata değerleri.....	30
Tablo 4.5: Gruplar arası histopatoloji skor ortalamaları ve standart hata değerleri.....	34

ÖZET

T.C. NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Sıçanlarda Siklofosfamid ile Oluşturulan Hepatotoksisiteye Geraniolün Olası
Koruyucu Etkilerinin Araştırılması

Halime Tuba CANBAZ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2018

Siklofosfamid (CP); otoimmün hastalıklarda ve organ nakillerinde immunsupresif olarak, çeşitli malignensilerde ise kemoterapötik olarak kullanılan alkilleyici bir ajandır. Siklofosfamidin terapötik uygulamaları farklı yan etkilerle ve organ toksisitesiyle birliktelik göstermektedir. Siklofosfamidin metabolize olmasıyla birlikte gelişen oksidatif hasar, toksisitede önemli rol oynamaktadır.

Geraniol (Ge); gül, lavanta, limon ve diğer bazı bitkilerin esansiyel yağlarında bulunan asiklik monoterpen alkoldür. Bu doğal molekül; antibakteriyel, antiinflamatuvar, antianjiogenik ve antioksidatif gibi farklı etkilere sahiptir. Yapılan çalışmalar geraniolün karaciğer üzerindeki koruyucu etkisini göstermiştir.

Çalışmamızda, sıçanlarda siklofosfamidin sebep olduğu karaciğer hasarında geraniolün antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

42 adet Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 6 gruba ayrıldı. Deney, toplamda 14 gün sürdü. İlk 7 gün sadece geraniol uygulandı, ikinci hafta geraniol ve siklofosfamid uygulaması birlikte devam etti. Siklofosfamid; 500mg/10 ml'lik ampullerden kullanılarak, intraperitoneal yolla enjekte edildi. Geraniol, iki farklı dozda (100 mg/kg ve 200 mg/kg) ve mısır yağı içerisinde seyreltilerek oral gavaj yoluyla verildi.

Uygulamaya başlamadan önce ve çalışma sonunda sıçanlar tartılıp ağırlıkları kaydedildi. 14 gün süren uygulama sonunda anestezi altında enjektörle deneklerin kalplerine girilerek tüplere kan örnekleri alındı. Kan örneklerinden aspartataminotransferaz (AST), alaninaminotransferaz (ALT), alkalenfosfataz (ALP), total antioksidan durum (TAS), total oksidan durum (TOS) parametreleri çalışıldı. Kan örnekleri alındıktan sonra sakrifiye edilen sıçanların karın boşlukları açılarak alınan karaciğer dokuları makroskopik olarak incelendikten sonra mikroskopik bulgular yönünden değerlendirilmek amacıyla çıkarıldı. Mikroskopik inceleme, alınan kesitlere rutin hemotoksilen-eozin boyaması, toluidin mavisi boyaması ve immünohistokimya ile NF-κB markerlarına bakılarak değerlendirildi. TUNEL yöntemi ile de apoptotik hücre oranı değerlendirildi. Biyokimyasal veriler ve TUNEL, Tek Faktörlü Varyans Analizi (One-Way Anova); histolojik değişiklikler ve immün boyama ise Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Sonuç olarak Ge'nin CP toksisitesi üzerinde, her iki kullandığımız dozda da etkili olduğu bulundu.

Anahtar kelimeler: Geraniol, H&E, Karaciğer, Siklofosfamid, TUNEL

ABSTRACT

Cyclophosphamide is an alkylating agent used as an immunosuppressive in autoimmune diseases, organ transplantations and as a chemotherapeutic in different malignancies. Therapeutic uses of cyclophosphamide are associated with different side effects and organ toxicity. Oxidative damage which is occurred by the metabolism of cyclophosphamide, plays an important role in toxicity.

Geraniol is an acyclic monoterpenoid alcohol found in essential oils of plants such as rose, lavender and lemon. This natural molecule possesses various effects such as antibacterial, antiinflammatory, antiangiogenic and antioxidative. Studies have demonstrated the protective effect of geraniol on liver.

In our study, it was aimed to investigate antiapoptotic and antiinflammatory effects of geraniol in liver damage caused by cyclophosphamide in rats.

42 male Wistar Albino rats were used. They divided into six groups. The experiment took 14 days in total. Only geraniol was administered for the first 7 days, then geraniol and cyclophosphamide used together for the second week. Cyclophosphamide used as 500 mg / 10 ml ampoules and it was injected intraperitoneally. Geraniol was given in two different doses (100 mg/kg and 200 mg/kg) via oral gavage by dissolving in corn oil.

The body weights recorded in the beginning and at the end of the experiment. Blood samples were taken to tubes with syringes from the hearts of subjects under the anesthesia at the end of 14 days. Blood serum analyzed for TAS, TOS, ALT, AST. Rats were sacrificed after blood samples were taken and abdominal cavity opened. Subsequently the liver examined macroscopically and then harvested for microscopic examination. Tissue sections examined by staining with hematoxylin eosin, toluidine blue and with immunohistochemistry looking to NF-kB markers. Apoptotic index evaluated with TUNEL. The biochemistry and TUNEL results were compared using one-way ANOVA and immunohistochemistry were compared using the Mann-Whitney U-Test. We found that both the two dosage of GE that we used treats the toxicity of CP

Key words: Cyclophosphamide, Geraniol, H&E, Liver, TUNEL

1. GİRİŞ

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KARACİĞER

2.1.1. Karaciğer Anatomi ve Fizyolojisi

Karaciğer abdomen denilen karın boşluğunun üst kısmında yer alır. Sağ hipokondriyak alanın tümünü ve epigastrik alanının ise büyük çoğunluğunu kaplar. Kişiden kişiye değişmekle birlikte, sol hipokondriyuma da uzanır. Vücudumuzdaki en büyük organ olan karaciğer; erkeklerde ortalama 1500 gr, kadınlarda 1300 gr'dır.

Anatomik olarak karaciğer iki büyük (sağ ve sol) ve iki küçük (kuadrat ve kaudat) loba ayrılır. Diğer abdominal organlarla ilişkisini nitelendirmede bu bölünmeler önemlidir. Fonksiyonel ya da cerrahi segmentasyon da kanlanma ve safra drenajına karşılık gelir ve klinik anlamda önem taşırlar. Sağ lob toplam karaciğer hacminin %50-70'ini oluşturur. Karaciğerin sağ lobunun üst kısmı beşinci kosta veya beşinci interkostal aralığa kadar uzanır. Karaciğerin en üst noktası; vücudun sağ lateral hattı civarında olup meme başının 1 cm aşağısındadır. Sol lobun üst kısmı altıncı kaburgaya kadar uzanır ve burada diyafragma ile komşuluk yapar (Floch 2011; Saladin 2017; Tortora ve Derrickson 2017).

Karaciğer piramidimsi bir şekle sahiptir. Piramidin tepesini sol lobun ince ve yassılaştırmış olan sol tarafı oluştururken tabanını sağ lateral yüzeyi oluşturur. Taban diyafragma üzerindedir ve göğüs kafesi ile komşuluğundan ötürü kostal izler bulundurulur. Karaciğerin anterior, posterior ve inferior yüzleri bulunur. Ön kenarı anterior ve inferior yüzleri arasındadır (Moore ve Dalley 2007).

Karaciğerin yoğunluğu, yüzlerinin düzgünlüğü, kenarlarının keskinliği ve solunum esnasındaki hareketlerine bakarak klinik bulgular elde edilir. Karaciğerin yüzleri net sınırlarla ayrılmamıştır ancak karın açıldığında ilk olarak karaciğerin ön yüzü görülür.

Karaciğer; fibröz bağ dokusundan oluşan Glisson kapsülü ile sarıdır. Karaciğerin sağ böbrek ve sağ suprarenal bezle komşu olduğu, vena cava inferior'un

sağ tarafında yer alıp *area nuda* olarak isimlendirilen alan haricindeki tüm kısımları seröz bir yapı olan viseral peritonla çevrilidir. Diyafragmadan ve karın ön duvarından karaciğere doğru peritoneal katlantılar oluşarak bağları oluşturur. Bu bağların karaciğeri mevcut pozisyonunda tuttuğu düşünülmektedir ancak son zamanlarda karaciğerin, var olan karın içi basıncından ötürü pozisyonunu koruduğu düşüncesi ağır basmaktadır (Snell 2004; Sancak ve Cumhuriyet 2008).

Horizontal bir peritoneal katlantı olan koroner ligamentin sol ucu *appendix fibrosa hepatis* ile bağlıdır, sağ lateral kısmı serbesttir ve *ligamentum triangulare extrumum* oluşturur. Karaciğerin sağ lobunun üzerinde, koroner ligamentin tabakaları arasında areolar bağ dokusu bulunur.

Falsiform ligament de bir peritoneal katlantıdır ve koroner ligamentin orta kısmından başlar. Diyafragma ile umbilikus hizasına uzanıp karın ön duvarına bağlanarak karaciğeri sağ ve sol loblara ayırır. Longitudinal fissurdan alt yüze doğru uzanıp round ligamenti (*ligamentum teres hepatis*) oluşturur (Trelease 2017; Eckel 2017; Marieb ve ark. 2017).

Metabolik	Sentetik	İmmünolojik	Rejeneratif	Hemostaz
Ksenebiyotik metabolizma	Koagülasyon faktör sentezi - Prokoagulant - Antikoagulant - Fibrinolitik - Antifibrinolitik	Doğal bağışıklık	Hepatektomi veya travma sonrası onarım	İntravasküler volüm düzenleme -Renin -Anjiyotensin -Aldosteron
Protein metabolizması -amonyak -detoksifikasyon	Plazma protein sentezi - Albumin	Edinilmiş bağışıklık		Glukoz hemostazı
Lipid metabolizması - β oksidasyon - trigliserid	Steroid hormon sentezi -kolesterol			Portal akımı düzenleme

Glukoz metabolizması -glukoneogenez -glikojenez -glikojenez	Trombopoietin Anjiyotensinojen insülin benzeri büyüme faktörü- 1(IGF-1)		
--	---	--	--

Tablo 2.1.1: Karaciğerin görevleri (Mulaikal ve Emond 2012)

Karaciğerin vücudumuzda edindiği birçok görev bulunmaktadır. Bunlar tablo 1’de gösterilmektedir.

Karaciğere dakikada ortalama 1050 ml’si portal venden, 300 ml’si hepatik arterden olmak üzere toplam 1350 ml kan gelir ve bu kardiyak kan çıkışının %25’i kadarını oluşturur. Hepatik arter çoğunlukla çölyak arterden köken alır, sağ ve sol lobları besleyebilmek için de intrahepatik segmentlere ayrılır (Guyton 2001; Wagener 2012).

2.1.2. Karaciğer Embriyolojisi

Karaciğerin ilkel yapısı 3. haftanın ortalarında belirmeye başlar. Önbağırsağın distal ucunun endodermal epitelinden ventral bir çıkıntısı şeklinde oluşur. Bu yapı septum transversumdan (perikardiyal boşluk ve vitellüs kesesinin sapı arasındaki splanknik mezodermal alan) BMP (Bone Morphogenetic Proteins)2, 4, 5 ve 7’nin ve kardiyak mezodermden FGF(Fibroblast Growth Factor)1, 2 ve 8’in oluşturduğu sinyallerin etkisiyle oluşur, hepatik çıkıntı veya karaciğer tomurcuğu olarak adlandırılır ve septum transversuma nüfuz eden, hızlı çoğalan hücrelerden oluşur (Can 2014; Sadler 2015).

Divertikül, gelişmekte olan mide ve kalp arasındaki septum transversuma doğru büyüyerek bu alanı doldurur ve karın boşluğuna doğru kaudal bir çıkıntı yapar. Septum transversum bu bölgedeki ventral mezogastriyumu oluşturur. Karın ön duvarı ile karaciğerin ventral duvarı arasındaki bölgenin septumu incilir ve karaciğerin falsiform ligamentini oluşturur. Karaciğerin arkası ve mide arasındaki bölüm ise küçük omentumu oluşturur. Bu iki alan midenin önünde kalarak ventral mezogastriyumu oluşturmuş olurlar. Hepatik divertikül, hızla büyür ve ventral mezogastriyumun iki parçası arasında gelişen iki parçaya bölünür (Eşrefoğlu 2016)

Hepatik divertikülün geniş olan kraniyal kısmı karaciğer taslağıdır ve *primordium hepaticum* ismini alır. Kaudal kısmıysa safra kesesini oluşturur. Çoğalan endodermal hücreler, karaciğer içindeki safra kanallarını döşeyen epitel hücrelerini ve hepatosit kordonlarını oluştururlar. Epitelyal karaciğer kordları vitellin ve umblikal venlerle karışır, endotelle döşeli boşlukların çevresinde ağ oluşturur ve hepatik sinozoidleri meydana getirirler. Karaciğer kordları karaciğer hücrelerini oluşturan parankime dönüşür ve safra kanallarını çevreler. Karaciğerin fibröz dokusu, Kupffer hücreleri ve hematopoietik dokusu septum transversum mezenkimi kaynaklıdır.

Kraniyal kısmı haricinde karaciğerin yüzeyini örten mezoderm viseral peritona dönüşür. Kalan kısmın, septum transversumdan kalan alanla teması devam eder. Septumun bu kısmı sıkıca paketlenmiş mezodermden oluşur ve diyaframın merkezi tendonunu oluşturur. Gelecekteki diyaframla komşu olan alan peritonla hiçbir şekilde kaplanmaz ve karaciğerin açık, çıplak alanı olarak adlandırılır.

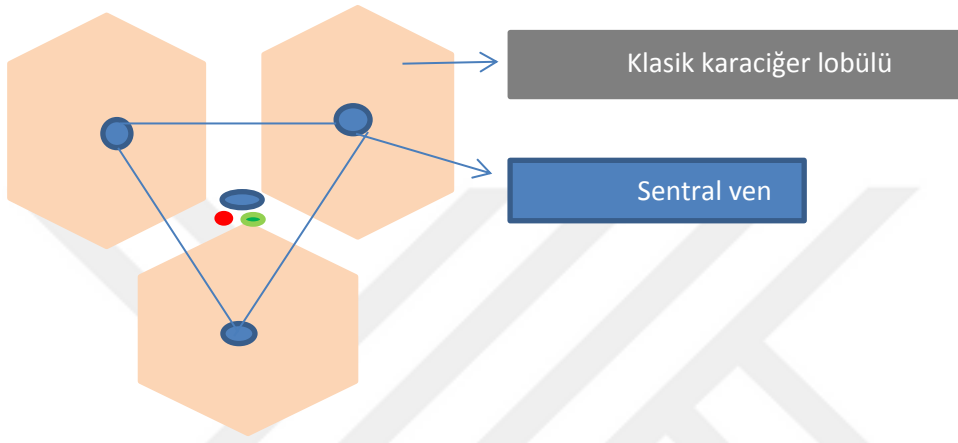
Karaciğer hızla büyür ve beşinci haftadan onuncu haftaya kadar üst abdominal kavitenin büyük bir kısmını kaplar. Karaciğerin gelişimi ve fonksiyonel segmentasyonu umblikal venden gelen kanın oksijen miktarı ile yakından ilişkilidir. Gelişimin başlangıcında karaciğerin sağ ve sol loblarının büyüklüğü aynı olup sağ lob zamanla daha fazla büyür.

Gelişimin 10. haftasında karaciğerin ağırlığı toplam vücut ağırlığının %10'u olur. Bu durum çok sayıdaki sinüzoidlere bağlanmakla birlikte hematopoetik fonksiyon da son derece önemlidir. Karaciğerde hematopoez altıncı haftada başlar. Kırmızı ve beyaz kan hücrelerini oluşturan birçok hücre, karaciğer hücreleri ve damar duvarları arasında yerleşmiştir. Karaciğer parlak, kırmızı bir renk alır. Onikinci haftada karaciğer hücreleri safra üretimine başlar. İntrauterin hayatın son 2 ayında karaciğerdeki hematopoez büyük oranda biter ve doğumda bu hücre topluluklarından çok az bir kısmı kalır. Karaciğer ağırlığının toplam vücut ağırlığına oranıysa 5% olmuştur.

Karaciğerin bir diğer önemli fonksiyonu, 12. haftada, karaciğer hücreleri safrayı üretmeye başlayınca başlar. Safra kesesi ve kistik kanal yeni oluşmuş ve safra kanalını oluşturmak üzere hepatik kanalla birleşmiştir (Moore 2016).

2.1.3. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer parenkimal bir organdır. Lobüller dediğimiz fonksiyonel birimlerden oluşur. Bu lobüller birbirleriyle komşuluk yapan sinüzoid boşluklarıyla çevrelenen hepatosit plaklarından oluşur.



Şekil 2.1.3: Klasik karaciğer lobülü ve portal lobül

Üç sınıf lobül vardır (Şekil 2.1.3):

- 1- Klasik karaciğer lobülü: Altıgen şekillidirler. Ortalarında sentral ven ve köşelerinde portal alanlar bulunur. Her bir portal alanda; bir portal ven dalı, bir hepatik arter dalı ve bir safra kanalı bulunur. Histolojik tanımlamada klasik karaciğer lobülü kullanılır.
- 2- Portal lobül: Komşu 3 klasik lobülün sentral venleri köşeleri olan üçgen alandır. Portal lobül alanındaki safra kanallıkları portal lobülün merkezdeki safra kanalına akar.
- 3- Karaciğer asinüsü: İki komşu klasik lobülün sentral venleri arasındaki alan arteryel akışa göre 3 adet bölgeye ayrılmıştır.

Portal alandaki hepatik arter ve portal venden gelen kan sinüzoidlerden akarak sentral vene akar, bu akışa ters istikamette de safra akışı olur.

2.1.3.1. Hepatositler

Lobülün ekzokrin ve endokrin olarak fonksiyonel olan hücresidir. Bir, bazen de iki adet ökromatik, yuvarlak nükleus içeren hepatositler poligonal şekillidirler. Karaciğer kütlelerinin %75-80'ini oluşturan hepatositlerin yaşam süreleri 250 gün civarındadır (Can 2014). Sitoplazmalarında bol miktarda GER (granüllü endoplazmik retikulum), aGER (granülsüz- agranüler endoplazmik retikulum), mitokondri, lizozom, glikojen ve lipid damlacıkları bulunur. Hepatositlerin bir yüzü perisinüzoidal Disse aralığına bakar. Bol mikrovilluslu olan bu alanda sinüzoidal kan ve hepatositler arasında madde alış verişi gerçekleşir. Bu alanda kalan fazla sıvı lobülün periferindeki Mall aralığından emilir.

Hücrelerin birbirlerine bakan yüzlerinde oluşan hücreler arası alanda safra kanalikülleri bulunur. Bunlar lobülün periferinde Hering kanalı olarak devam ederler.

2.1.3.2. Sinüzoidal Endotel Hücreleri

Sinüzoid duvarlarını döşeyen, aralıklı yerleşmiş, pencere hücrelerdir. Altındaki bazal membranın bir bütünlüğü yoktur. Hepatositlerle aralarında Disse aralığı denen boşluk bulunur.

2.1.3.3. Kupffer Hücreleri

Karaciğerdeki makrofajları oluşturan Kupffer hücreleri yıldızimsı şekil veren sitoplazmik uzantılarıyla sinüzoid duvarına tutunurlar. Yabancı antijenleri fagosite ettikleri gibi demiri ve hasarlı eritrositleri de fagosite ederler.

2.1.3.4. Yıldız (İto) Hücreleri

Yağ depolayan hücreler olarak da isimlendirilen bu hücreler perisinüzoidal alanda bulunurlar. Karaciğer hücrelerinin toplam %5 kadarını oluştururlar. Sitoplazmalarındaki yağ damlacıklarında A vitamini depolar ve retinol olarak salıp retinadaki rodopsin pigmentinin oluşumunu sağlarlar.

Miyofibroblastlara farklılaşmış proteoglikanlar, matriks proteinleri, kollajen lifleri gibi bağ dokusu elemanlarını üretirler. Kronik inflamasyon durumlarında miyofibroblastlara dönüşerek fibrozis oluşturur ve hasar görmüş hücrelerin yerine geçerler.

Hasar sonrası proliferasyona uğrar ve lipid damlacıklarındaki antijenlerini lenfositlere sunarlar. Desmin ve α -aktin içeren bu hücreler sinüzoid duvarın çapını ayarlayıp direncini düzenlerler.

2.1.3.5. Pit hücreleri

Sinüzoid duvarında bulunan doğal öldürücü hücrelerdir. Karaciğerde bu hücreler harici başka doğal öldürücü lenfositler de bulunur. Bazı sitokinler salgılayarak immun sistem aktivasyonu yaparlar. Kupffer hücrelerine bağımlı olarak yaşarlar.

2.2. MAST HÜCRELERİ

Kemik iliğinden, bazofille aynı progenitör hücreden köken alırlar. Öncül hücreleri sitoplazmik granüller içermezken bağ dokusunda çoğalan hücrelerinde granüller biriktirirler (Kierszenbaum 2006). İnflamatuvar ve immun cevap ortaya çıkarırlar. Heparin, histamin, sitokinler, kemotaktik faktörler ve arşidonik asit gibi maddeler salgırlar. Histamin; vazodilatasyona sebep olup venüllerin ve kapillerlerin geçirgenliğini arttırarak ödem oluşturur, bölgeye lökosit ve monosit biriktirmeye başlar. Mukozal ve bağ dokusu mast hücreleri olarak iki gruba ayrılırlar. Granül sayısı, büyüklük ve fonksiyonel olarak iki grup arasında farklılıklar vardır (Ovalle ve Nahirney 2009).

Granüllerinin içeriklerine göre de; sadece triptaz, triptaz ve kimaz içeren olarak ikiye ayrılırlar. Histaminin vazodilatasyon etkisine ek olarak T lenfositler, B lenfositler, doğal öldürücü hücreler, epitelial hücreler üzerine de etkileri vardır.

Mast hücreleri içeriğine göre immünsupresif, proinflamatuvar veya tümör oluşumunu inhibe edici veyahut uyarıcı etki gösterebilirler. Toluidin mavisi, Alsiyan mavisi gibi boyalarla metakromatik boyanırlar (Bayramgürler ve Demirsoy 2013).

2.3. SİKLOFOSFAMİD

Siklofosfamid (CP); farklı kanser türlerinde ve immünsupresif amaçlı yaygın olarak kullanılan, yüksek derecede etkili alkilleyici bir ajandır (Fraiser ve ark. 1991).

Nitrojen mustard sınıfında olan CP; sitotoksik ve alkilleyici bir ajan olup malign ve benign tümörlerin tedavisinde kullanılmaktadır. İmmünosupresif etkisinden ötürü de romatoid

artrit, multipl skleroz ile sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde ve organ transferlerinde de kullanılmaktadır.

2.3.1. CP toksisitesi

Siklofosfamidin terapötik uygulamaları farklı yan etkilerle ve organ toksisitesiyle birliktelik göstermektedir (Fraiser ve ark. 1991). Siklofosfamid toksisitesi; siklofosfamidin metabolize edilmesi esnasında üretilen akrolein, fosforamid gibi toksik metabolitlerine bağlı olarak görülür. Kimyasal olarak reaktif olan bu metabolik ürünler DNA'nın çapraz bağlarında ve DNA'nın kendisinde alkilleyici etki oluşturup sitotoksikite yaparlar (Asiri 2010). Akrolein yanmış organik gıdalar, böcek ilaçları ve sigarada da bulunur. Akrolein, indirgenmiş glutatyona (GSH) bağlanabilir ve böylelikle reaktif oksijen türevlerinin (ROS) fazlaca üretimine ve daha sonra oksidatif stres ile lipid peroksidasyonuna sebep olur (Alqahtani ve ark. 2016). Sonraki aşamada nükleer faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolağı aktive olur ve inflamatuvar sitokinlerin üretiminde artış meydana gelir. NF-κB proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu indükleyerek inflamasyonda önemli bir rol oynar. NF-κB'nin ortaya çıkması indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) aktivasyonunu da artırır (Luedde ve ark. 2011). Serbest radikal temizleyicisi ve antioksidan özelliği olan ajanların siklofosfamidin sebep olduğu oksidatif stres ve hepatotoksiteden koruma sağladıkları çalışmalarda gösterilmiştir (Cuce ve ark. 2015; Nafees ve ark. 2015; Duggina ve ark. 2015; Ettaya ve ark. 2016).

2.4. APOPTOZİS

Apopitozis eski Yunancada sararmış yaprakların dökülmesi anlamında kullanılmıştır. Güncel olarak da 'hücre ölümü', hücre kaybı, programlanmış hücre ölümü olarak kullanılmaktadır.

Hücreler doğar, yaşar ve ölürlür. Hücre tipine göre yaşam süresi de değişir. Travma ve kaza sonrası oluşan nekrozis hariç olan ölümler apoptozis olarak adlandırılan programlanmış hücre ölümü ile meydana gelir.

Embriyolojik gelişimde ve yetişkin dokularda önemli bir rol oynayan hücre ölümü fizyolojik olan programlanmış hücre ölümüdür. Bu durum; dokulardaki hücre sayısının sabit tutulmasını ve hücre proliferasyonunun dengede olmasını, tehlikeli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlar (Lüleyap 2008).

DNA'da oluşan zararlı mutasyonlardan hasar gören hücreler, apoptozis yoluyla hasarlı hücreden arındırılır. Embriyolojik gelişimde farklılaşan dokuların yapısındaki taslak hücrelerin temizlenmesinde de programlanmış hücre ölümü etkilidir.

Bazı hücrelerde apoptozis sürekli oluşmakta ve yaşam boyu bu döngü devam etmektedir. Böylece yıkım-yapım, ölüm-yaşam arasındaki dinamik denge korunmaktadır. Bu denge bozulduğunda bir takım bozuklukların, hastalıkların oluşması kaçınılmazdır.

Denge apoptozis lehine bozulduğunda; AIDS, nörodejeneratif hastalıklar, insüline bağımlı diyabet, arteriosklerozis, enfarktüsler, hepatit C enfeksiyonu gibi hastalıklar oluşurken; kanser ve otoimmün hastalıklar da apoptozis azaldığında görülür (Nagata ve Nakano 2017).

Apoptozis, hem hastalıkta hem sağlıkta görülen bir ölüm şekli olup; nekrozis fizyolojik olmayan, patolojik, bir ölüm şekli olmasına karşın sıklıkla karıştırılırlar. Nekroziste, hücreye aşırı su girip hücre şişerken; apoptoziste, hücreler aksine küçülür. Nekroziste hücre, normal hücredeki kromatin görünümüne sahipken apoptoziste, nükleus membranı çevresinde toplanarak yoğunlaşmış bir hücre kromatini olur. Nekroziste hücre membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücrenin içinden dışına doğru içerik kaybı olur. Apoptozisteyse hücre içeriği membranla kaplanır ve inflamasyon oluşmaz (Lüleyap 2008).

DNA'nın internükleozomal bölgelerinden 50kb uzunlukta veya 180-200 baz çift kesilmesi apoptozis için önemli bir özelliktir. DNA fragmentasyonu jel elektroforezinde merdiven görüntüsü oluşturur ve bu önemli bir apoptozis kriteridir.

Apoptozise uğrayan hücrelerin dokulardan uzaklaştırılmaları etkili bir şekilde olurken akut yaralanma gibi durumlarda hücreler içeriklerini ekstraselüler alana salarak programsız ölürler.

Apoptozis ilk önce *Caenorhabditis elegans* türü bir kurtçukta görülmüştür. Hermafrodit türde bulunan 1090 hücreden 131'i, erkek cinsiyetindeyse 1178 hücreden 147 belirli hücrenin gelişim esnasında öldüğü saptanmıştır. Yapılan daha detaylı çalışmalarda *C. elegans*'ın gelişiminde düzenleyici rolü olan ve apoptozis sürecine de etki eden 3 adet gen bulunmuştur. Ced-3 ve Ced-4 gen ekspresyonunun hücre ölümü için gerektiği, Ced-9 genininse apoptozisi önlediği görülmüştür. Ced-9 geninin fazla veya az ekspresyonunun canlıda hücre ölümünü kontrol eden asıl etkenin olduğu görülmüştür (Abelson ve ark. 2014).

2.4.1. Apoptozis Düzenleyicileri

Programlı hücre ölümü ya da apoptozis çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda oluşan intrinsik bir ölüm programıdır. Apoptozis ayrıca doku hemostazı için kritik olan fizyolojik bir süreçtir. İmmün cevabın düzenlenmesi için gereklidir. Apoptozisin ana regülatörleri kaspazlar, Bcl-2 ailesi, Tümör nekroz faktör (TNF) ailesi, ve/veya apoptozis protein inhibitörleridir (IAPs) (Muganda 2016).

2.4.1.1. Kaspazlar

Kaspazlar hedef olan hücrede apoptozisi gerçekleştiren sistein proteaz grubundandır ve ilk sentezlendiklerinde inaktif zimojen veya pro-kaspaz olarak bulunurlar. Apoptozisin indüklenmesiyle inaktif form aktif forma dönüşür. Aktivasyonları apoptozisin belirteçidir. Olgunlaşma üzerine, prokaspazlar büyük ve küçük subunit arasından proteolitik süreç ile küçük ve büyük subunit olarak sonuçlanırlar (Ntuli 2015). Fonksiyonlarına göre, kaspazlar 3 grupta sınıflandırılır: (1) inflamatuvar kaspazlar- bu grup apoptozis yerine inflamasyonda görev alan kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13 ve 14 ü içerir; (2) apoptotik başlatıcı kaspazlar, iki uzun prodomainden birine sahip olan; ölüm efektör bölgesi (DED) (kaspaz 8 ve 10) ya da kaspaz aktivite ve destek bölgesi (CARD) (kaspaz 2 ve 9) ve (3) apoptozis uygulayıcı kaspazlar. Bu cellat sınıfı (kaspaz 3, 6, 7) kısa prodomainin varlığı ile karakterizedir. Apoptotik sinyal ölümü, adaptör proteinlerinin oligomerizasyonunu tetiklerken ölüm adaptör oligomerleri ise prokaspazların birleşmesini indükler. (Ding ve Yin 2017).

2.4.1.2. IAPs

IAPs evrimsel olarak korunan apoptozis supresor ailesini temsil etmektedir. Her ne kadar IAPs ailesi proteinleri başka fonksiyonlar gerçekleştirebilse de, çoğunun kaspazlara bağlanıp kuvvetlice apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir. İnsan IAPs ailesi üyeleri XIAP, cIAP1 ve cIAP2 tarafından inhibe edilen kaspazlar arasında efektör kaspaz 3 ve 7 gibi başlatıcı kaspaz 9 bulunmaktadır (Hockenbery 2016). IAP ekspresyonu transkripsiyon faktör aktivasyonu gibi büyüme faktör reseptörlerinden gelen yaşamsal sinyallere cevap olarak upregüle olabilir. Nükleer faktör kappa B (NF-κB), ancak apoptozis sinyalini baskılamak için araç sağlar. Çoklu IAP ailesi üyelerini bağlayan ve kaspazların apoptozisi indüklemesine olanak sağlayan IAP inhibitörü SMAC/Diablo son dönemde tanımlanmıştır (Abelson ve ark. 2014).

2.4.1.3. Bcl-2 ailesi

Bcl-2 ailesi Bcl-2 homoloji bölgesi olarak bilinen, korunan bölgelerdeki dizi homolojisini paylaşan hem proapoptotik hem de antiapoptotik proteinleri içerir. Bcl-2 ve Bcl-XL gibi tüm antiapoptotik üyeler ile Bax ve Bak gibi proapoptotik aile üyeleri alt kümesi içinde 3 ya da 4 BH (Bcl-2 homology) bölgesi dizi homolojisi paylaşan çok bölgeli proteinlerdir.

2.4.1.4. p53

p53 fonksiyonlarının en önemlilerinden birisi, onların apoptozisi aktive etme yeteneğidir. Bu sürecin bozulması tümör gelişimine ve kemodirence önyak olur. p53 tümör supresör proteinleri hücre döngüsünün ilerlemesini engelleyerek hasarın onarılması için zaman sağlar ya da Bcl-2 ailesi BH-3-yalnız proteini Puma (p53 upregüle modülatör apoptozis) upregülasyonu aracılığıyla büyük ölçüde apoptozisi indükler. p53 ile transkripsiyonel olarak düzenlenen apoptozis ile ilişkili birçok gen tanımlanmıştır. p53 bağımlı apoptozis çoğunlukla radyasyon, ultraviyole (UV) yada viral enfeksiyon sebebiyle oluşan DNA hasarını takip eder. p53-bağımsız yolak genellikle büyüme faktörü eksikliğine bağlı oluşur. p53'ün DNA hasarı tarafından aktivasyonu, ya hücre siklusunun durmasını ya da apoptozisi indükler. p53, Bax transaktivasyonu, sitozolden membrana Bax translokasyonu, mitokondriden sitokrom c serbestleşmesi ve kaspaz 9 aktivasyonu ile takiben kaspaz 3, 6, 7 aktivasyonunu içeren doğrusal yolak aracılığıyla apoptozisi düzenler (Başaran 2010).

2.4.2. Apoptozis Sinyal Yolağı

Apoptozis hücrenin içinden ve dışından çok çeşitli sinyallere yanıt olarak indüklenebilir. Apoptotik süreç iki yolak içerir: (1) mitokondriden sitokrom c nin serbestleşmesi- intrinsik yolak ve/ya da (2) hücre yüzey ölüm reseptörlerinin aktivasyonu-ekstrinsik yolak.

2.4.2.1. İntrensik yolak

İntrensik apoptotik yolağın, merkezi düzenleyicisi mitokondridir. İntrensik apoptotik yolak hücrenin içinde başlatılır. Çok sayıda sitotoksik uyarı ve proapoptotik sinyal dönüştürücü molekül dış mitokondriyal membran geçirgenliğini indüklemek için mitokondride birleşir. Mitokondri enerji üretimi için önemli hücre içi organel olarak bilinir. Mitokondri ayrıca Ca hemostazında ve oksidatif stresin düzenlenmesinde anahtar rol

oynamaktadır. DNA hasarı ya da diğer genotoksik faktörler tarafından mitokondrinin fonksiyonunun bozulması geri dönüşümsüz olaya, apoptotik hücre ölümüne yol açar. İntrinsik apoptotik yolak ayrıca 'mitokondriyal yolak' olarak da adlandırılır. Mitokondriyal yolaktaki asıl olay mitokondriyal dış membran permeabilizasyonudur (MOMP). MOMP asıl olarak Bcl-2 aile üyeleri tarafından düzenlenir ve kontrol edilir. Bcl-2 ailesinin antiapoptotik (Bcl-2, Bcl-XL ya da Mac1) ya da proapoptotik (Bax, Bak ya da Bik) fonksiyonlu birçok proteini mitokondrinin dış membranında bulunur. Sağlıklı hücrelerde, Bak molekülünün küçük bir miktarı voltaj bağımlı anyonik kanala (VDAC) geçirgenlik değişiminin parçası bağlıdır. Antiapoptotik molekül olan Bcl-2 ve Bcl-XL mitokondriden sitokrom c'nin translokasyonunu engeller (Hockenbery 2016).

Oksidanlar, aşırı kalsiyum yüklemesi ya da seramid gibi spesifik uyarılar mitokondriyal iç membran potansiyelinde düşüşe sebep olur ve mitokondriden sitokrom c salınımı ile sonuçlanır. Aktif Bax/Bak sitokrom c salınımına sebep olur, sonra bu da APAF-1 (Apoptotik Proteaz Aktive Edici Bölge-1) e bağlanır ve onun oligomerizasyonuna sebep olur. Sitokrom c'nin mitokondriyal intermembran aralığından sitozole salınımı, sitokrom c, APAF-1 ve dATP içeren apoptozom formasyonuna katkıda bulunur. Kaspaz 9 komplekse katılır ve bu süreç ile aktive olur. Bir başka başlatıcı kaspaz olan kaspaz 9 apoptozom ile aktive olur. Aktive kaspaz 9 bölünür ve böylece efektör kaspazları (özellikle kaspaz 3) aktive eder ve aktif efektör kaspazlar diğer efektör proteinlerin bölünmesiyle apoptozisin morfolojik işaretlerine sebep olur. Apoptozis sırasında, hücre birçok morfolojik ve biyokimyasal değişikliğe uğrar. Endonükleaz aktivitesi nedeniyle, kromatin oligonükleozomal fragmanlara bölünür. Son dönemde apoptotik hücrelerin plazma membranındaki yapısal değişikliklerin hücre ölüm sürecinin sinyallerinin çevreye verilmesinde fonksiyonel oldukları gösterilmiştir. Kaspazlar, calpainler, katepsinler ve/veya serin proteazların dahil olduğu aktive proteazlar farklı yollarla DNAzların aktivasyonunu desteklerler. Efektör kaspazlar DNA onarım enzimi olan poly-ADP-riboz polimeraz (PARP) 'ı bölüp inaktive eder. Retinoblastom proteini gibi hücre siklus düzenleyicileri ve laminler, growth arrest- spesifik protein 2, gelsolin, fodrin, gibi sitoskelet ve nükleusun yapısal proteinleri ve protein kinaz- C- δ (PKC- δ) gibi yaşamsal proteinler hücre ölümüne sebep olur (Bozza ve ark. 2016).

Kaspaz 3, DNA onarımına katılan PARP nükleer proteininin bozulmasından sorumludur. Apoptozis uyarıcı faktör (AIF) mitokondride bulunan bir proapoptotik faktördür. Apoptozisi indüklemek için kromatin kondensasyonunu ve DNA bozulmasını tetikler (Wu 2014).

2.4.2.2. Ekstrinsik yolak

Ekstrinsik yolak başlıca (a) TNF-TNFR1, (b) FasL-Fas ve (c) TNF-ilişkili apoptozis uyarıcı ligand (TRAIL) DR4 ya da DR5'i içeren ligand bağımlı ölüm reseptörleri tarafından aktive edilir. Ölüm reseptörleri tümör nekroz faktör reseptör gen (TNFR) süperailisine aittir ve genellikle apoptozisin başlatılması dahil bir çok fonksiyona sahiptir. TNFR süperailisi ligantlar ile tip I reseptör bölgesi arasında bağlanmaya aracılık eden sistin-zengin bölgenin bulunmasıyla karakterizedir. Bunlar arasında, TNF-R1, Fas (ya da CD 95) ve TRAIL reseptörleri DR4 ve DR5 'ün dahil olduğu ölüm reseptörleri apoptozisin indüklenmesi için en iyi karakterize edilmiş olanlardır.

2.4.2.2.1. TNF yolağı

TNF başlıca makrofajlar tarafından üretilen multifonksiyonel bir proinflamatuvar sitokindir. Başlıca iki TNF reseptörü vardır; bunlar TNF-R1 ve TNF-R2'dir. TNF R1 çoğu dokuda aynı anda eksprese edilir ve TNF sinyalleşmesinin ana mediatörüdür, buna karşılık TNF-R2 asıl olarak immün sistemde bulunur ve sadece membrana bağlı TNF ile tam olarak aktive edilebilir. NF- κ B, JNK ve apoptozisin TNF-kaynaklı aktivasyonu yoğun olarak çalışılmıştır (Gosh 2007). NF- κ B çeşitli sinyallerle indüklenebilen, inflamasyon ve hücre ölümündeki ana düzenleyicilerden olan bir transkripsiyon faktörüdür. I κ B inhibitörü (I-KB) NF- κ B'ye bağlanıp, NF- κ B'yi transkripsiyonu düzenleyeceği çekirdeğe göndermeyip sitozolde sınırlandırarak onu inaktive eder. I κ B'nin yokluğunda, NF- κ B nükleer lokalizasyon sinyaline maruz kalır ve NF- κ B transkripsiyonu indükleyebileceği nükleusa yerleşir. NF- κ B'nin rolü aslında apoptozis ile ilişkili bir faktör olarak tanımlanmıştır. Bu süreç I κ B'nin I κ B kinaz (IKK) kompleksi tarafından fosforilasyonu ile tetiklenir. NF- κ B'nin farklı yollarla aktivasyonu apoptozisi destekleyen (Fas, c-myc, p53, DR ve kaspaz 11 gibi) ya da apoptozisi inhibe eden (IAP proteinleri, Bcl-2 benzeri proteinler gibi) proteinlerin aktivasyonuna sebep olur. NF- κ B aktivasyonunun inhibe edilmesinin apoptozisi güçlendirdiği sonradan gösterilmiştir (Courtois ve ark. 2016; Liou 2006). AKT'nin IKK'yı fosforillediği ve aktive ettiği raporlanmıştır. IKK'nin aktivasyonu, NF- κ B'nin antiapoptotik genlerin transkripsiyonunu indükleyebileceği nükleusa yerleşmesine yol açan, I-KB'nin fosforilasyon ve bozulmasına sebep olur. Bu yüzden Akt, NF- κ B'yi aktive ederek apoptozisi inhibe eder. TNF ayrıca stresle-aktive protein kinaz (SPAK)/c-Jun N-terminal kinaz (JNK) yolağının aktivasyonunu indükler. Aktivasyon durumunda, JNK kinaz nükleusa geçerek transkripsiyon faktörlerinin transkripsiyonel aktivitesini güçlendirir; örneğin, amino-terminal aktive edici

bölgelerinden fosforilasyon ile c-jun ve aktive edici transkripsiyon faktörü 2. AP-1 proteinleri, proliferasyon, farklılaşma ve indüksiyonun yanı sıra apoptozisin inhibisyonun dahil olduğu çeşitli hücrel süreçlerde önemli role sahiptir (Karin 2011).

2.4.2.2.2. FAS yolağı

Fas; hücrelerin sitotoksik T-Lenfosit (CTL) aracılı öldürülmesi (örneğin; virüslerin CTL aracılı öldürülmesi), inflamatuvar ve immün hücrelerin immün-ımtiyazlı bölgelerde yıkımı ve immün yanıtın sonunda kendi kendine tepkimeye giren B hücrelerinin ve aktive T hücrelerinin yok edilmesine katılmaktadır. Fas'ın Fas ligandına bağlanması ölüm bölgelerinin hücre içinde toplanmasıyla sonuçlanır, sonrasında endozomal yolağa açılmasıyla sonuçlanır. Bu, Fas ilişkili ölüm bölgesi (FADD) adı verilen adaptör proteinin her iki moleküldeki homolog ölüm bölgelerinin arasında etkileşim aracılığıyla reseptör ile birleşmesine izin verir. FADD ayrıca prokaspaz 8'in CD95-FADD kompleksine bağlanmasına izin veren DED içerir. Prokaspaz 8 (ayrıca FLICE olarak da bilinir) kendi efektör ölüm bölgesi aracılığıyla FADD ile ilişkilidir. Kaspaz 8, CD95 sinyalleşmesinde ana başlatıcı kaspazdır, 2 izoform halinde sentezlenir, her ikisi de aktive CD95 reseptörü ile aktiflenen kaspaz 8/a ve 8/b. FasL ile indüklenen ölüm-indükleyici sinyalleşme kompleksindeki Fas, FADD ve kaspaz 8 birikimi, indüklenmiş birleşme ve dimerizasyon kaspaz 8 in otoproteolitik işlenmesine yol açar, takiben işlenmiş aktive proteazlar serbestleşir . Hücreler Fas-indüklenmiş apoptozisde mitokondriyal yolak için ihtiyaca göre iki tipe bölünebilir. Tip I hücrelerde, işlenmiş kaspaz 8 kaspaz ailesinin diğer üyelerini doğrudan aktive etmek için gereklidir. Tip II hücrelerde, Fas tarafından uygulayıcı kaspazların yeterli aktivasyonu kaspaz 9-aktive edici apoptozomun oluşumunu yönlendirmek için amplifikasyon zincirinde Bid'in kaspaz 8-aracılı bölünmesine ve sonra SMAC/Diablo ya da sitokrom C gibi mitokondriyal proapoptotik faktörlerin salınımına dayanır. Aktif kaspaz 9, kaspaz 8'i aktive edecek olan cellat kaspaz 3'ü aktive eder (Wu 2014).

2.4.2.2.3. TRAIL yolağı

Fas gibi, TRAIL de immün yanıt ve tümör gözetimine katılır. 5 farklı TRAIL reseptörü tanımlanmıştır: ölüm reseptörü 4 (TRAIL-R), 125 Öldürücü/DR (TRAIL-R2, TRICK2), DCR1 (TRID, TRAIL-R3), DCR2 (TRUNDD ya da TRAIL-R4) ve osteoprotegerin. TRAIL tarafından indüklenen apoptotik sinyalleşme FAS tarafından indüklenmeye benzerdir. TRAIL'in DR4 ve DR5 reseptörlerine bağlanması FADD ve/veya

kaspaz 8 ve/veya 10 'un bir araya gelmesiyle ölüm indükleyici sinyalleşme kompleksinin oluşumunu tetikler. TRAIL-indüklenmiş apoptozis ayrıca Fas ile indüklenmiş tip II hücrelerindeki apoptozis gibi mitokondriyal yolağa katılır (Başaran 2010, Hockenbery 2016).

2.5. TERPENLER VE GERANIOL

Terpenler karbon sayılarına göre isimlendirilirler. İki adet izopren birimi bulunduran ve karbon atom sayısı 10 olan grup monoterpenlerdir.

Terpenlerin çoğu hidrokarbon oldukları gibi alkol, aldehit veya ketonlar gibi oksijen içeren bileşikler de olabilirler. Monoterpenler esansiyel yağların temel bileşenlerindedir. Diğer terpenler ise daha çok reçine, mum ve kauçuk gibi maddelerin ana bileşenleri olarak bilinirler (Güneş, 2010).

Tarih öncesi çağlardan beri bitkisel yağlar tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Aromaterapi de sık kullanılan çok eski bir bitkisel tedavi yöntemidir ve bitkilerin kokusu ile tedavi hedeflenmektedir. Günümüzde aromaterapi özellikle nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde halen kullanılmaktadır (Özçelik ve ark. 2011; Köse ve ark. 2012). Yağların içindeki çeşitli bileşiklerin gaz kromatografisi/ kütle spektrometrisi ile ayrılmasıyla daha detaylandırılmıştır, bileşiklerin etkisi üzerine odaklanmalar olmuştur (Başer 2009).

Geraniol; gül, lavanta, limon, yaban mersini, bergamot, havuç, kişniş, lavanta, ve diğer bazı bitkilerin esansiyel yağlarında bulunan asiklik monoterpen alkoldür (Liu J ve ark. 2013). Renksiz, gül kokusuna benzer bir kokuya sahip yağlı sıvı bir maddedir. Gül yağı ve gül suyundaki üç ana etkenden biridir (Baydar ve Baydar 2017). Kozmetik ve güzel koku üretimini de içeren ticari ürünlerde kullanımının yanısıra antimikrobiyal (Thapa ve ark. 2012, Kannappan ve ark. 2017, Yue ve ark. 2017), antiinflamatuar (De Fazio ve ark. 2016), antioksidan (Khan ve ark. 2013), antiülseratif, antikanserojen (Carnesecchi ve ark. 2002) ve nöroprotektif (Rekha ve ark. 2013, 2014), kardiyoprotektif (Crespo ve ark. 2017), antihelmintik, böcek öldürücü ve kovucu (Chen ve Viljoen 2010, Mullens ve ark. 2017) aktiviteleri de içeren geniş bir farmakolojik spektruma sahiptir. Geraniolün; hücre siklusu, hücre sağkalımı ve proliferasyonu, apoptozis, otofaji ve metabolizma gibi çeşitli biyolojik olaylardaki sinyal molekül ve yolağı kontrolünde etkin olduğu görülmüştür (Cho M ve ark. 2016, Ilc ve ark. 2016).

Geraniol, etkili bir antioksidandır ve geraniolün karaciğer üzerindeki koruyucu etkisi gösterilmiştir (Canbek M ve ark. 2017).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Doku örnekleri Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında incelenmiştir.

3.1. Etik Kurul ve Bilimsel Araştırma Proje Desteği

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna 14.07.2017 tarihli ve 2017-022 no'lu karar ile onay verilmiştir. Proje Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nce 171418005 no'lu karar ile desteklendi.

3.2. Deneysel Hayvanları

Çalışmamızda Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinde ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 4 aylık 42 adet Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart diyet ve çeşme suyu ile beslendiler. Çalışmada, 22 ± 2 °C oda sıcaklığı, % 60 nem oranı, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ritmi olan ortam kullanıldı.

3.3. Çalışma Grupları

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden elde edilen sıçanlar; I. Grup (n=7) Kontrol, II. Grup (n=7) CP 20 mg/kg uygulanan, III. Grup (n=7) Ge 100 mg/kg uygulanan, IV. Grup (n=7) Ge 100 mg/kg+CP 20 mg/kg uygulanan, V. Grup (n=7) Ge 200 mg/kg uygulanan, VI. Grup (n=7) Ge 200 mg/kg+CP 20 mg/kg uygulanan grup olmak üzere 6 gruba ayrıldı.

I: Kontrol grubuna; 14 gün boyunca mısır yağı oral + 8-14. günler arası izotonik NaCl (CP dilue edici) intraperitoneal (i.p) olarak verildi.

II: CP 20 mg/kg grubuna; 8-14. günler arasında 500mg/10ml olan flakonlardan, 20 mg/kg i.p olacak şekilde hesaplanıp uygulandı.

III: Ge 100 mg/kg grubuna; 14 gün boyunca günde bir kez geraniol 100 mg/kg oral olarak verildi.

IV: Ge 100 mg/kg+CP 20 mg/kg grubuna; 14 gün boyunca günde bir kez geraniol 100 mg/kg oral olarak, 20 mg/kg CP de sadece 8-14.günler arasında i.p olarak verildi.

V: Ge 200 mg/kg grubuna; 14 gün boyunca günde bir kez geraniol 200 mg/kg oral olarak verildi.

VI: Ge 200 mg/kg+CP 20 mg/kg grubuna; 14 gün boyunca günde bir kez geraniol 200 mg/kg oral olarak, 20 mg/kg CP de sadece 8-14.günler arasında i.p olarak verildi.

İşlemler 14 gün boyunca her gün aynı saatte uygulandı ve hiçbir grupta deney hayvanı kaybı yaşanmadı. Deney sonunda sıçanlar, intraperitoneal olarak uygulanan 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin anestezisi altındayken servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler.

3.4 Geraniol

Sigma Aldrich isimli firmanın 163333 (%98) kodlu Lot#MKBH7931V ürünü kullanılmıştır. Ge 100 mg/kg ve 200 mg/kg dozlarında mısır yağı ile emülsifiye olarak hazırlanmıştır. Hazırlama işlemi her gün her bir uygulama grubu için uygulamadan hemen önce ayrı ayrı hazırlanmıştır. Oral gavaj yoluyla deney hayvanlarının tolere edebileceği miktarları vermek hedeflendiği için bir tek seferde verilen miktar 0.25ml civarı tutulmuştur.

3.5 Siklofosamid

Eczacıbaşı firmasının Endoxan 500mg 1 flakon ürünü kullanılmıştır. İçerisinde serum fizyolojikten ibaret olan çözücüsü de mevcuttur. Sıçanların ağırlıklarına göre hesaplanıp hedeflenen doz günlük olarak ayarlanıp verilmiştir.

3.6. Vücut Ağırlıklarının Ölçülmesi

Deneye başlamadan önce ve deney sonunda, sıçanların vücut ağırlıkları tartılarak kaydedildi ve gözlenen değişimler deney sonu vücut ağırlığı farkı olarak adlandırıldı.

3.7. Dokuların ve Kan Örneklerinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan tüm deney hayvanları, çalışma sonunda ağırlıkları kaydedildikten sonra derin anestezi (Ketamin-Ksilazin) altındayken servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi ve hayvanların kalplerinden alınan kan örnekleri, antikoagülanlı steril tüplere aktararak etiketlendi. Örnekler daha sonra 3500 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilerek serumların ayrılması sağlandı. Ayrılmış olan serumlar ependorf tüplere alınarak çalışma zamanına kadar -40 °C'de saklandı. Hayvanların karın bölgeleri açılarak karaciğerleri çıkarıldı ve tespit edilmek üzere nötral formaldehit solüsyonuna yerleştirildi, 48 saat fiksasyondan sonra dokular takip işlemine alındı.

3.7.1 Oksidatif Stres Parametreleri

Serumlar total oksidan statü ve total antioksidan statü ELİSA kitleri ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında üreticinin talimatlarına uygun olarak ölçüldü. Bu ölçümden sonra TOS ile TAS'ın oranını gösteren ve oksidatif stres indeksi (OSI) adı verilen değer hesaplandı.

$$OSI = \frac{TOS}{TAS} \times 100$$

Elde edilen serumlardan ALT, AST seviyeleri incelendi.

3.8. Histolojik Uygulamalar

3.8.1. Nötral Formaldehit Tespit Solüsyonunun Hazırlanışı

Doku tespitinde kullanılan %10 nötral formaldehit solüsyonu Tablo 3.1'deki maddeler ve miktarlar baz alınarak hazırlandı;

Maddeler	Miktar
Na ₂ HPO ₄	6,5 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	3,5 g
Formalin	100 ml
Distile su	900 ml

Tablo 3.1. Nötral formaldehit solüsyonu hazırlamak için kullanılan maddeler ve miktarları

3.8.2. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Karaciğer dokuları 48 saat %10 nötral formaldehit içinde tespit edildikten sonra uygun büyüklükteki doku parçaları kesildi, daha sonra kodlanarak ve kasetlere yerleştirildi ve olağan doku takibi sürecine ile her hayvana ait parafin doku blokları hazırlandı. Parafin doku bloklarını hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Doku takip yöntemine ait süreler Tablo 3.2’de saat cinsinden verilmiştir.

Kimyasal	Uygulama süresi (dakika)
%70 Alkol	30
%80 Alkol	30
%95 Alkol	30
%95 Alkol II	30
%100 Alkol I	30
%100 Alkol II	30
Ksilol I	60
Ksilol II	60
%50 Parafin - %50 Ksilol	30
Parafin I	60
Parafin II	60
Parafin III	60
Bloklama	

Tablo 3.2. Doku takip yönteminde kullanılan uygulama süreleri

3.8.3. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Takibin ardından her bloktan Microm HM325 rotari mikrotom ile 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve her lam üzerine 3 kesit gelecek şekilde dokular lamaların üzerine alınarak lamalar isimlendirildi. Karaciğer dokusunda meydana gelen değişiklikleri gözlemlemek için her bir hayvanın karaciğer kesitleri ayrı ayrı Hematoksilen ve Eozin (H&E) ve toluidin mavisi ile boyandı.

H&E boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri Tablo 3.3. de, toluidin mavisi boyama yöntem basamakları da Tablo 3.4’de verilmiştir.

Kimyasal Madde	Uygulama Süresi (dk)
58 C etüvde	60
Ksilol I	30
Ksilol II	30
%96 Alkol I	5
%96 Alkol II	5
%90 Alkol	5
%80 Alkol	5
%70 Alkol	5
Distile Su	5
Hematoksilen	1
Çeşme suyunda yıkama	Suyun rengi şeffaflaşana kadar
Eozin	2
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

Tablo 3.3. H&E boyama yönteminin basamaklarına ait uygulamalar ve süreleri

Kimyasal Madde	Uygulama Süresi (dk)
58 C etüvde	60
Ksilol I	15
Ksilol II	15
%96 Alkol I	3
%96 Alkol II	3
%90 Alkol	3
%70 Alkol	20 kere batırıp çıkarılır
Çeşme Suyu	20 saniye
Toluidin Mavisi	2
Distile su	10 saniye

%70 Alkol	10 kere batırıp çıkarılır
%96 Alkol I	10 kere batırıp çıkarılır
%96 Alkol II	10 kere batırıp çıkarılır
Ksilol I	10 kere batırıp çıkarılır
Ksilol II	10 kere batırıp çıkarılır
Lamların kapatılması	

Tablo 3.4. Toluidin mavisi boyama yönteminin basamaklarına ait uygulamalar ve süreleri

H&E boyamasıyla hazırlanan preparatlar mikroskopta lenfosit infiltrasyonu, konjesyon, sinüzoid dilatasyonu gibi farklı histolojik değişiklikler açısından farklı büyütmelerde incelendi. Toluidin mavisiyle boyanan preparatlarda mast hücreleri gözlemlendi.

3.9 İmmünohistokimyasal Boyama

Hazırlanmış olan parafin bloklardan alınan 4 µm kalınlığındaki kesitler poly-Llysine kaplı lamlar üzerine alındı. Çalışmada immünohistokimyasal boyama yöntemiyle Thermo Scientific firmasının #RB-9034-P katalog numaralı Lot#9034P1708E NF-κB p65 Markerı kullanıldı.

NF-κB boyamada aşağıdaki kriterlere göre değerlendirme yapıldı.

0: Hiç boyanma yok

+1: Zayıf boyanma var

+2: Orta Şiddette boyanma var

+3: Kuvvetli şekilde boyanma var

NF-κB immünohistokimya boyama yöntemi basamakları ve bunlara ait uygulama süreleri Tablo 3.5’de verilmiştir.

İşlem	Süresi
Deparafinizasyon	16 sa
Ksilen I	15 dk
Ksilen II	15 dk

% 100 Alkol	15 dk
%96 Alkol	15 dk
Distile su	5 dakika
%10'luk sitrat solüsyonu mikrodalga fırında	5 dakikaX3
Sitrat solüsyonunda	30 dakika
Fosfat tamponlu tuzlu su (PBS), (pH: 7,6)	5 dakika
%3'lük H ₂ O ₂	20 dakika
Distile su	10 sn
PBS'de yıkama ve tekrar temiz PBS	5 dakikaX2
Süper Blok (V-Blok)	10 dakika
Primer antikor	1 saat
PBS'de yıkama ve tekrar temiz PBS	5 dakikaX2
Sekonder antikor	20 dakika
PBS'de yıkama	5 dakika
Streptavidin Peroksidase	20 dakika
PBS'de yıkama ve tekrar temiz PBS	5 dakika
DAB kromojen	15 dakika
Distile su	5 dakika
Zıt boya olarak Mayer's Hematoksilen	8 dakika
Akarsuda yıkama	1 dakika
Amonyaklı su	1-2 saniye
Distile su	1-2 saniye
Kurulama	
Özel kapatma maddesi ile kapatma	

Tablo 3.5: NF-κB immünohistokimya boyama basamakları ve süreleri

3.10. TUNEL Metodu

Hücrelerde DNA parçalanması ve apoptotik hücre ölümünün belirlenebilmesi amacıyla in situ apoptozis belirleme kiti (ApopTag Plus, In Situ Apoptosis Detection Peroksidase kit, S7101-KIT, Chemicon) kullanılarak boyandı.

- Doku kesitlerinin deparafinizasyonu: Doku kesitleri, 3x5 dk ksilen, 2x5 dk absolü alkol, 3 dk %95 alkol, 3 dk %70 alkol'de bekletildi ve 5 dk PBS ile yıkandı.

- Proteinlerin sindirilmesi: Kesitler Proteinaz K (20µg/ml) ile oda ısısında 15 dk inkübe edildi.

- 2x2 dk distile su ile çalkalandı.

- Endojen peroksidazın maskelenmesi: Kesitler PBS ile hazırlanmış %3 H₂O₂ ile 5 dk oda ısısında muamele edildi.

- PBS ile 2x5 dk yıkandı.

- Dengeleme tamponu: Lamların etrafı dikkatlice kurulandı, kesitlerin üzerine 75 µl/ 5 cm² dengeleyici tampon konulup, plastik lameller ile kapatıldı. 10 dk oda ısısında inkübe edildi.

- Tdt enziminin uygulanması: Plastik lameller kaldırılıp etrafı kurulandı ve hemen her lam üzerine 55 µl/ 5 cm² Tdt enzimi konuldu ve plastik lameller ile kapatıldı. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edildi.

- Durdurma/ Yıkama: Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler durdurma/yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dk yıkandı. Kullanılacak kadar anti-digoksinin- peroksidaz stoktan alınıp oda sıcaklığında ısıtıldı.

- PBS ile 3x5 dk yıkandı.

- Anti-Digoksinin-Peroksidaz: Kesitlerin üzerindeki sıvı uzaklaştırılarak her kesit üzerine 65 µl/ 5 cm² Anti-Digoksinin-Peroksidaz konuldu ve üzerlerine plastik lameller tekrar kapatılarak oda ısısında 30 dk bekletildi.

- Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler PBS ile 4x2 dk yıkandı.

- Renk reaksiyonu: Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 75µl/ 5 cm² DAB (diaminobenzidine) substrat solusyonu damlatıldı. 3-6 dk arasında oda sıcaklığında boyandı ve pozitif renk reaksiyonu mikroskop altında tespit edildi.

- Renk reaksiyonu oluşmasından sonra kesitler distile su ile 3x1 dk yıkandı.

- Kesitler distile su ile 5 dk tekrar yıkandı.

- Zıt Boya Uygulaması: Metil yeşili ile 10 dk. boyanan kesitler, boyamanın durdurulması için her defada distile suya 10 kez daldırılıp çıkarılarak 2 kez yıkandı ve sonra 30 sn. distile suda bekletildi.

- Fazla boyanın giderilmesi amacıyla kesitler 2x10 sn. %100 alkole 10'ar kez daldırılıp çıkarıldı ve ardından 30 sn tekrar %100 alkol ile yıkandı.

- Kapatma: Kesitler 3x2 dk. ksilende inkübe edildi. Ksilenden teker teker çıkarıldıktan sonra kurumasına izin verilmeden entellan yapıştırıcı maddesi kullanarak kapatıldı.

Uygulama esnasında hazırlanması gerekli solüsyonlar:

% 3 H₂O₂: 3 ml H₂O₂ / 27 ml PBS= 30 ml

Tdt: 77 µl Reaksiyon Tamponu + 33 µl Tdt Enzimi =110 µl

Durdurma/Yıkama tamponu: 1 ml durdurma/yıkama solüsyonu + 34 ml distile su = 35 ml

Boyama Özgüllüğü Kontrolleri:

Pozitif kontrol olarak, 5 mg/kg dozunda Deksmetazon uygulanmış erişkin sıçana ait timüs dokusu ve kit içinden çıkan doku kesiti kullanıldı.

3.11. Apoptotik İndeks

Tüm gruplara ait deney hayvanlarının karaciğer doku kesitlerinde apoptozisin tayini için TUNEL boyaması gerçekleştirildi. Apoptozisin kapsamını sayısal hale getirmek için dokular ışık mikroskobunda pozitif boyanan apoptotik çekirdekler ve sağlam hücre çekirdekleri sayılarak aşağıdaki formüle göre değerlendirildi.

Apoptotik İndeks (APOİ)= Apoptotik çekirdek sayısı/ Toplam hücre sayısı x 100

3.12. İstatistiksel Yöntemler

Vücut ağırlıklarının deney başlangıcı ile deney sonucundaki değişimlerini incelemek için Paired Sample T Test uygulandı. TAS, TOS, OSI, ALT, AST değerlerine One Way Anova, Tukey HSD testi uygulandı. NF-κB verileri için istatistiksel analiz yapılmadı gözlemlere göre değerlendirme yapıldı. Histopatolojik veriler ve TUNEL uygulamasının verilerine ise One Way Anova testi uygulandı ve ikili gruplar tekrar Independent T Testi ile değerlendirildi.



4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Farkı

Araştırmamızın başında ve sonunda kontrol grubu, CP, CP+Ge 100 mg/kg, CP+Ge 200 mg/kg, Ge 100 mg/kg, Ge 200 mg/kg grubu olmak üzere tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Bu vücut ağırlığı tartı sonuçlarına göre deney grupları arasında çalışma başlangıcı ile çalışma sonunda vücut ağırlığı bakımından bulunan değerler istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 4.1)

Gruplar	Deney Başlangıcı Ortalama±SH	Deney Sonu Ortalama±SH	P
Kontrol	253,28±	325,57±	0,00
CP	271,85±4,92	274,42±5,06	0,64
CP+Ge 100 mg/kg	269,28±3,73	280,14±9,88	0,38
CP+Ge 200 mg/kg	259,28±5,08	283,57±6,88	0,02
Ge 100 mg/kg	277,28±8,9	336,14±11,43	0,00
Ge 200 mg/kg	276,71±6,53	329,85±4,03	0,00

Tablo 4.1: Gruplar arası ağırlık karşılaştırmaları, Paired Sample T Test.

Deney gruplarının, deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında; kontrol, CP+G200, G100 ve G200 gruplarında, deney başlangıcı ve deney sonu canlı ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p<0.05$). CP ve CP+G100 grupları arasında ise anlamlı fark bulunamadı.

4.2. Oksidatif Stres Parametreleri

Deney sonunda kan serumları oksidatif stres marker (TAS ve TOS) analizi için Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarına gönderildi. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tablo 4.2'de verilmiş olup, farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

	TAS	TOS	OSI
Kontrol	1,51±0,02 ^a	1,14±0,27 ^a	0,07±0,01 ^a
CP	1,17±0,14 ^b	2,45±0,78 ^b	0,22±0,06 ^b
CP+Ge 100	1,21±0,05 ^b	1,8±0,28 ^{a,b}	0,14±0,02 ^{a,b}
CP+Ge 200	1,34±0,01 ^{a,b}	1,67±0,22 ^{a,b}	0,12±0,01 ^a
Ge 100	1,52±0,02 ^a	1,42±0,16 ^{a,b}	0,09±0,01 ^a
Ge 200	1,42±0,02 ^a	1,41±0,28 ^{a,b}	0,09±0,01 ^a

Tablo 4.2: Gruplar arası TAS, TOS, OSI ve ortalamaları ve standart hata değerleri, One Way Anova, Duncan, HSD^a.

Serum TOS seviyesi kontrol grubunda CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük olarak bulunmuştur, diğer gruplarla karşılaştırıldığında ise diğer gruplardan daha düşük olduğu bulunmuş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Serum TOS seviyelerinde CP+G100 grubu CP grubuna göre düşük, diğer gruplara göre ise yüksek bulunmuştur ancak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Serum TOS seviyelerinde CP grubu diğer tüm gruplara göre yüksek bulunmuş ve kontrol grubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Kontrol grubu dışındakilere göre istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Serum TOS seviyelerinde Ge 200 mg/kg grubu kontrol grubuna göre yüksek diğer tüm gruplara göre ise düşük bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Serum TAS seviyelerinde Ge 100 mg/kg lık grubun değeri en yüksektir, sonra kontrol grubu ve Ge 200 mg/kg'lık grup gelir. Bu 3 gruptaki yükseklik CP ve CP+Ge 100 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. CP+Ge 200 mg/kg doz grubunaysa benzer çıkmış ve anlamlı fark görülmemiştir.

Serum TAS seviyelerinde CP+Ge 100 mg/kg grubu CP grubuna göre yüksek ama istatistiksel olarak benzer, diğer tüm gruplara göre düşüktür ve kontrol, Ge 100 mg/kg ve Ge 200 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düşüktür.

Serum TAS seviyelerinde CP grubunun değerleri en düşüktür. Kontrol, Ge100 mg/kg ve Ge 200 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşüktür.

Serum TAS seviyelerinde CP+Ge 200 mg/kg grubu CP ve CP+Ge 100 mg/kg grubuna göre yüksek, diğer tüm gruplara göre düşük olarak bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

OSI oranları CP+Ge 100 mg/kg grubu haricindeki 4 grupta da CP grubuna göre istatistiksel anlamlı düşük bulundu.

OSI oranları CP grubunda CP+Ge 100 mg/kg grubu hariç diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

4.3. Serum Biyokimya Parametreleri

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarından elde edilen serum sonuçları aşağıda gösterilen tablo 4.3'de verilmiştir. Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p < 0,05$).

	AST	ALT
Kontrol	72,14±6,48 ^a	36,57±4,65 ^a
CP	99±6,16 ^b	47±3,23 ^b
CP+Ge 100	91,14±3,48 ^{b,c}	43,14±1,37 ^{a,b}
CP+Ge 200	81,85±4,28 ^{a,c}	43,42±1,41 ^{a,b}
Ge 100	69,57±6,99 ^a	39,57±3,13 ^{a,b}
Ge 200	75,14±4,1 ^a	38,42±3,6 ^{a,b}

Tablo 4.3: Gruplar arası AST, ALT ve ortalamaları ve standart hata değerleri, One Way Anova, Duncan, HSD^a.

Serum AST seviyeleri kontrol grubu, Ge 100 ve Ge 200 mg/kg doz gruplarında birbirine benzer ve CP gruplarına göre anlamlı olarak düşük çıkmıştır.

Serum AST seviyeleri CP+Ge 200 mg/kg grubunda kontrol, Ge 100 mg/kg ve Ge 200 mg/kg grubuna göre yüksek, diğer gruplara göre düşük olarak bulunsa da istatistiki olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Serum AST seviyeleri CP grubunda diğer tüm gruplardan yüksek bulunmuştur.

Serum ALT seviyeleri kontrol grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiki olarak anlamlı düşük bulunmuştur.

Serum ALT seviyeleri CP grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek çıkmıştır.

Serum ALT seviyeleri kontrol grubunda hariç diğer dört grupta CP grubuna göre düşük çıkmıştır, istatistiki olarak da dört grup birbirlerine benzer çıkmışlardır.

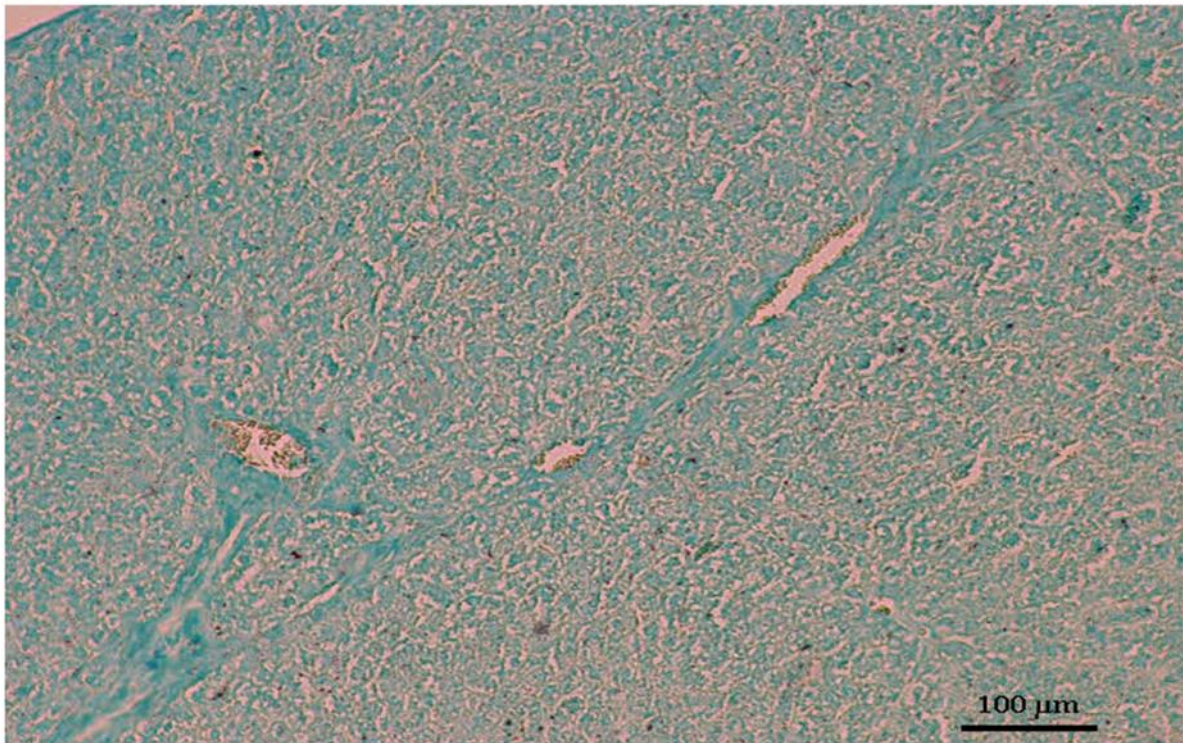
4.4. TUNEL Boyama

TUNEL yöntemi ile boyama sonucu, nükleusu boyanmış olan hücreler apoptotik hücreler olarak değerlendirildi. TUNEL boyama; gruplar arasında One Way Anova ile değerlendirilmiştir (Tablo 4.4). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

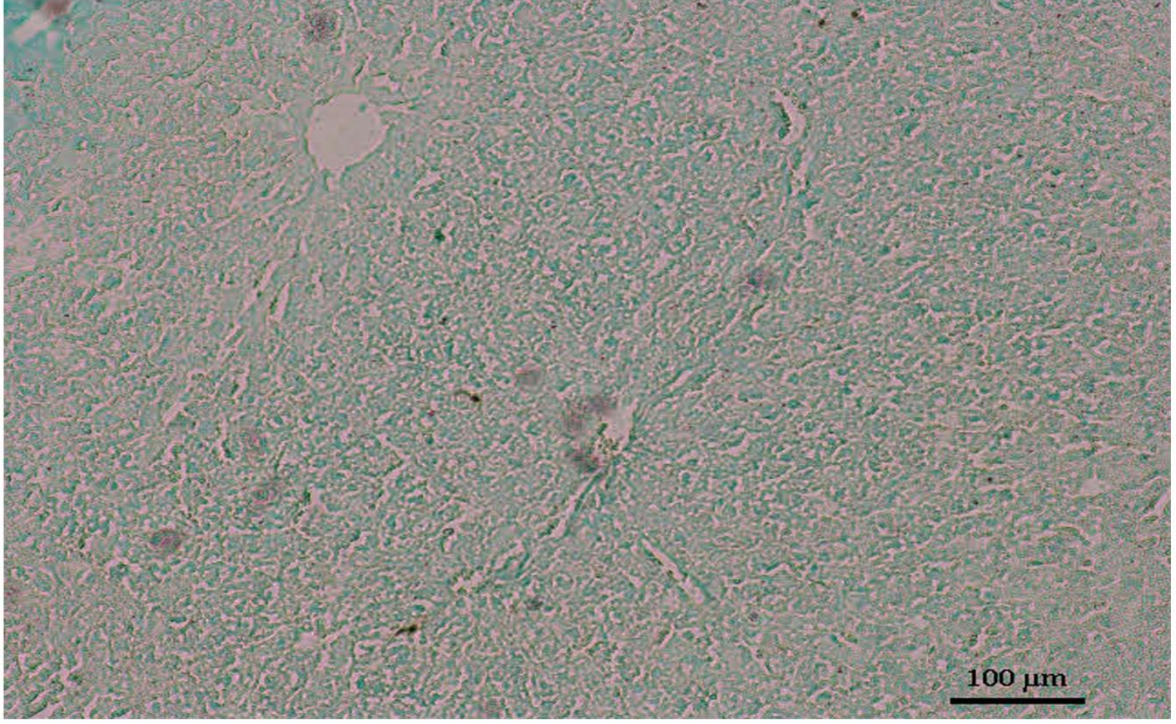
	TUNEL Pozitif hücre Sayısı
Kontrol	$3\pm 0,53^a$
CP	$16,42\pm 1,26^b$
CP+Ge 100 mg/kg	$9,14\pm 0,59^c$
CP+Ge 200 mg/kg	$8,42\pm 0,61^c$
Ge 100 mg/kg	$3,57\pm 0,48^a$
Ge 200 mg/kg	$3,42\pm 0,59^a$

Tablo 4.4: Gruplar arası TUNEL pozitif hücre sayısı ortalamaları ve standart hata değerleri, One Way Anova, TUKEY HSD^a

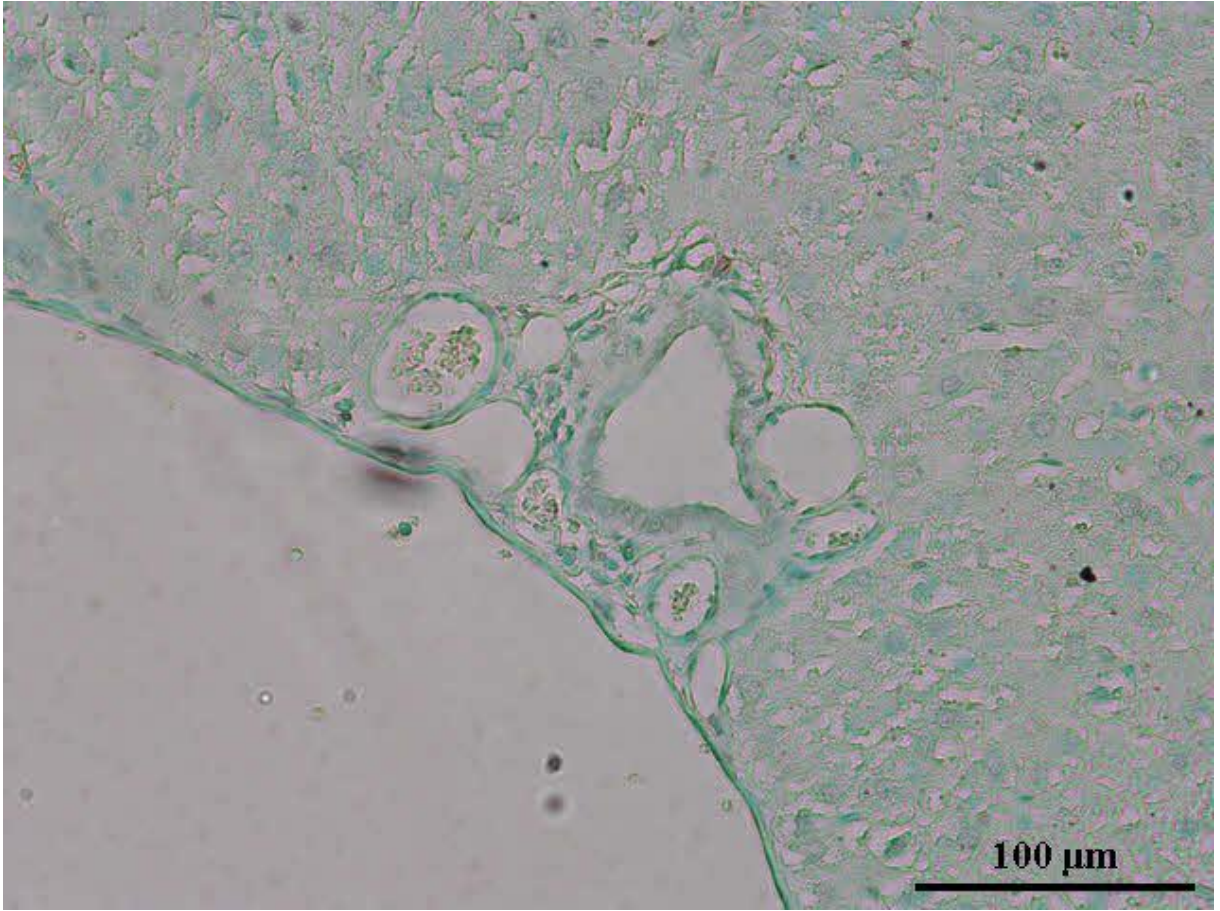
TUNEL pozitif hücre sayısı; kontrol, Ge 100 mg/kg, Ge 200 mg/kg doz gruplarında diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük çıkmıştır. Şekil 4.4.1, 4.4.2 ve 4.4.3'te de bu gruplara ait TUNEL negatif boyamalar görülmektedir.



Şekil 4.4.1: Kontrol grubuna ait TUNEL negatif hücreler



Şekil 4.4.2: Ge 100 grubuna ait TUNEL negatif hücreler

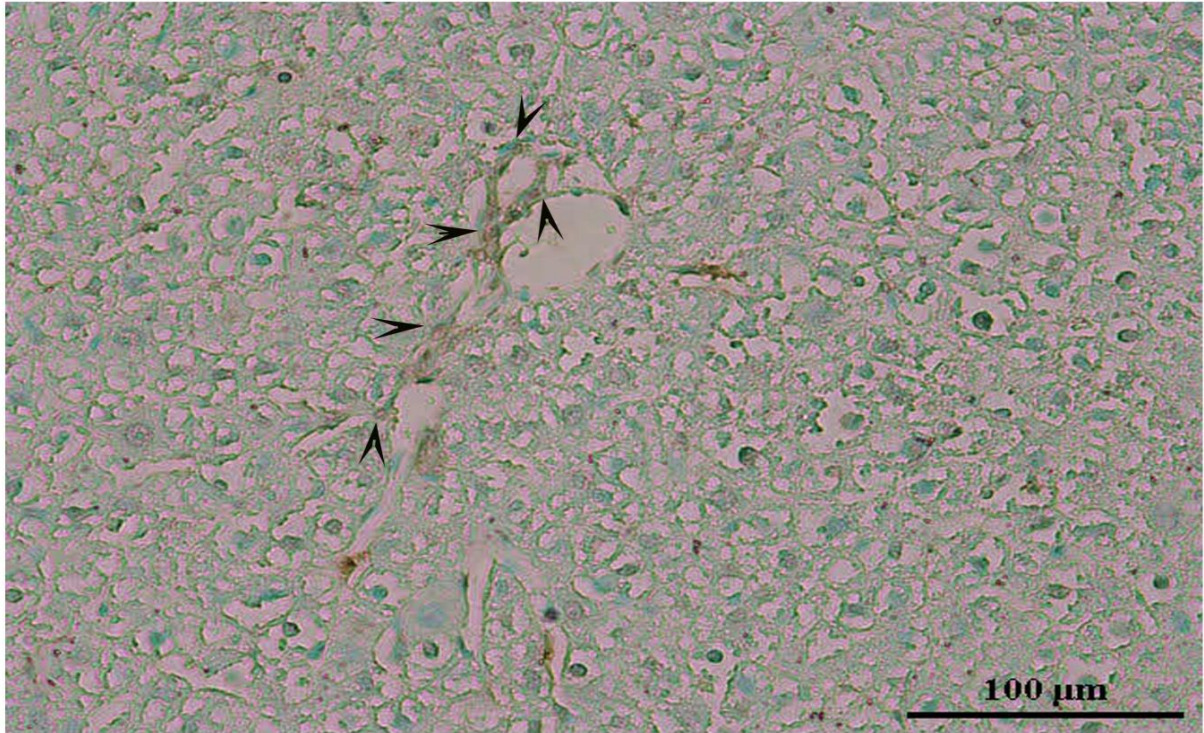


Şekil 4.4.3: Ge 200 grubuna ait TUNEL negatif hücreler

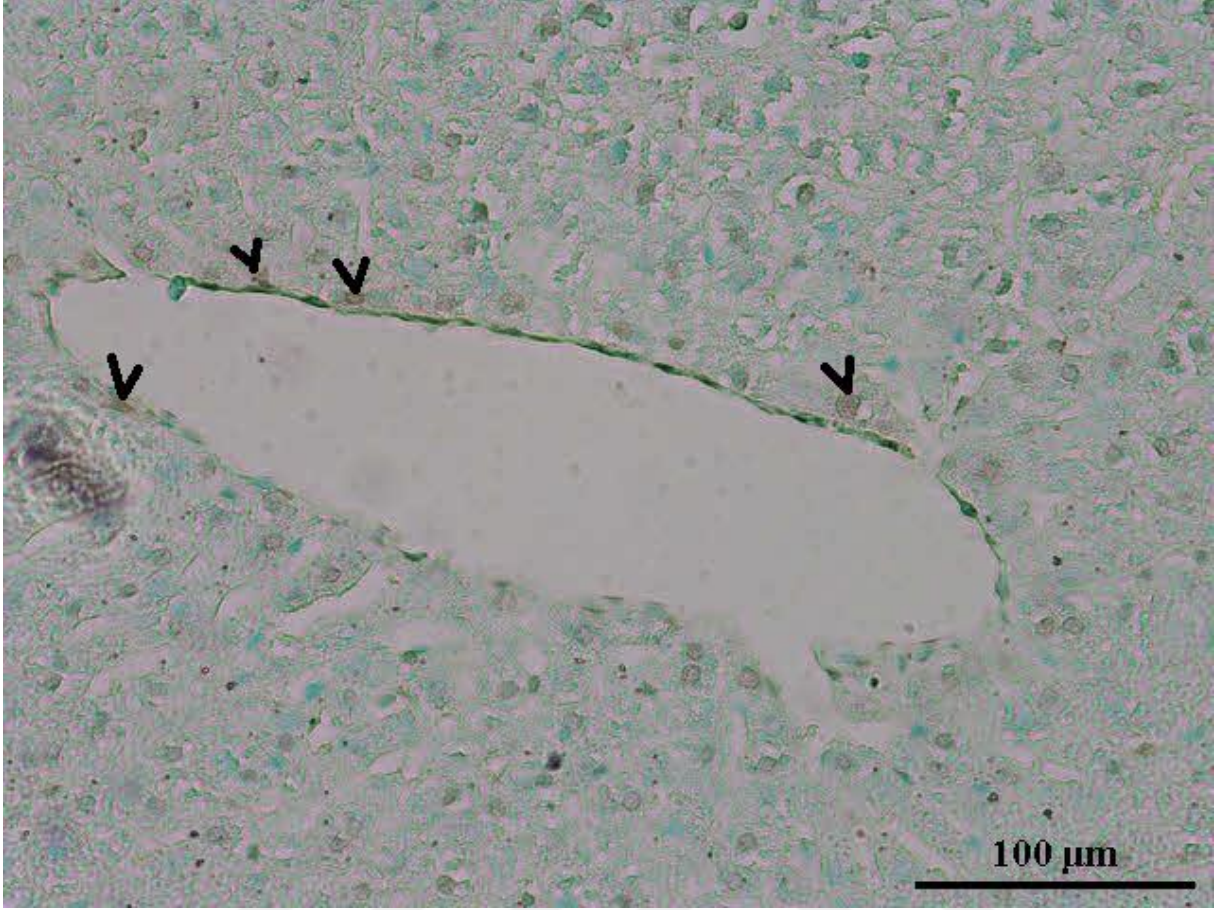
TUNEL pozitif hücre sayısı CP+Ge 100 mg/kg grubunda kontrol, Ge 100 ve Ge 200 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, CP grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Ancak CP+Ge 200 mg/kg grubuna göre yüksek olsa da istatistiki olarak anlamlı fark gözlenmemiştir. Şekil 4.4.4'te CP+Ge 100 grubuna ait TUNEL pozitif hücreler gösterilmiştir.

TUNEL pozitif hücre sayısı CP+Ge 200 mg/kg grubunda kontrol, Ge 100 ve Ge 200 mg/kg gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, CP grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Şekil 4.4.5'te CP+Ge 200 grubuna ait TUNEL pozitif hücreler gösterilmiştir.

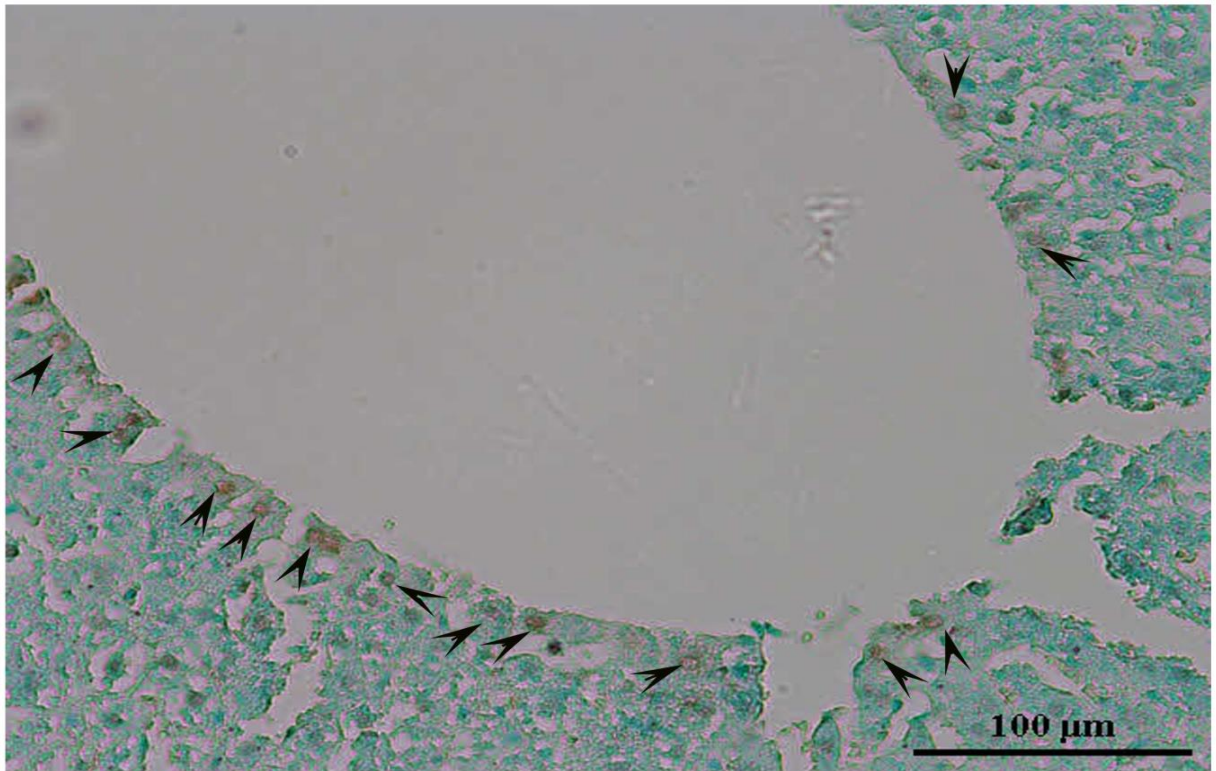
TUNEL pozitif hücre sayısının CP grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.4.6'da yoğun TUNEL pozitif boyanmış hücreler gösterilmiştir.



Şekil 4.4.4: CP+Ge 100 grubuna TUNEL pozitif hücreler oklarla gösterilmektedir.



Şekil 4.4.5: CP+Ge 200 grubuna TUNEL pozitif hücreler oklarla gösterilmektedir.



Şekil 4.4.6: CP grubuna TUNEL pozitif hücreler oklarla gösterilmektedir.

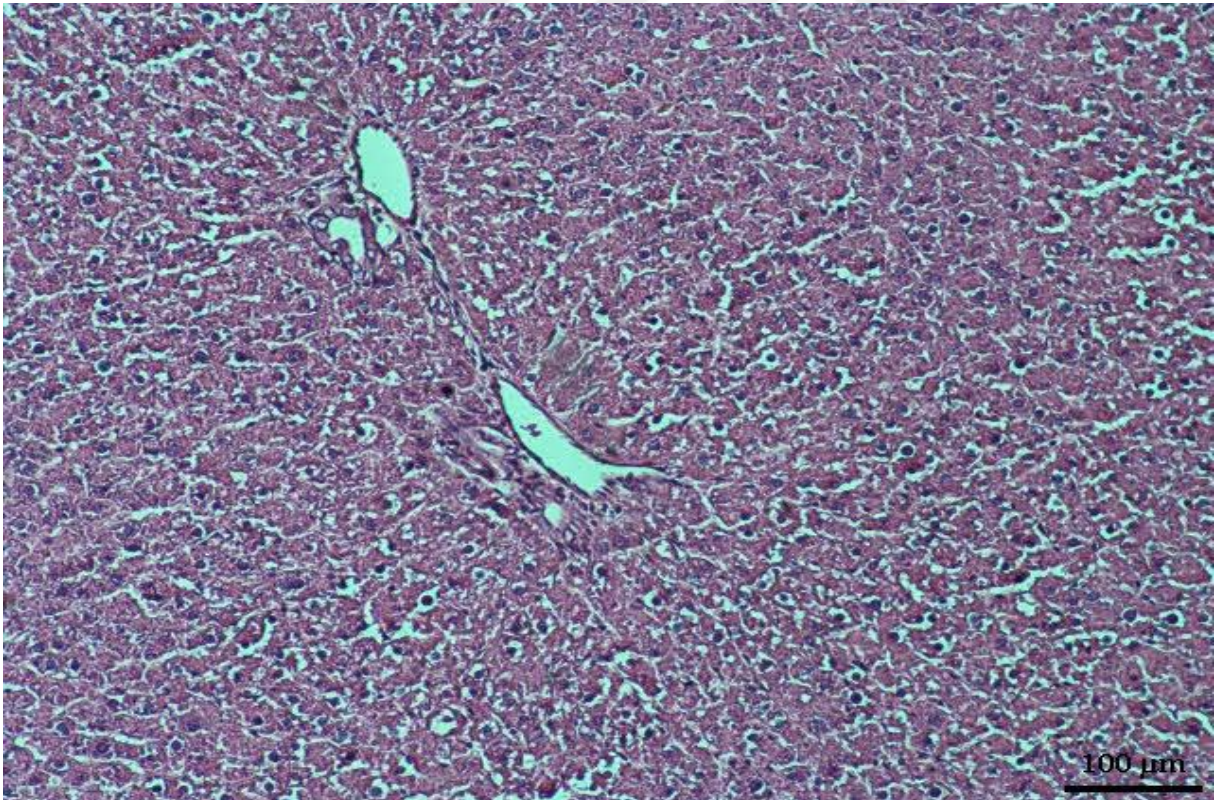
4.5. Histopatolojik Skor

Histopatolojik skorlama; gruplar arasında One Way Anova ve TUKEY ile değerlendirilmiştir (Tablo 4.5). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

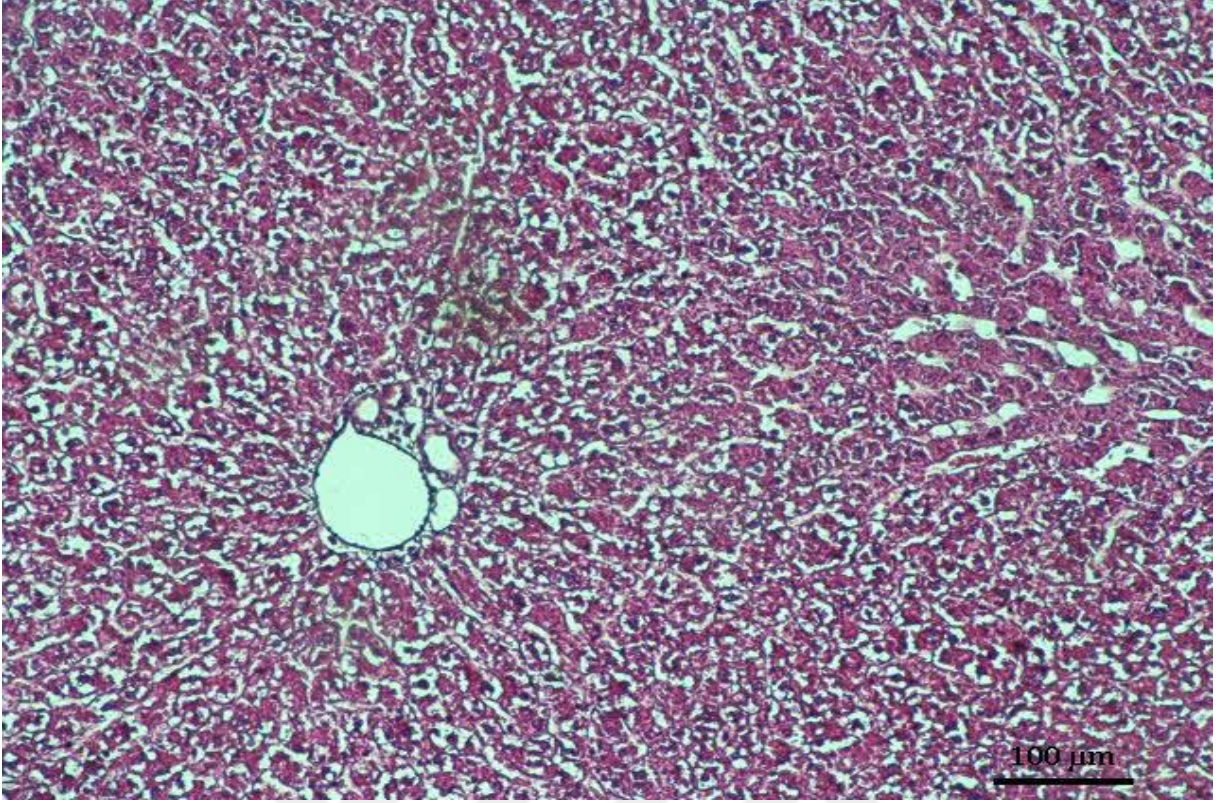
Gruplar	Histopatolojik Skor
Kontrol	0 ± 0^a
CP	$2,42\pm 0,2^b$
CP+Ge 100 mg/kg	$1,28\pm 0,18^c$
CP+Ge 200 mg/kg	$1\pm 0,21^c$
Ge 100 mg/kg	0 ± 0^a
Ge 200 mg/kg	0 ± 0^a

Tablo 4.5: Gruplar arası histopatoloji skor ortalamaları ve standart hata değerleri, One Way Anova, TUKEY

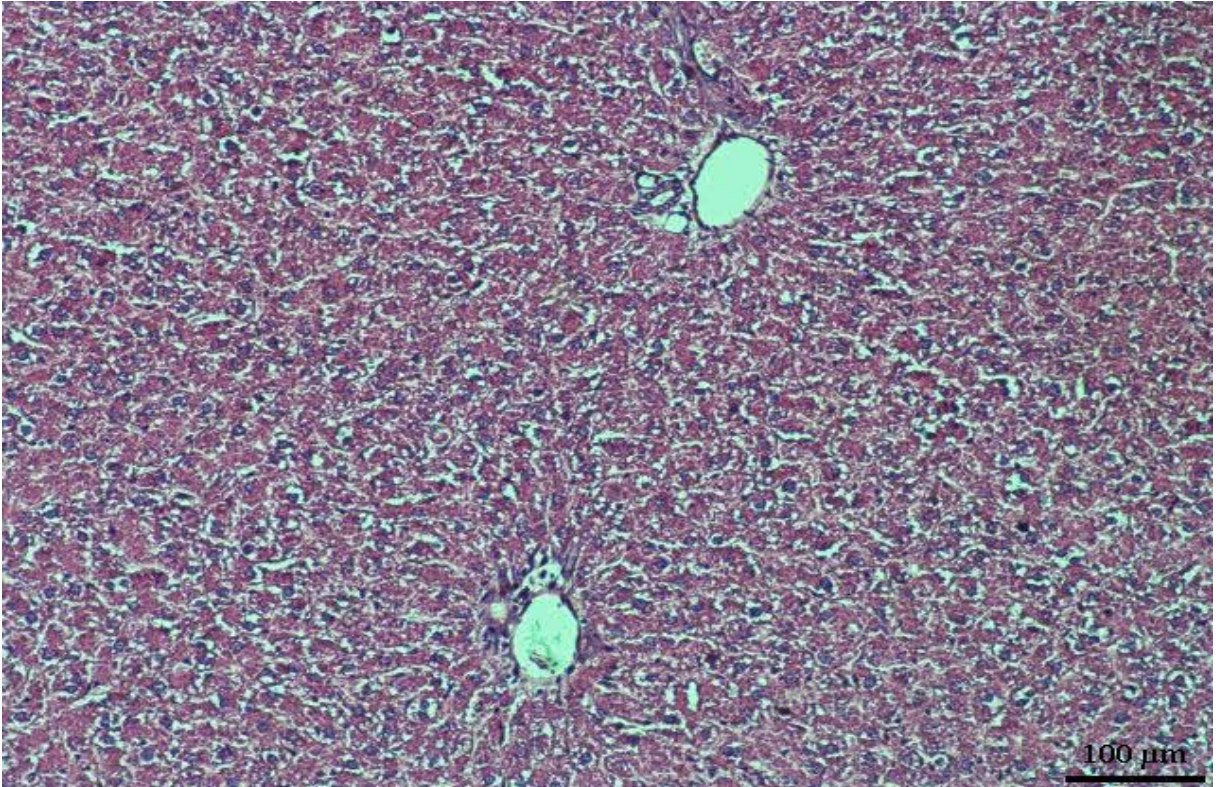
Histopatolojik skor; kontrol, Ge 100 mg/kg ve Ge 200 mg/kg gruplarında birbirlerine benzer, CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Şekil 4.5.1, 4.5.2 ve 4.5.3'te bu üç grubun H&E boyamaları görülmektedir.



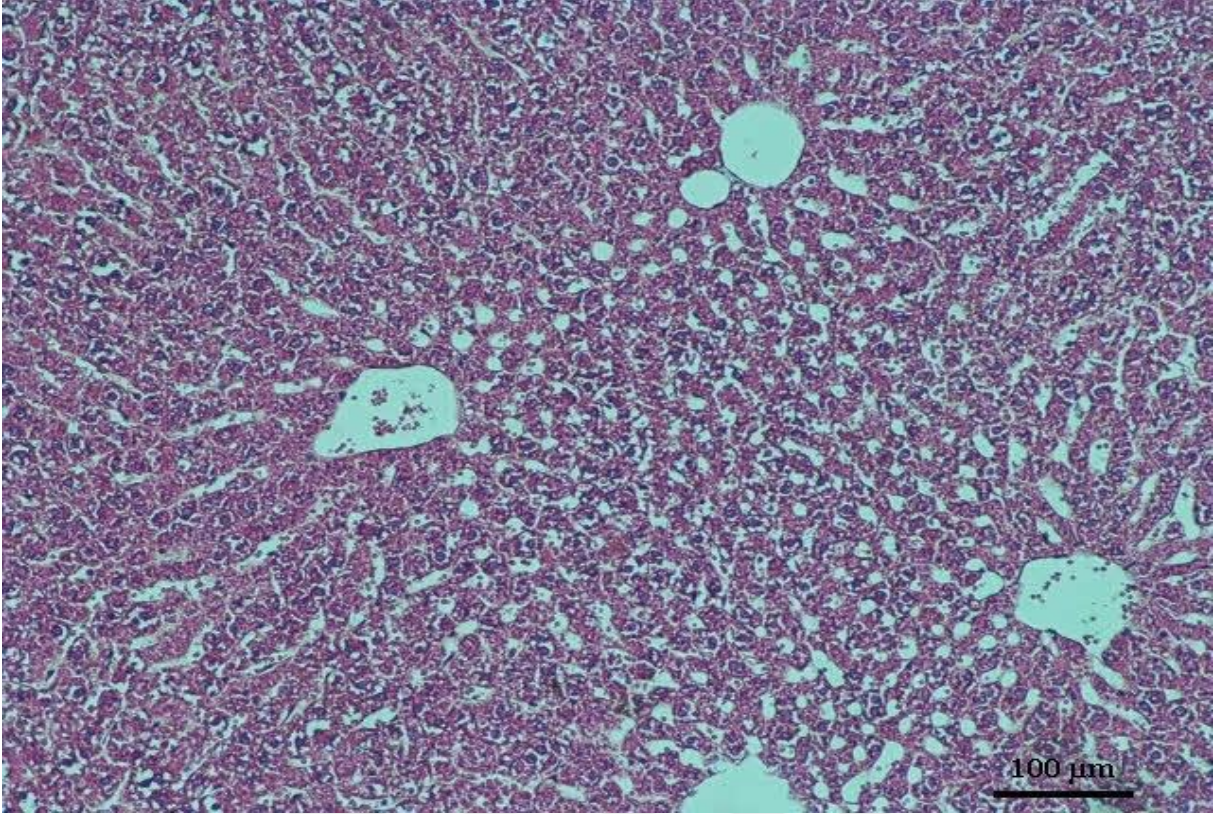
Şekil 4.5.1: Kontrol grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü.



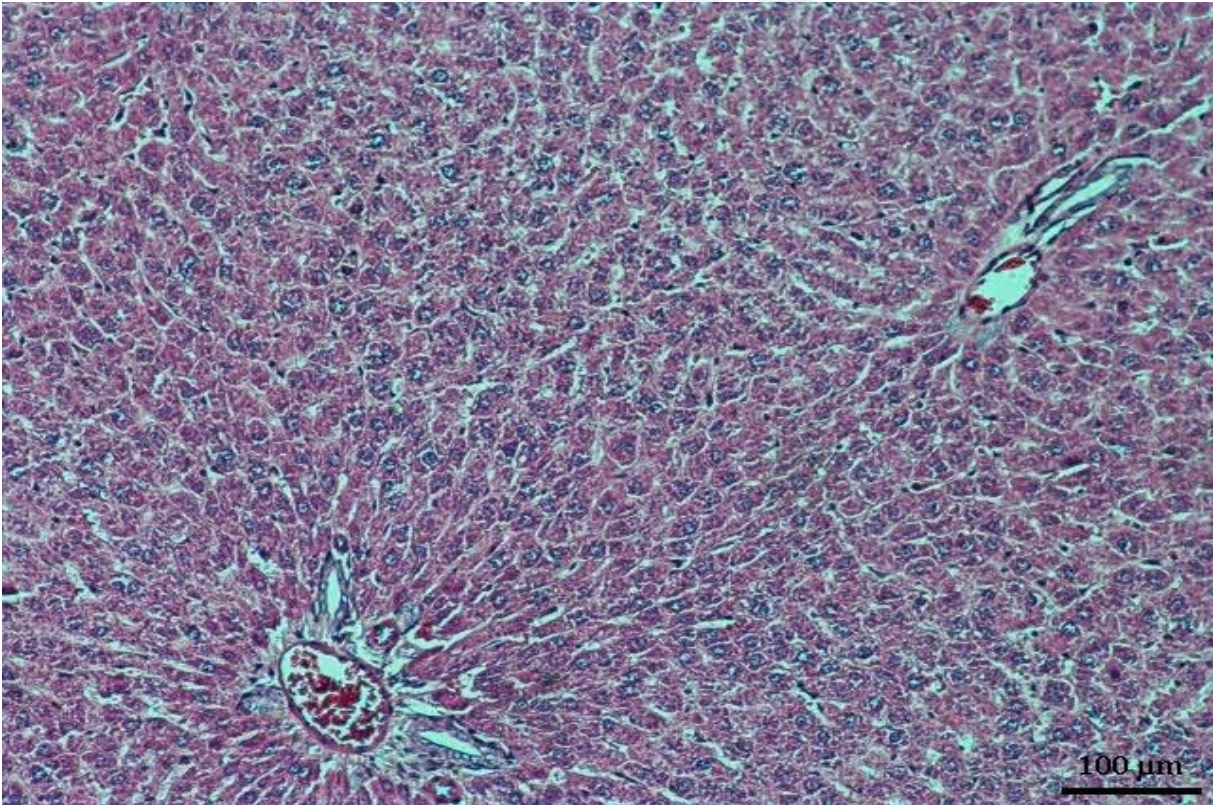
Şekil 4.5.2: Ge 100 grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü



Şekil 4.5.3: Ge 200 grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü



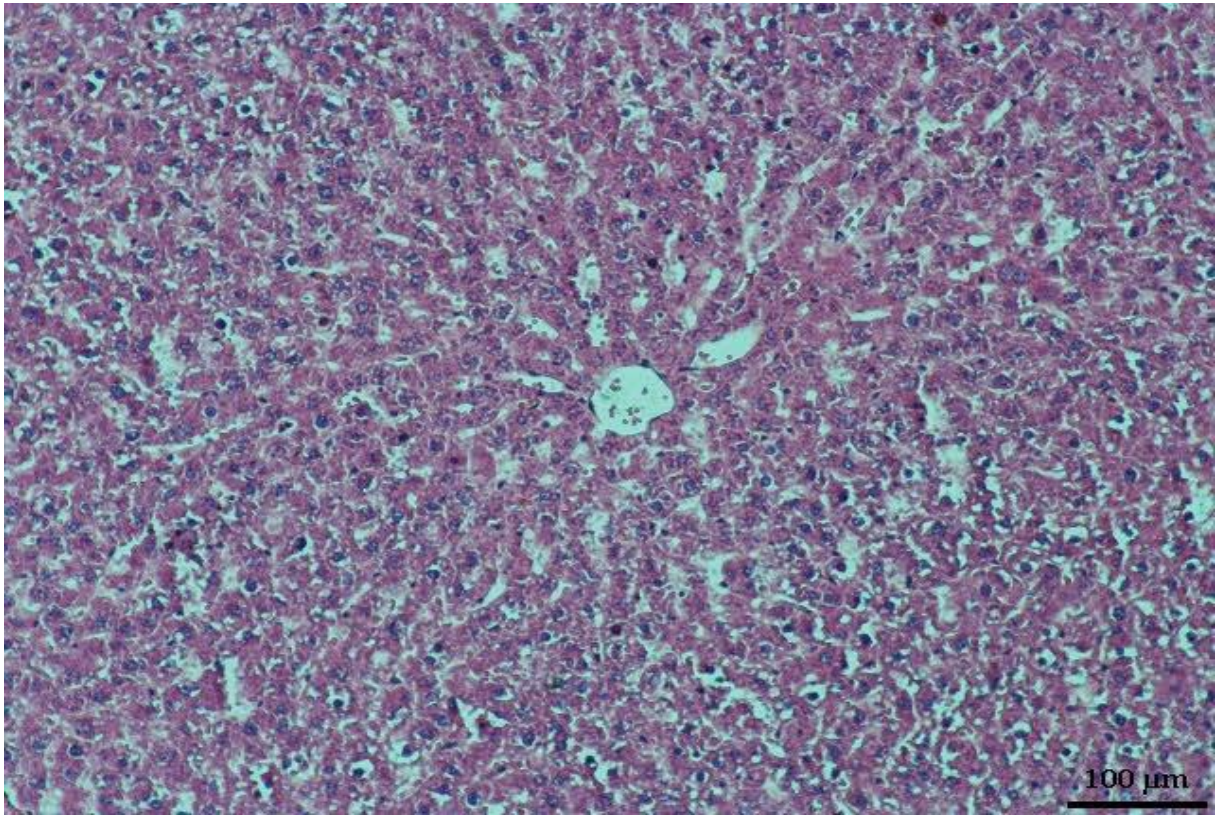
Şekil 4.5.4: Cp+Ge 100 grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü



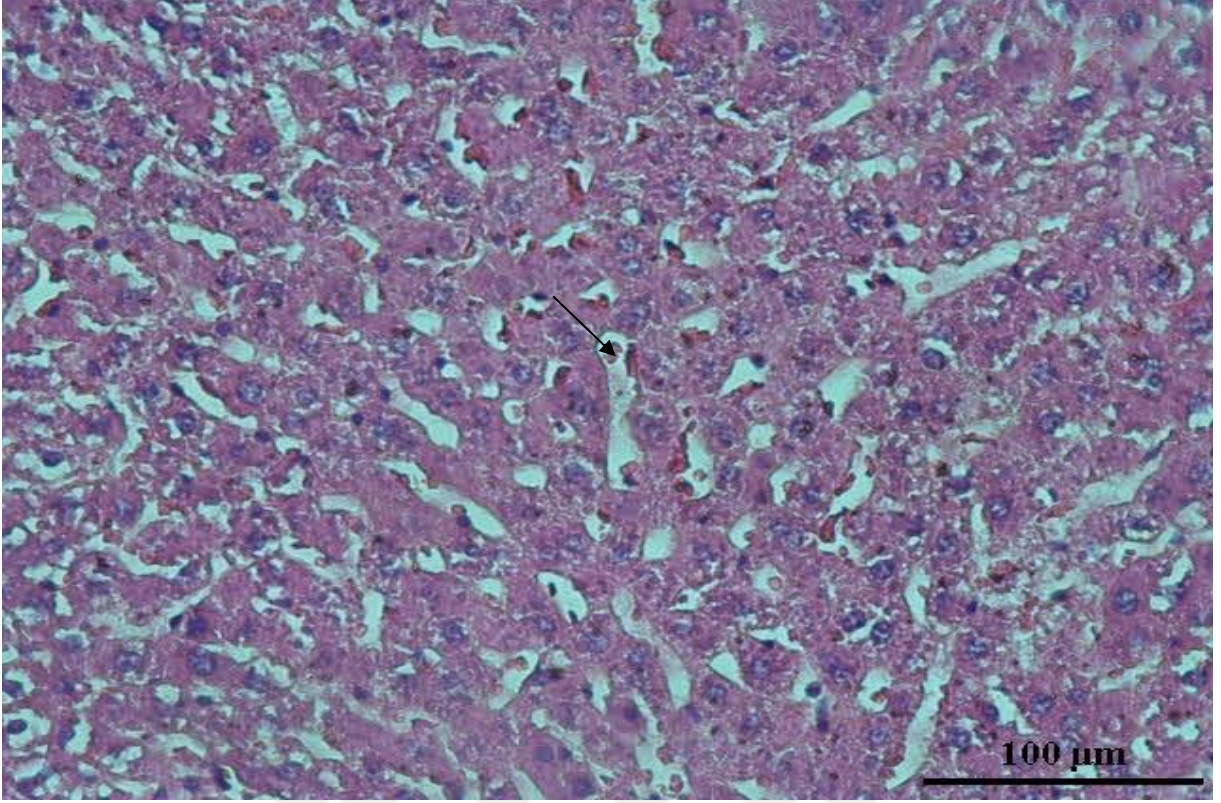
Şekil 4.5.5: Cp+Ge 200 grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü

Histopatolojik skor; CP+Ge 100 mg/kg ve CP+Ge 200 mg/kg gruplarında birbirlerine benzer, CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. CP+Ge 200 mg/kg doz grubunda kontrol grubuna daha yakın bir histolojik skor elde edilmiştir. Şekil 4.5.4 ve 4.5.5’de CP+Ge 100 mg/kg ve CP+Ge 200 mg/kg gruplarına ait H&E boyamaları görülmektedir.

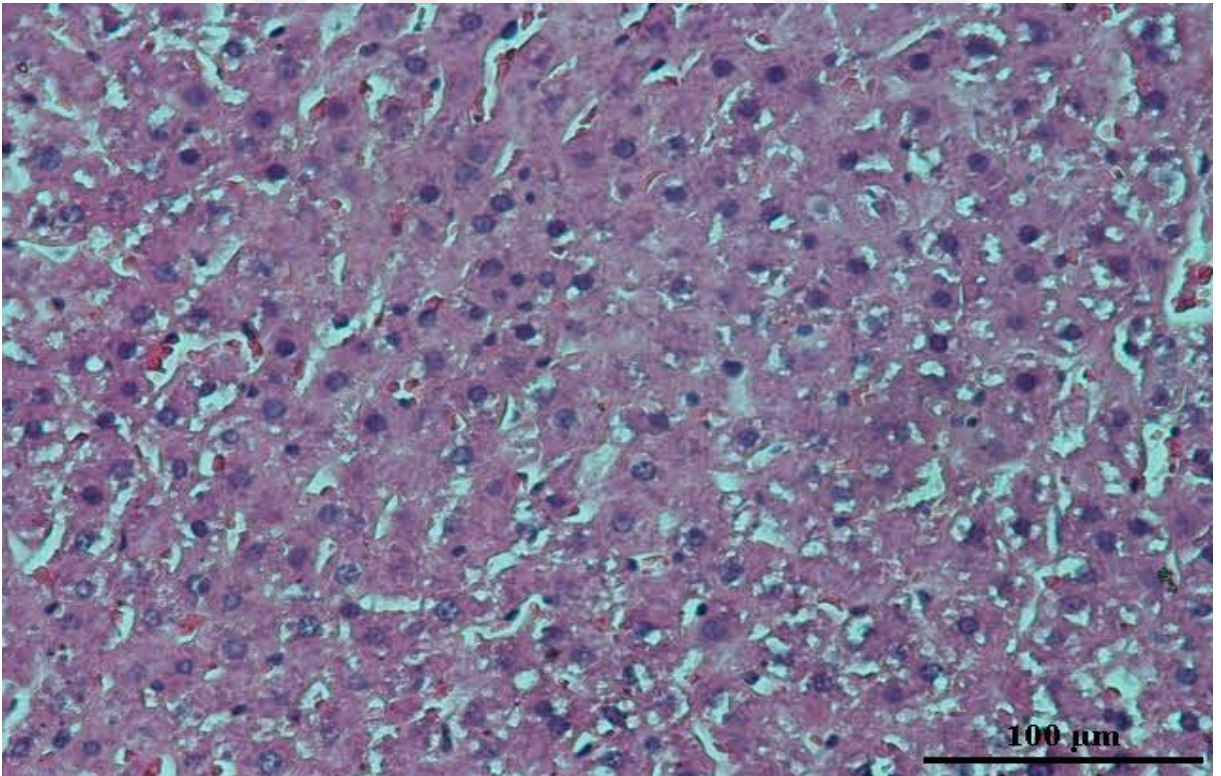
CP’nin oluşturduğu hasarlar şekil 4.5.6, 4.5.7 ve 4.5.8’de resmedilmiştir.



Şekil 4.5.6: CP grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü



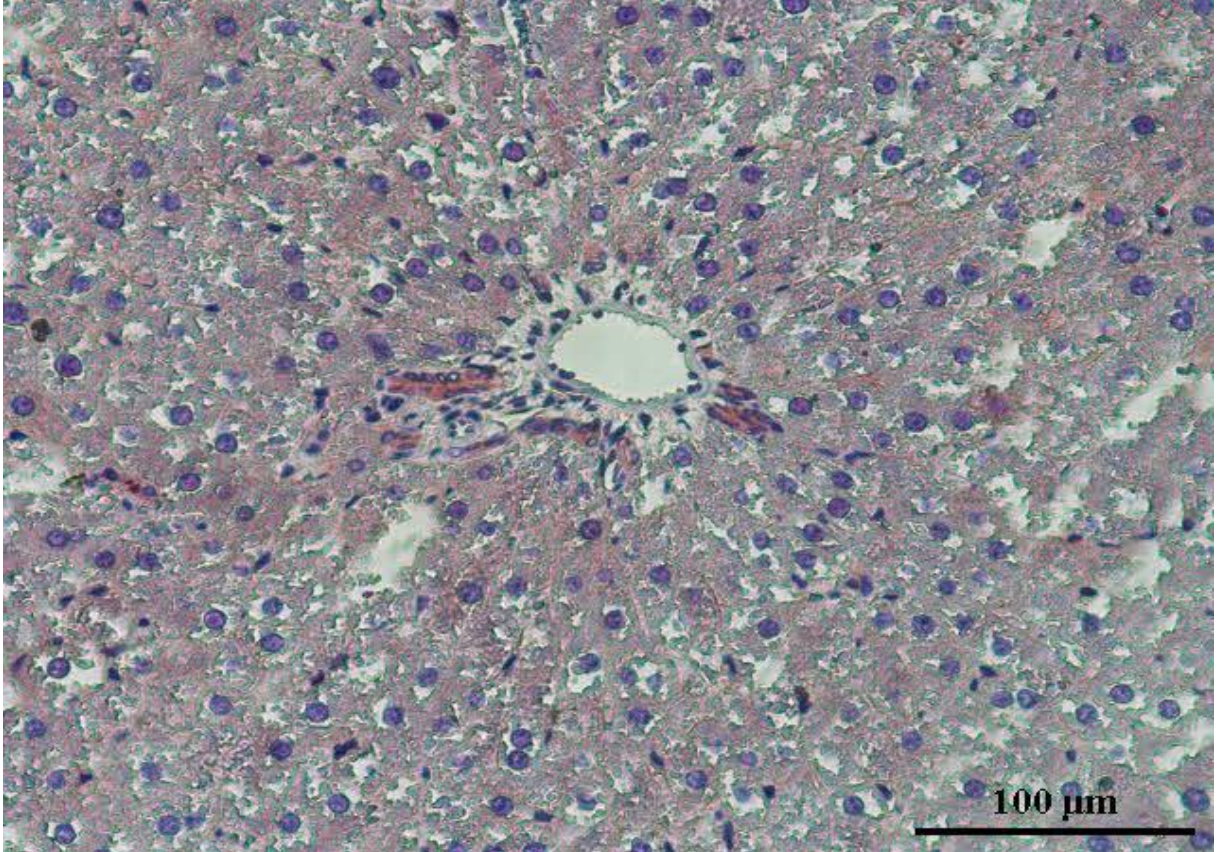
Şekil 4.5.7: CP grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü. Sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon okla gösterilmiştir.



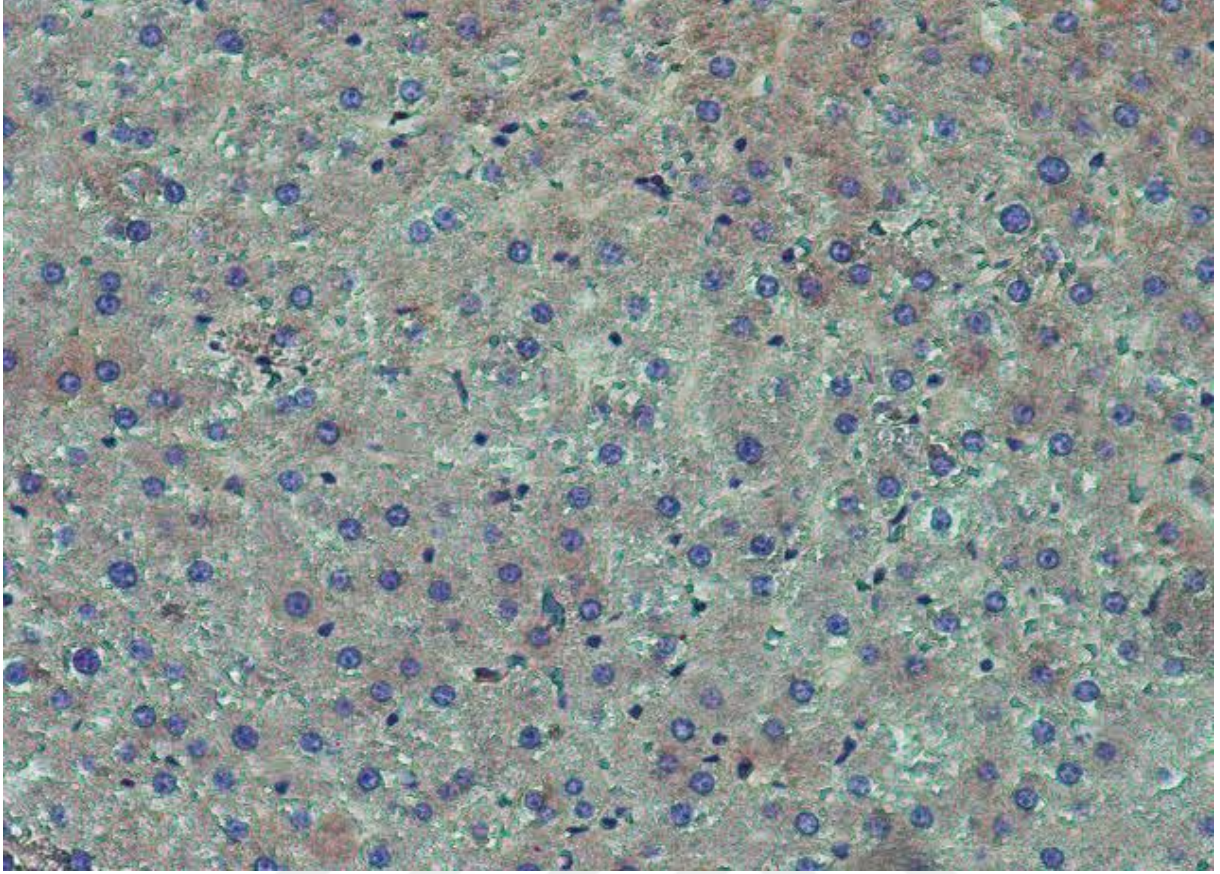
Şekil 4.5.8: CP grubuna ait H&E boyaması karaciğer kesit görüntüsü

4.6. İmmünohistokimyasal Boyama

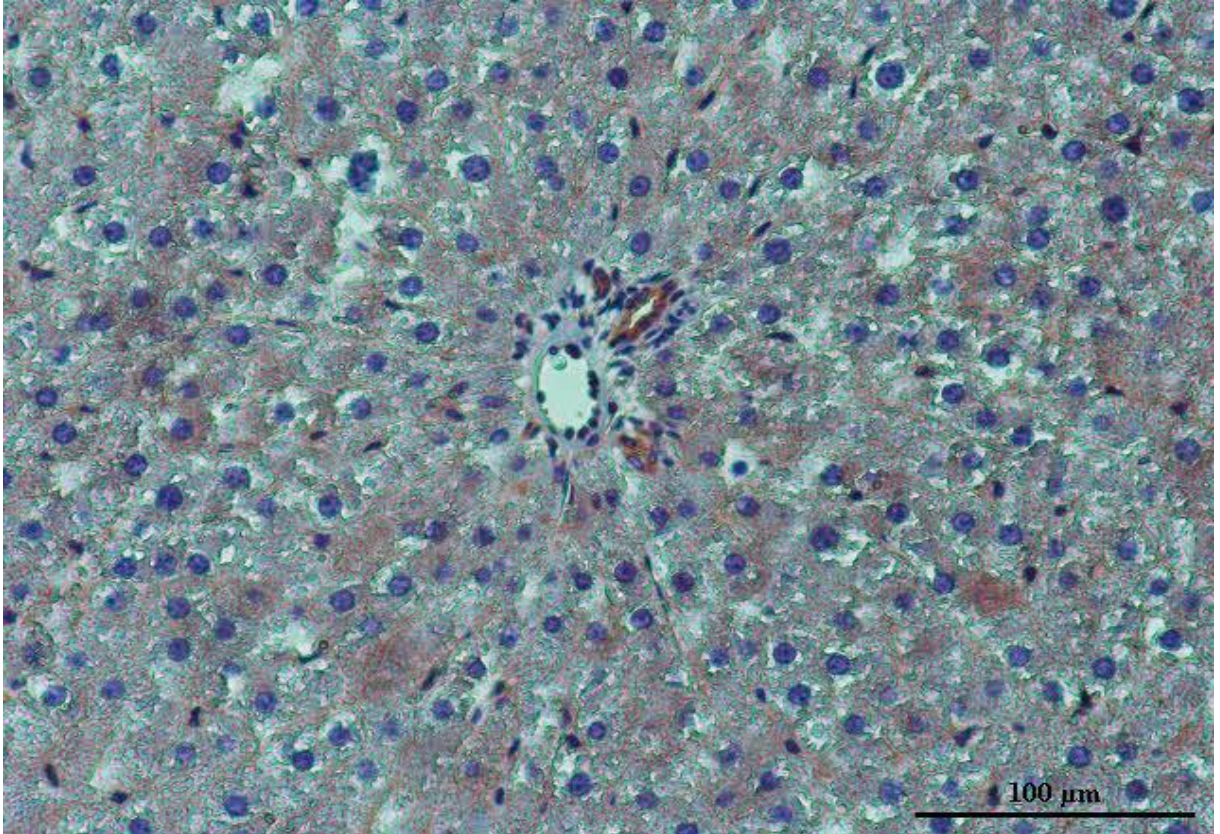
Yapılan NF- κ B immünohistokimya boyaması sonucu; kontrol, Ge100 ve Ge200 mg/kg doz gruplarında benzer boyamalar gözlemlendi. Tam tutulum olmadan, yer yer hafif boyamalar görüldü. Şekil 4.6.1, 4.6.2, 4.6.3’de bu gruplara ait immünohistokimyasal boyama görüntüleri görülmektedir.



Şekil 4.6.1: Kontrol NF- κ B immünohistokimya boyaması

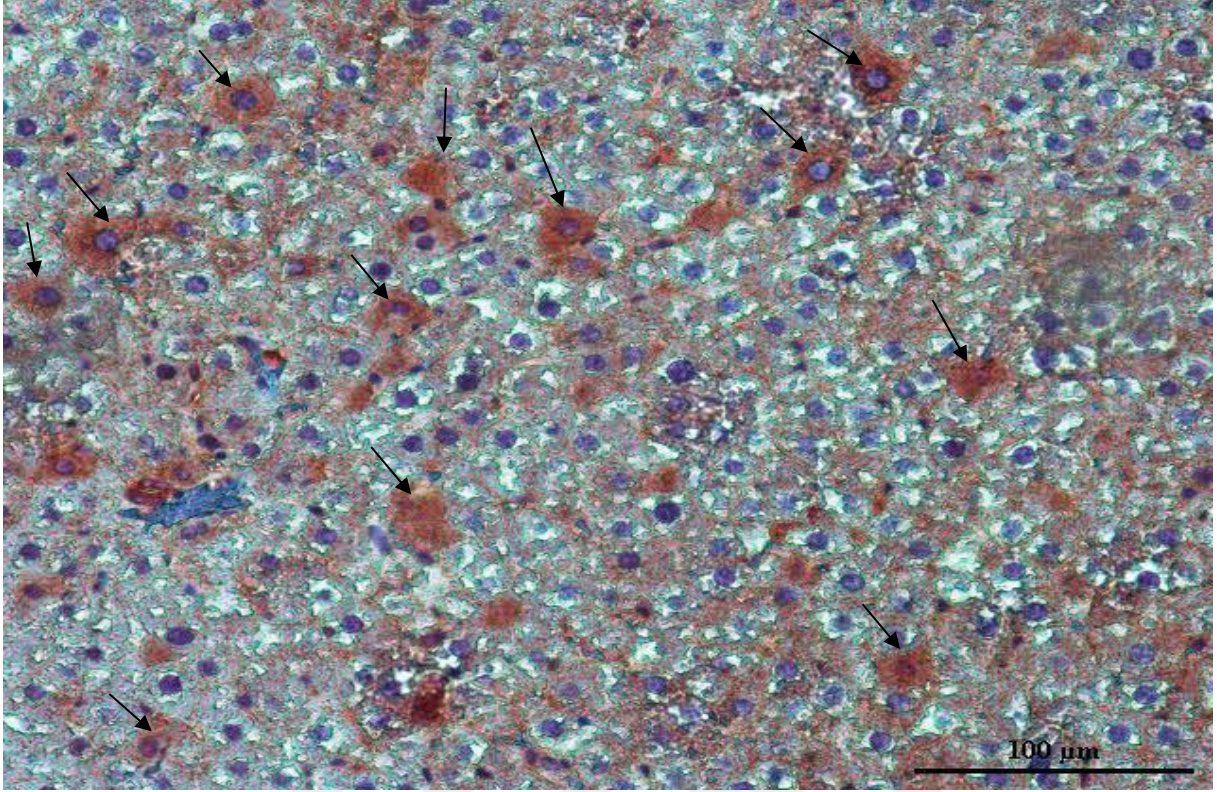


Şekil 4.6.2: Ge 100mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması

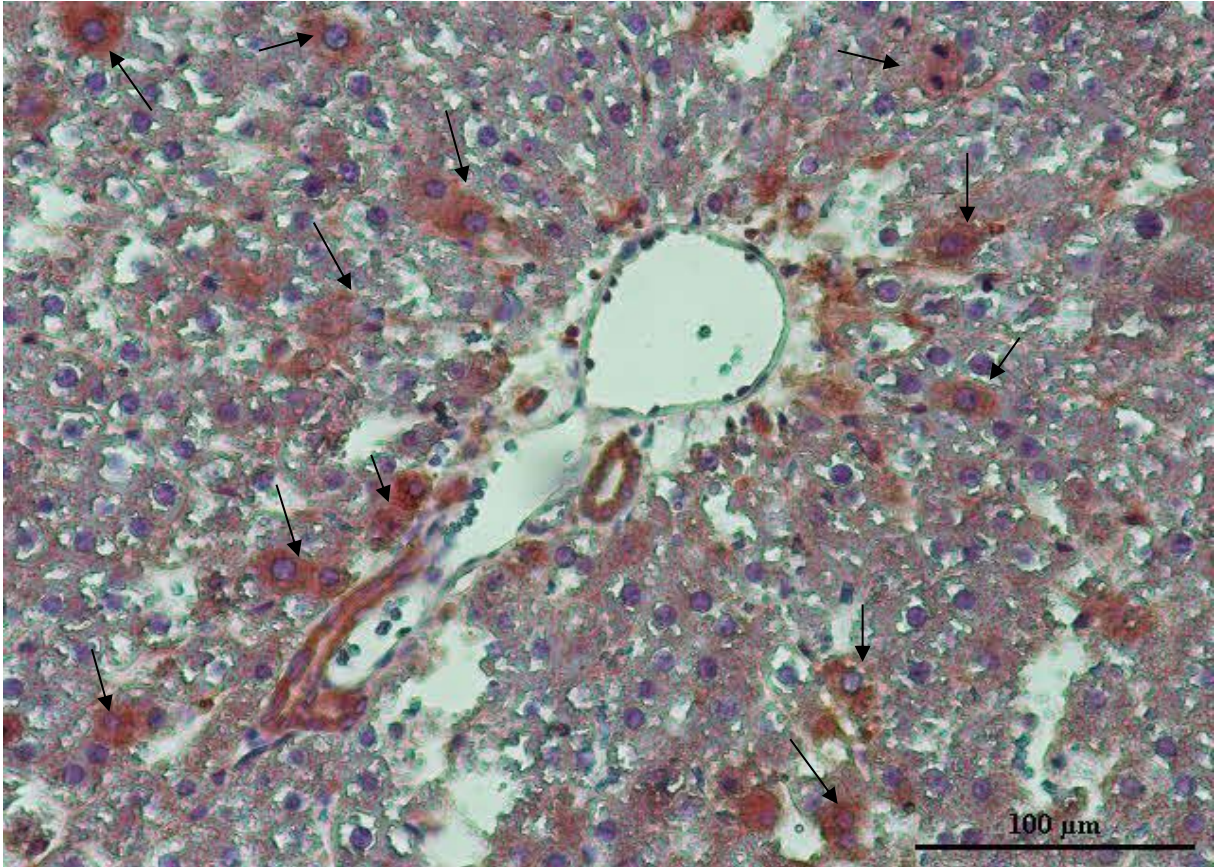


Şekil 4.6.3: Ge 200 NF-κB immünohistokimya boyaması

CP grubunda yoğun NF- κ B immünohistokimya boya tutulumları gözlemlendi (Şekil 4.6.4, 4.6.5)

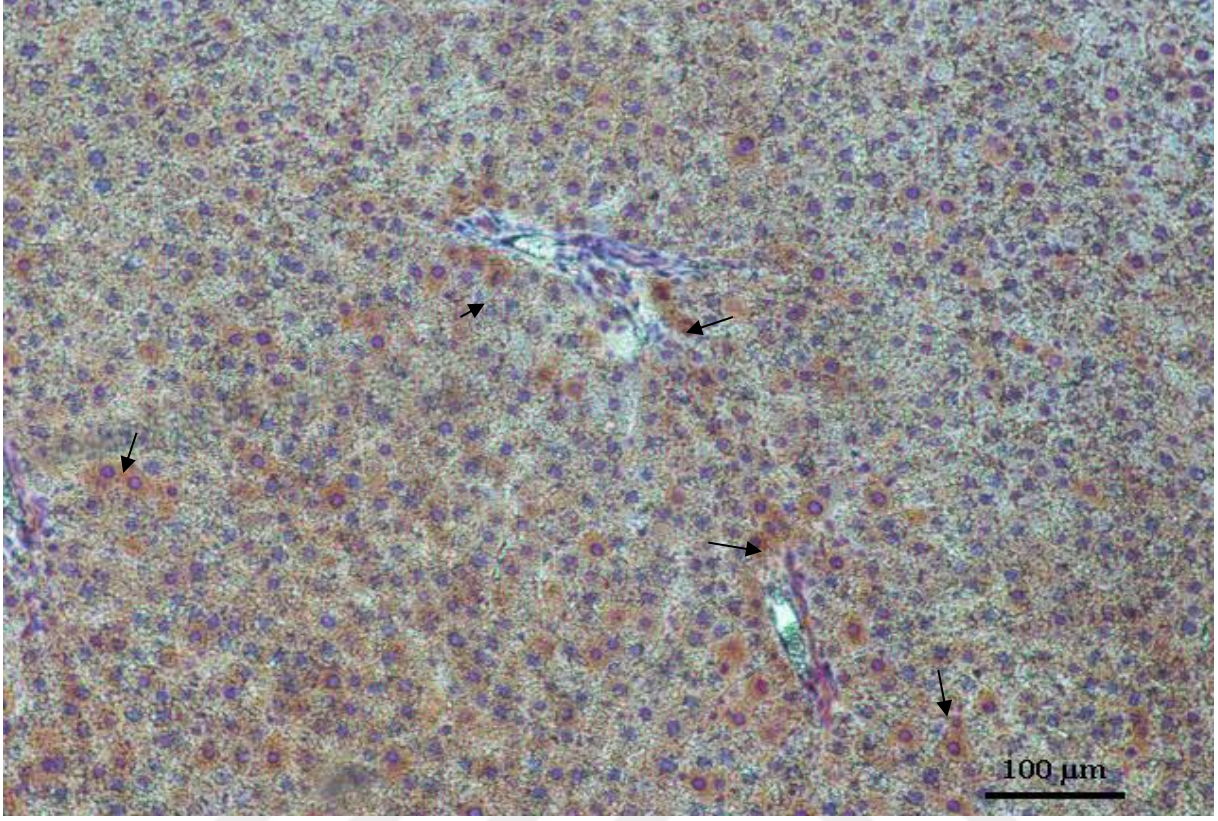


Şekil 4.6.4: CP grubu NF- κ B immünohistokimya boyaması. Boyanmalar okla gösterilmiştir.

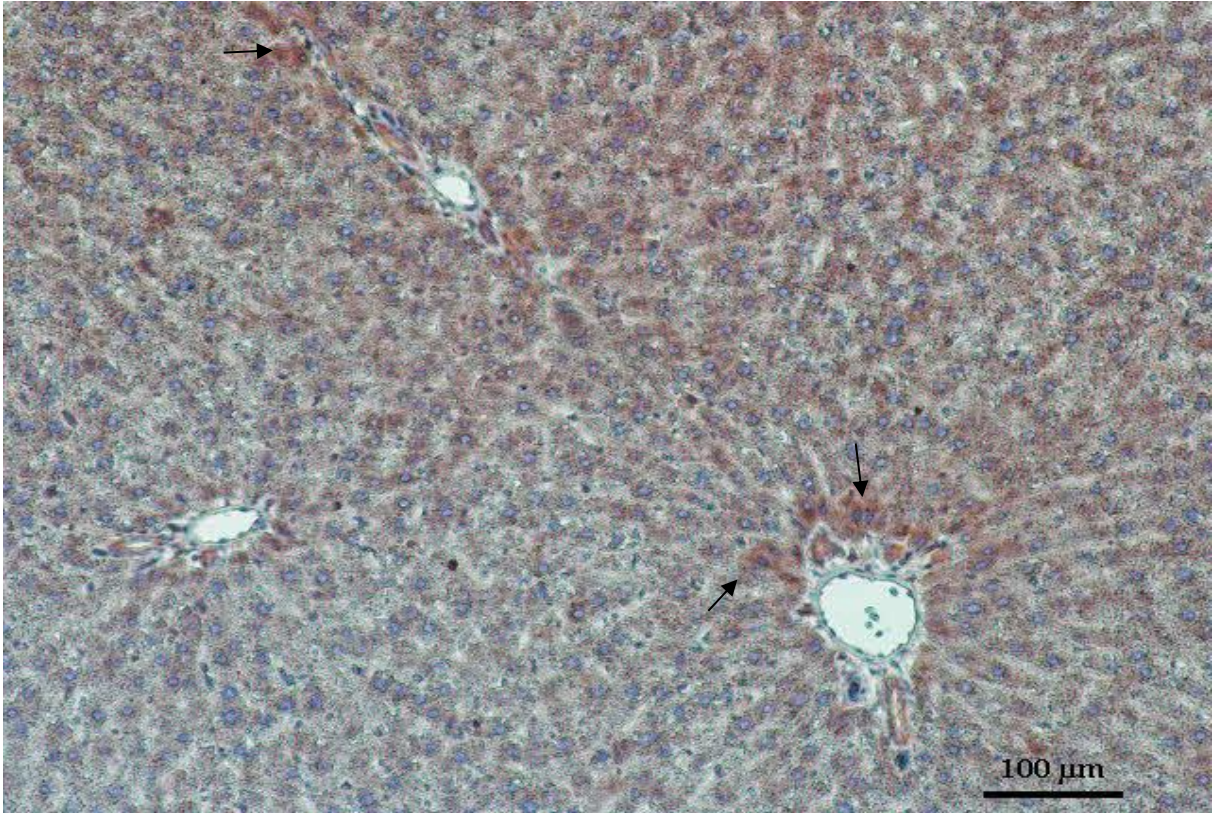


Şekil 4.6.5: CP grubu NF- κ B immünohistokimya boyaması. Boyanmalar okla gösterilmiştir.

CP+Ge100 ve CP+Ge 200mg/kg doz gruplarındaysa az miktarda boyanmalar gözlenmektedir (Şekil 4.6.7,4.6.8)

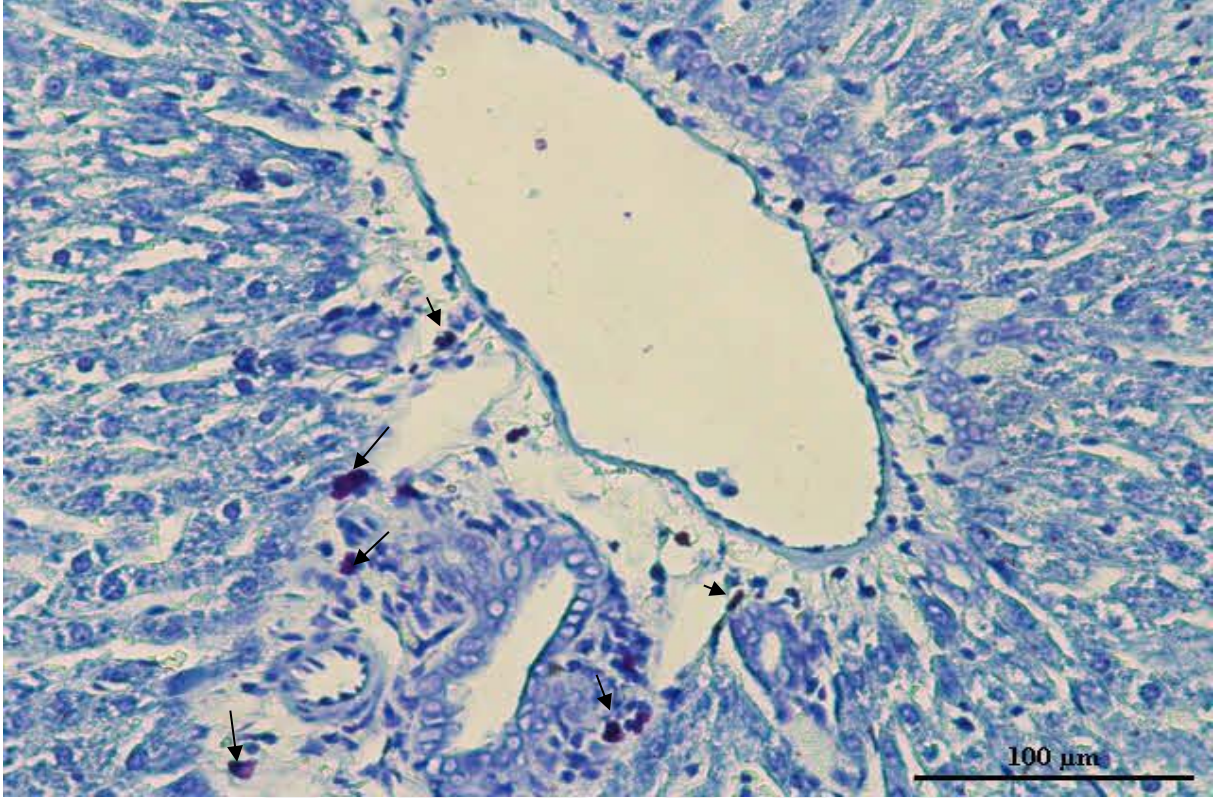


Şekil 4.6.6: CP+Ge 100mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması. Boyanmalar okla gösterilmiştir.

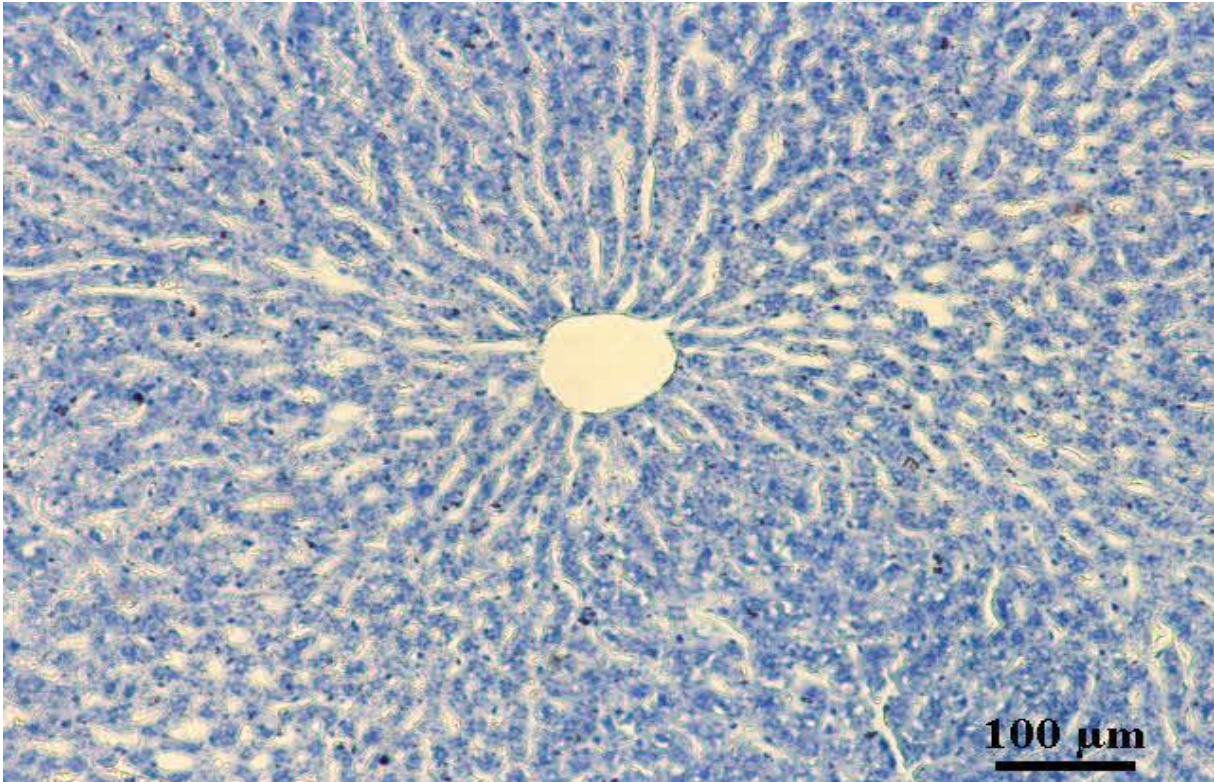


Şekil 4.6.7: CP+Ge 200mg/kg doz grubu NF-κB immünohistokimya boyaması. Boyanmalar okla gösterilmiştir.

4.7. Toluidin Mavisi Boyaması

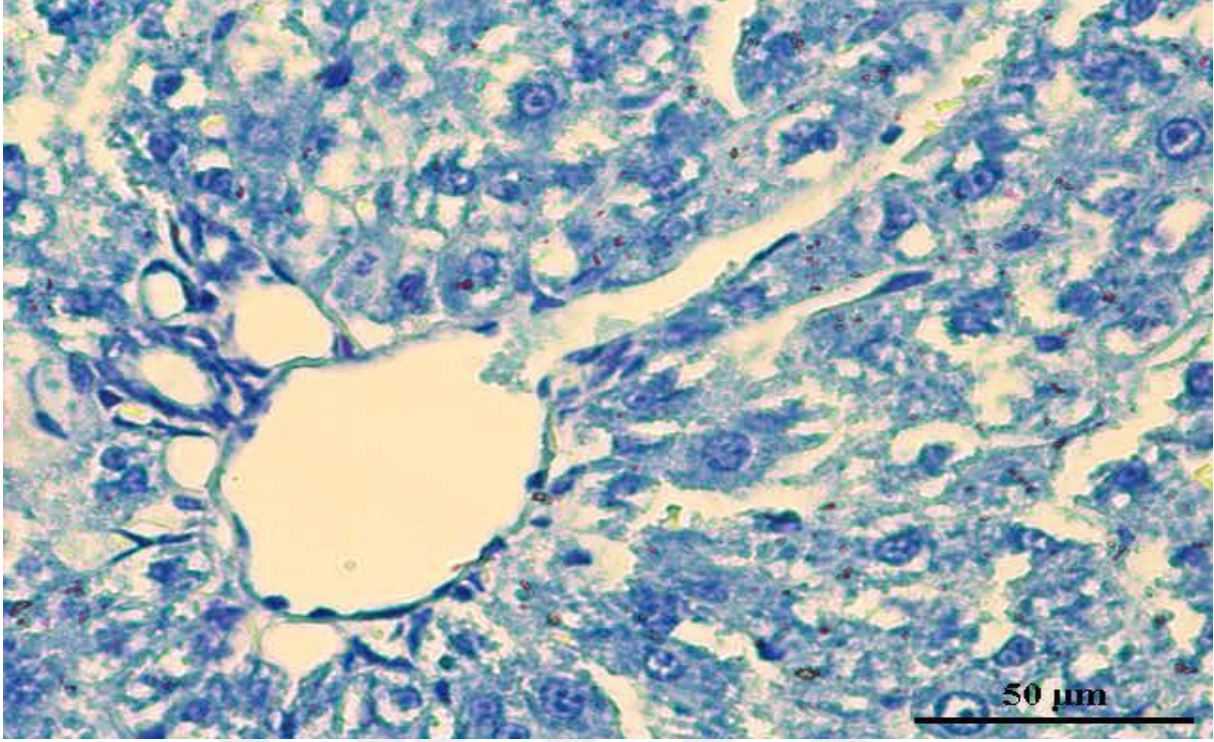


Şekil 4.7.1: Kontrol grubu toluidine mavisi boyaması. Mast hücreleri okla gösterilmiştir.

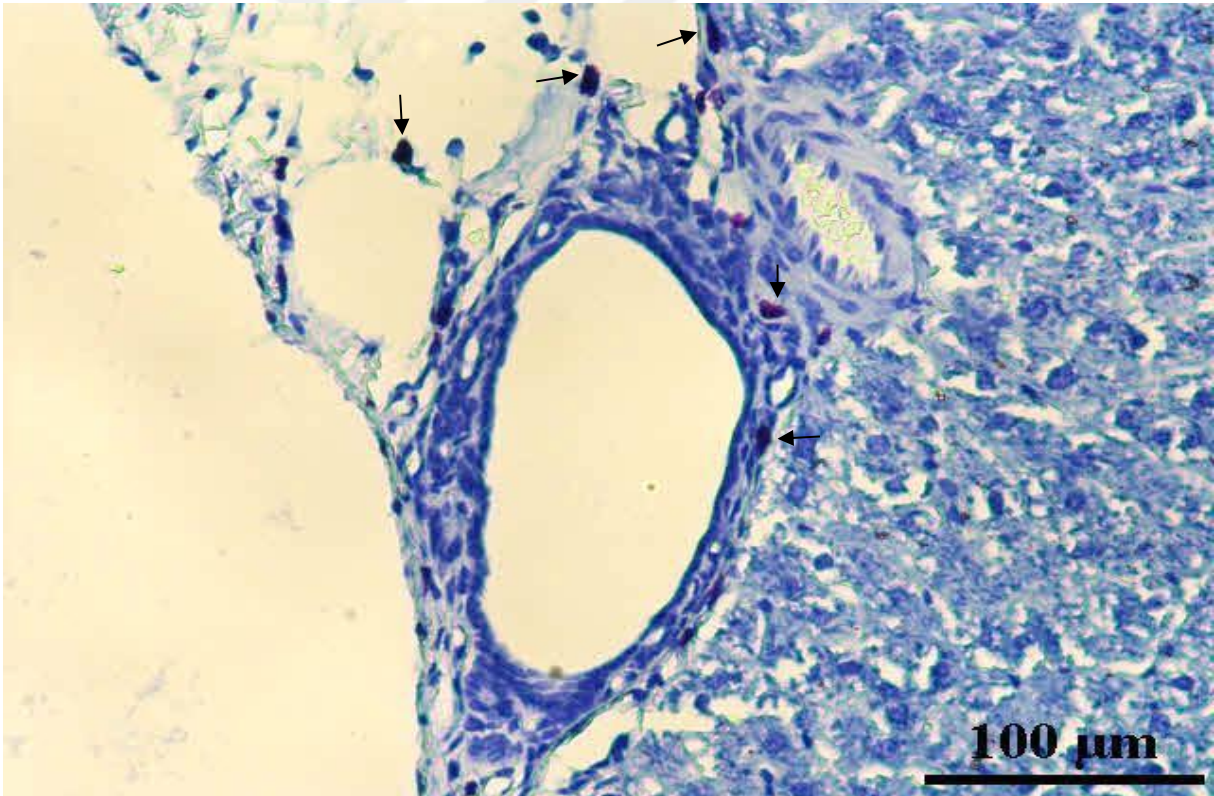


Şekil 4.7.2: CP grubu toluidine mavisi boyaması.

Kontrol grubunda gözlenen mast hücreleri CP de gözlenmemiştir (Şekil 4.7.1, 2 ve 3)

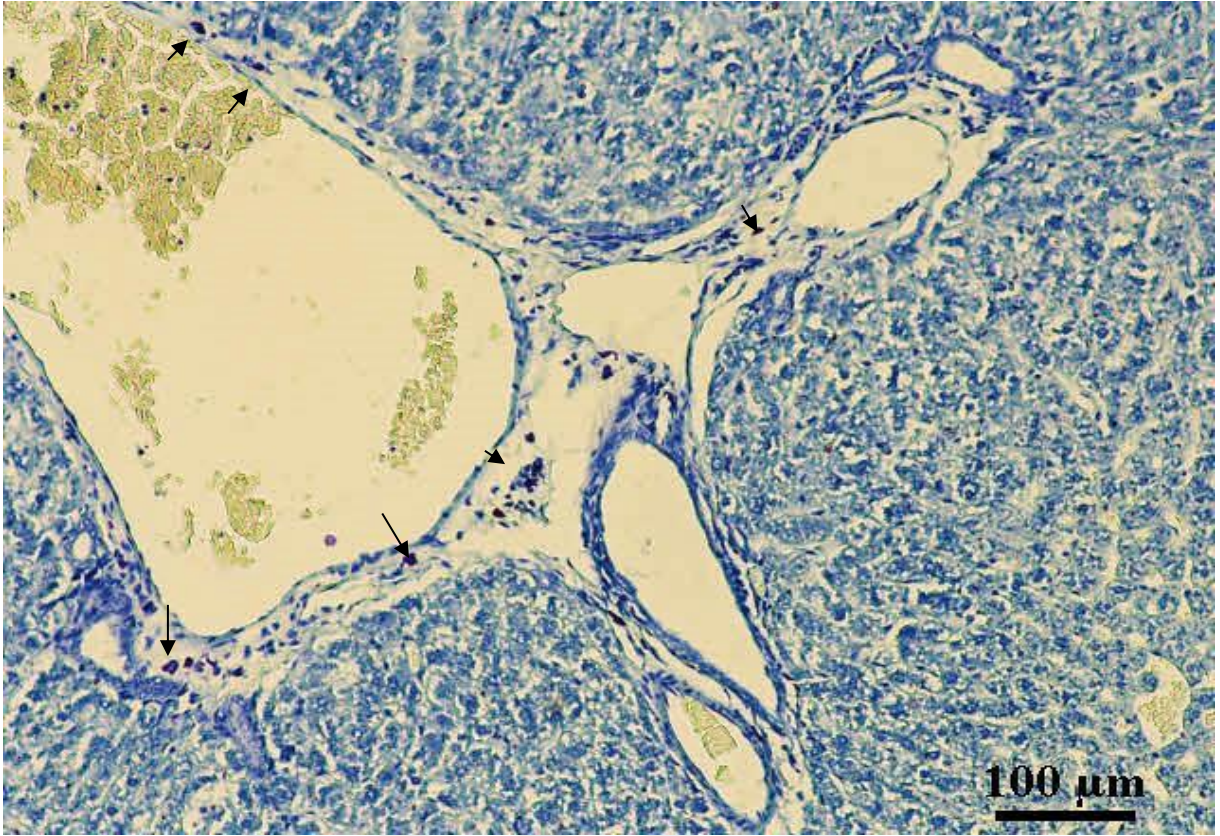


Şekil 4.7.3: CP grubu toluidine mavisi boyaması.

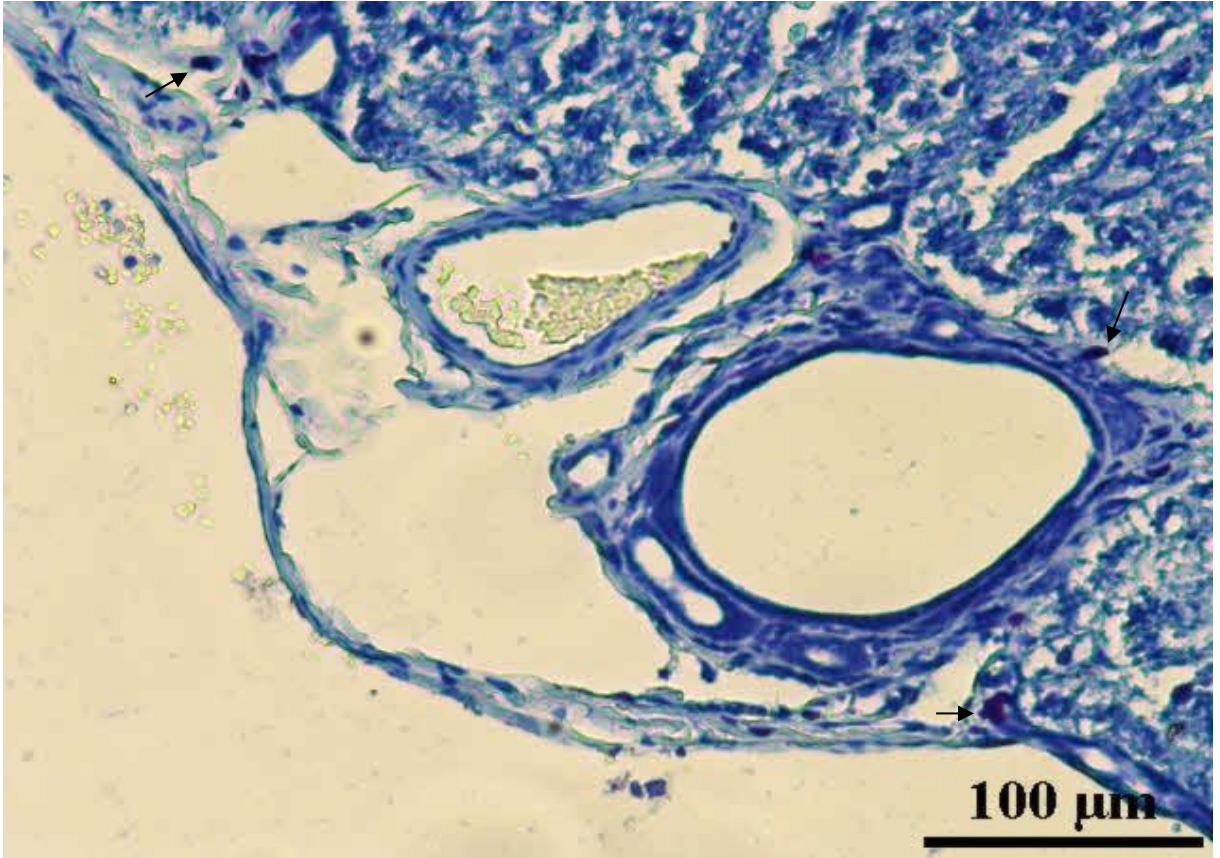


Şekil 4.7.4: Ge 100 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması. Mast hücreleri okla gösterilmiştir.

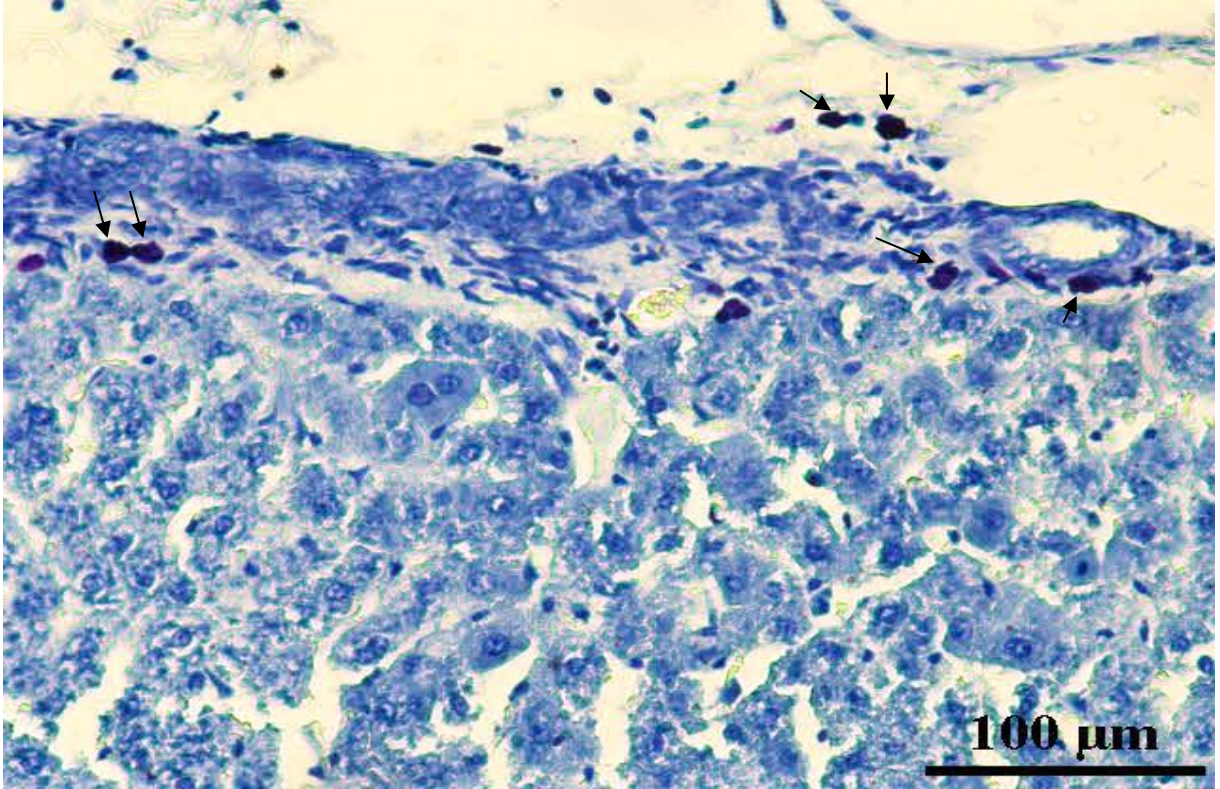
Ge 100 ve 200 mg/kg'lık gruplarda da mast hücreleri kontrol grubuna yakın sayılarda gözlenmiştir (4.7.4, 4.7.5)



Şekil 4.7.5: Ge 200 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması. Mast hücreleri okla gösterilmiştir.



Şekil 4.7.6: CP+ Ge 100 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması. Mast hücreleri okla gösterilmiştir.



Şekil 4.7.7: CP+ Ge 200 mg/kg grubu toluidine mavisi boyaması. Mast hücreleri okla gösterilmiştir.

CP+Ge 100 ve CP+ Ge 200 mg/kg grubu toluidine mavisi boyamalarında da mast hücreleri gözlenmiştir (Şekil 4.7.6, 4.7.7).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

CP; kemotöropatik ve immünsupresyon amaçlı kullanılan hayli toksik bir ilaçtır. Literatürde CP kullanımına bağlı toksisiteyi azaltmaya, engellemeye yönelik serbest radikal temizleyicisi ve antioksidan özelliği olan ajanlarla ilgili çokça yayın yer almaktadır (Todorova ve ark. 2009; Asiri 2010; Çeribaşı ve ark. 2010; Kim ve ark. 2013; Yu ve ark. 2014; Mansour ve ark. 2015; Oyagbemi ve ark. 2016; Saleh ve Mansour 2016; Bhat ve ark. 2017; Ghobadi ve ark. 2017; Heideri-Soreshjani ve ark. 2017; Khan 2017; Mahipal ve Pawar 2017; Torabi ve ark. 2017). Parve ve ark. (2017) da hazırladıkları olgu sunumunda CP tedavisi alan bir hastadaki kardiyotoksisiteyi ele almışlardır. Shirani ve ark. (2015) CP toksisitesini engellemeye yönelik çalışmalarda kullanılan 20 kadar bitkiyi ele almış ve değerlendirmişlerdir. Tripathi ve Jena (2009) yaptıkları deneysel çalışmada bir antioksidan olan astaksantin CP ile farelerde oluşturulan genotoksisiteye etkisini araştırmışlardır. CPyi tek doz (100 mg/kg) vermişler, antioksidanı da CP uygulamasından önceki beş gün boyunca uygulamışlardır. Todorova ve ark. (2009) da glutaminin kardiyotoksisiteye olan etkisinin araştırıldığı çalışmalarında, önce aminoasit vermişler, en son letal (450 mg/kg) ve subletal (200 mg/kg) dozda CP uygulamışlardır.

Karaciğer; en çok CP toksisitesinin görüldüğü organlardan biridir. CP'nin oluşturduğu karaciğer toksisitesine yönelik birçok çalışma bulunmaktadır (Basu ve ark. 2015; Duggina ve ark. 2015; Alqahtani ve Mahmoud 2016; Fahmy ve ark. 2016; Fouad ve ark. 2016; Elshater ve ark. 2017; Kocahan ve ark. 2017; Lin ve ark. 2017; Tourkey 2017). Biz de çalışmamızda karaciğer inceleme odaklı olduk. Dozumuzu önceki çalışmalarını baz alarak, toksisite oluşturacak yeterli miktarda CP uyguladık. Nafees ve ark. (2015) CP'nin oluşturduğu hepatotoksisiteye bağlı oluşan oksidatif stres ve inflamasyonu NF- κ B ve birkaç sinyalizasyon yolları üzerinden incelemişlerdir. CP uygulanan grupta NF- κ B ekspresyonunun, AST ve ALT değerlerinin anlamlı olarak yükseldiğini bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda bu çalışmadakine benzer şekilde, AST ve ALT enzim değerlerinin CP toksisitesine bağlı olarak anlamlı olarak yükseldiğini ve immünohistokimyasal NF- κ B ekspresyonunun arttığını bulduk.

Literatürde CP toksisitesiyle oluşan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptotik bulguları incelemek için NF- κ B ekspresyonu bakılan çalışma da bulunmaktadır (Alqahtani ve Mahmoud 2016). Biz de çalışmamızda literatürdeki verilerle karşılaştırma yapabilmek amacıyla NF- κ B ekspresyonuna immünohistokimyasal olarak baktık.

Cüce ve arkadaşlarının (2015) CP ile oluşan hepatotoksisiteye vitamin E'nin etkisini araştırdıkları çalışmada, CP 7 gün boyunca i.p 20 mg/kg dozunda uygulanmıştır. Biyokimyasal değerler ve TUNEL boyamalarında CP'nin hepatotoksik etkisini göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda benzer şekilde CPLi grupta TUNEL pozitif boyama elde ettik. Cüce ve arkadaşları (2015), Fouad ve ark. (2016) CP'yi 20 mg/kg i.p doz ve 7 günlük enjeksiyon halinde kullanmışlar. Biz de yaptığımız ön çalışmada karaciğerde 20 mg/kg dozu 7 gün uygulayarak toksisite oluşturduk ve çalışmamızda da bu dozu kullandık.

Zarei ve Shivanandappa (2013) siklofosfamidin karaciğer üzerindeki etkisini 2 farklı dozda antioksidan vererek araştırmışlardır. Çalışmalarında 10 gün boyunca intraperitoneal CP ve oral antioksidan uygulamışlardır. AST ve ALT değerlerinde CP uygulanan grupta anlamlı yükselmeler olmuştur. Yine sadece CP uygulanan gruba göre antioksidan eklenen gruplarda anlamlı bir şekilde antioksidatif enzimlerde yükselme olmuştur. Merwid-Lad ve ark. (2014) da çalışmalarında CP uygulanan grupta antioksidan enzimlerde anlamlı bir şekilde düşme gözlemlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde AST ve ALT değerleri sadece CP uygulanan grupta anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Yine bizim çalışmamızda da TOS değerleri sadece CP'li grupta anlamlı şekilde yüksek çıkmıştır, TAS değerleri ise diğer tüm gruplarda CP grubuna göre anlamlı yüksek çıkmıştır.

CP; ROSun fazlaca üretimine sonra oksidatif stres ile lipid peroksidasyonuna sebep olur ve inflamatuvar süreci başlatmış olur (Alqahtani ve ark. 2016). Sonraki aşamada nükleer faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolağı aktive olur ve inflamatuvar sitokinlerin üretiminde artış meydana gelir. ROS üretiminin fazlası tümör oluşumuna giden yolu başlatır. O yüzden ROS birikimini engelleyici mekanizmalar önemlidir. Proinflamatuvar sitokinler aynı zamanda prokanserojendirler. NF-κB proinflamatuvar genlerin transkripsiyonunu indükleyerek inflamasyonda önemli bir rol oynar. Aynı zamanda immün cevap, hücrel sağkalım ve hücre proliferasyonunda da önemlidir. Khan ve ark. (2013) da geraniolün oksidatif stres ve inflamasyona etkisini immünohistokimyasal olarak MAPK, NF-κB ve COX-2 üzerinden farelerde araştırmışlardır. Her üç yolda da geraniolün oksidatif stresi ve inflamasyonu önleyici etkisinin olduğu gösterilmiştir. Literatürde geraniolün oksidatif stres, apoptozis ve inflamasyon üzerindeki etkisine yönelik NF-κB ekspresyonları değerlendirilen başka çalışmalar da bulunmaktadır (Soubh ve ark. 2015; Wang ve ark. 2016). Biz de çalışmamızda immünohistokimyasal olarak NF-κB ekspresyonunu çalıştık ve literatüre uygun olarak sadece CP uygulanan grubumuzda diğer gruplara göre anlamlı bir şekilde NF-κB ekspresyonu

gözlemledik. CP ve geraniolün birlikte uygulandığı gruplardaysa NF-κB boyanmasında anlamlı bir düşme gözlemledik.

Geraniol; kozmetik ve güzel koku üretiminde kullanıldığı gibi antiinflamatuvar, antioksidan gibi birçok etkiye sahiptir. Geraniolün; hücre siklusu, hücre sağkalımı ve proliferasyonu, apoptozis, otofaji ve metabolizma gibi çeşitli biyolojik olaylardaki sinyal molekül ve yolağı kontrolünde etkin olduğu görülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalarda; geraniolün deneysel oluşturulan toksisite, inflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki iyileştirici etkisini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Köse ve ark. 2012; Prasad ve Muralidhara 2014; Wang ve ark. 2016; Jiang ve ark. 2017).

Ge, HMG CoA redüktazı inhibe ederek ve lipogenezisi baskılayarak hiperlipidemiye önler. Geraniolün antihiperlipidemik etkisine yönelik de birçok çalışma bulunmaktadır (Galle ve ark. 2015; Jayachandran ve ark. 2015b, Jayachandran ve ark. 2015c). Jayachandran ve ark. (2015a) aterojenik diyet alan hamsterlarda, lipid metabolizmasını düzenleyeceğini düşünerek 12 hafta boyunca 50, 100 ve 200 mg/kg olacak şekilde 3 farklı dozda Ge vermişlerdir. Bu çalışmada, antihiperlipidemik etki için en etkin Ge dozunun 100 mg/kg olduğu görülmüştür. HMG CoA redüktaz inhibisyonunun antikarsinojenik etkiyi de sağladığı daha önce gösterilmiştir (Carnesecchi ve ark. 2002).

Jayachandran ve ark. (2015c) NF-κB sinyalizasyon yolağı üzerinden geraniolün antiinflamatuvar ve antifibrotik etkilerini gözlemlemişlerdir. İnflamatuvar mast hücrelerini göstermek için toluidin mavisi boyaması da yapılmış ve aterojenik grupta belirgin mast hücre artışı gözlenmiş, geraniol eklenen gruptaysa anlamlı bir şekilde inflamatuvar mast hücrelerinde azalma gözlenmiştir. Biz de çalışmamızda olası ilerlemiş inflamasyon bulgusu gözlemek için mast hücre tayini yaptık.

Cardozo ve ark. (2011) deneysel hepatokarsinom oluşturulmuş sıçanlarda geraniol ve yine bir çeşit izoprenoid olan β-iyoninin, hücre proliferasyonu ve apoptozise etkisini araştırmışlardır. Geraniolün preneoplastik lezyonları anlamlı bir şekilde apoptozise götürdüğü gözlenmiştir. Kim ve ark. (2011) geraniolün hücre siklusuna ve apoptozise etki ederek prostat kanser hücrelerinde büyümeyi engellediğini göstermişlerdir. Bu çalışmada geraniolün; intrinsik apoptotik yolaktaki mitokondriyal membran depolarizasyonunu farkedilir şekilde uyardığını bulmuşlardır. Geraniolün antikanserojenik etkisine yönelik literatürde birçok

çalışma bulunmaktadır (Vinothkumar ve ark. 2012; Cho ve ark. 2016; Sawada ve ark. 2016; Madankumar ve ark. 2017).

Madankumar ve ark. (2013) geraniolün hepatik faz 1 ve faz 2 enzim düzeylerine etkisini ölçerek deneysel oral karsinoma etkisini araştırmışlardır. Geraniolün faz 1 enzimleri üzerinde inhibe edici etki gösterdiği faz 2 enzimleriniyse up-regüle ettiğini ve bu sebeple de antiinflamatuvar ve antikarsinojenik etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal değerler de bu bilgileri destekler niteliktedir.

Babakumar ve ark. (2017) geraniolün antidiyabetik etkisini çalışmalarında göstermişlerdir. Sherehan ve ark. (2015) metabolik sendrom oluşturulmuş sıçanlara 4 hafta boyunca Ge (250mg/kg) tek başına ve antidiyabetik ile birlikte, oral yolla verilmiştir. Ge'nin tek başına ve antidiyabetikle, metabolik sendromla ilişkilendirilen inflamatuvar süreci ve serbest radikal zararını düzelttiği görülmüştür. AST ve ALT değerlerinde metabolik sendromlu gruba göre anlamlı düşmeler olmuştur. Biz de çalışmamızda CP+Ge 100 mg/kg ve CP+Ge 200 mg/kg gruplarında AST ve ALT değerlerinde CP grubuna göre anlamlı düşme bulduk.

Pavan ve ark. (2018) Ge'nin biyoyararlanımını ve karaciğer enzimlerine etkisini araştırmak üzere fare ve sıçanlarda çalışma yapmışlardır. Farelerdeki çalışmada; Ge 120 mg/kg oral gavaj yoluyla 4 hafta boyunca uygulanmış, ALT ve AST değerlerinde herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Sitokrom P450 enziminde hafif ama anlamsız bir artış gözlenmiştir. Sıçanlarla olan çalışmadaysa; biyoyararlanım araştırılması hedeflenmiş, Ge tek doz hem intravenöz (iv) infüzyon olarak hem de oral gavaj yoluyla, 50mg/kg dozunda verilmiştir. Oral gavajla verilen Ge iki farklı şekilde hazırlanmıştır. İlkinde gliserolle emülsifiye halde, ikincisinde özel bir bitkisel lif içeriğiyle verilmiş ve biyoyararlanımları kıyaslanmıştır. Emülsifiye haldeki grupta biyoyararlanım %90'ların üzerindeyken diğer grupta sadece %15 civarı bulunmuştur. İntravenöz verilen gruptaki biyoyararlanım emülsifiye halde verileden hafifçe bir miktar fazladır. İv uygulananlarda geraniolün kandaki konsantrasyonları ilk 5-10 dakika içersinde zirve yapmışken oral yolla uygulananlarda bu süre 30 dakika civarındadır ancak iv uygulamadaki konsantrasyon çıkış ve inişleri daha keskindir. Yani emülsifiye halde oral gavaj yoluyla Ge uygulaması hem kolay ve komplikasyon riski az hem de biyoyararlanım olarak iv uygulamaya neredeyse denktir. Literatürde birçok çalışmada geraniol mısır yağı ile emülsifiye halde kullanılmıştır (Chen ve ark. 2016; Özkaya ve ark. 2017, 2018). Biz de bu yüzden çalışmamızda Ge'yi mısır yağı ile emülsifiye halde oral gavaj yoluyla kullandık.

Özkaya ve ark. (2018) sıçanlarda kurşun asetatla oluşturulan karaciğer toksisitesi üzerine geraniolün etkilerini araştırmışlardır. 30 gün boyunca hem kurşun asetat hem de Ge (50 mg/kg dozunda) oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Oksidatif stres göstergesi olan MDA ve GSH düzeylerinin kurşun asetat uygulanması sonucu arttığı ve geraniol uygulaması ile bu değerlerde anlamlı bir şekilde düzelme olduğu gösterilmiştir. H&E ve immünohistokimyasal boyamada da iyileşme gözlenmiştir.

De Fazio ve ark (2016) Ge'yi inflamatuvar bağırsak hastalığında oral olarak ve lavman yoluyla kullanmışlar ve kriplerde histopatolojik düzelme olduğunu göstermişlerdir. Ge, PGE₂(Prostaglandin E2)'yi ve TNF- α 'yı inhibe ederek antiinflamatuvar etkisini oluşturur. Maruyama ve ark. (2008) vajinal kandidiyaziste geraniol kullanmışlar ve belirgin iyileşme gözlemlemişlerdir. Boukhatem ve ark. (2013) da farelerde kulak ödeminde geraniol ve sitronelol ağırlıklı geraniyumun antiinflamatuvar etkisini araştırmak için üç farklı doz kullanmışlar (100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg), yüksek olan iki dozda antiinflamatuvar etkiyi gözlemlemişlerdir. De Carvalho ve ark. (2014) sıçanlarda gastrik ve duodenal ülserlere geraniolün etkisini araştırmışlar ve etkin olan minimum dozu bulmaya çalışmışlardır. Geraniolün 7.5mg/kg dozunda dahi %70'e varan koruma sağladığını, 200 mg/kg dozunda ise bu oranın %99 olduğunu göstermişlerdir. Soubh ve ark. (2015) da kolit modeli sıçanlarda geraniolün iyileştirici etkisini β katenin, MAPK, NF- κ B ve PPAR γ sinyalizasyon yolları üzerinde incelemiş ve antioksidan, antiinflamatuvar özelliklerini gözlemlemişlerdir.

Burke ve ark. (1997) izoprenoidlerin pankreatik kanser hücrelerine etkisini, in vitro ve in vivo olarak hamsterlarda incelemişlerdir. Çalışmada peril alkol, farnesol ve geraniolü diyetle ekleyerek kullanmışlardır. İzoprenoidleri, tümör enjeksiyonundan 1 hafta önce, tümör enjeksiyonuyla eş zamanlı ve tümör palpe edilebilir haldeyken olmak üzere üç farklı zamanda kullanmışlar ve üçünde de belirgin tümör regresyonu gösterilmiştir. Geraniolün etkisini in vivo da farnesolle eş, peril alkoldense daha fazla bulmuşlardır. Total kolesterol seviyelerine de bakılmışlar ve herhangi bir değişiklik bulunmamıştır.

Geraniolün mevalonat biyosentezini inhibe ederek sıçanlarda hepatoma ve farelerde melanomayı baskıladığı gösterilmiştir (Yu ve ark. 1995). İzoprenoidlerin, mevalonat kinaz eksikliği oluşturulan farelerdeki antiinflamatuvar etkiyi düzelttiğini gösteren çalışmada yine geraniol de kullanılmıştır (Marcuzzi ve ark. 2008; Marcuzzi ve ark. 2011). Liao ve ark. (2016) da geraniolün mevalonat yolağındaki etkisine yönelik çalışmışlardır.

Geraniolün kendi antiinflamatuvar etkisi olduğu gibi başka antiinflamatuvarların etkisini arttırdığı da gözlenmiştir. Kigasawa ve ark. (2009) transdermal olarak uygulanan Diklofenak Sodyumun, geraniolle birlikte verildiğinde 20 kat daha etkin olduğunu ve ciltte oluşan irritasyonun da anlamlı bir şekilde azaldığı göstermişlerdir. Chen ve Viljoen (2010) de yaptıkları derlemede, geraniolün bazı transdermal ilaçlarla birlikte uygulandığında ilaçların emilimini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Chadha ve Madyastha (1984) sıçanlara 6 gün boyunca 600 mg/kg dozunda geraniol vermişler ve karaciğer enzimlerinde kontrol grubuna göre herhangi anlamlı bir değişiklik gözlememişlerdir. Lapczynski ve ark. (2008) geraniolün 100 mg/kg ile 1000 mg/kg arası dozlarda uygulandığı çalışmaları değerlendirmişler ve herhangi bir toksisite verisine ulaşmamışlardır, yine derlemelerinde verilerini inceledikleri makalelerde genotoksisiteye veya herhangi bir karsinojenik etkiye rastlamamışlardır.

Tiwari ve Kakkar (2009) deneysel oksidatif stres oluşturulan in vitro fare alveolar makrofajlarında, geraniol ve bir başka monoterpenoid olan kamfenin etkilerini araştırmışlardır. Monoterpenoidleri oksidatif stres ajanından önce ve sonra olmak üzere iki farklı zamanda uygulamışlardır. Oksidatif stres ajanından hem önce hem de sonra verilen monoterpenoidlerin ikisinin de antioksidatif etkisi anlamlı olarak görülmekle birlikte geraniolün kamfene oranla daha etkin olduğu görülmüştür. Marcuzzi ve ark. (2008, 2011) ise çalışmalarında inflamasyon başlangıcından önce geraniol verilmeye başlanan grupta anlamlı olarak daha etkin iyileşme gözlemlemişlerdir. Biz de çalışmamızın etkinliğini arttırabilmek amacıyla geraniolü hem oksidatif stres ajanımız olan CP uygulaması öncesi (profilaktik) hem de CP ile eş zamanlı uyguladık.

Su ve ark. (2010) in vitro fare makrofaj hücrelerinde indüklenen NO ve PGE₂ üretimine sitronelol ve geraniolün etkilerini araştırmışlardır. Sitronelol sadece iNOS enzimatik aktivitesini azaltırken geraniol iNOS protein ve mRNA ekspresyon seviyelerini de düşürmüştür. İnflamasyon ve tümör progresyonu başlangıcında önemli bir rolü olan NF-κB'nin up-regülasyonunun arttığı western blot yöntemiyle gösterilmiştir.

Hasan ve Sultana (2015) geraniolün, asetilaminoflorenle sıçan karaciğerinde oluşan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozise NF-κB ve bazı sinyalizasyon yolları üzerinden etkisini araştırmışlardır. Hiperproliferasiyona sebep olarak karsinojenik etki oluşturmak için de parsiyel hepatektomi uygulamışlardır. Geraniolü 100 mg/kg ve 200 mg/kg olacak şekilde iki

farklı dozda uygulamış ve her iki dozda da antiinflamatuvar ve antioksidatif etkinliğini göstermişlerdir. 200 mg/kg dozunda verilen geraniolün daha etkin olduğu gösterilmiştir. Biz de literatürdeki birçok çalışmayı da göz önünde bulundurarak (Jayachandran ve ark. 2015b; Chen ve ark. 2016; Babakumar ve ark. 2017; Lv ve ark. 2017) çalışmamızda bu iki dozu kullandık ve geraniolün iyileştirici etkilerini elde ettik.

Güneş (2010) çalışmasında; H₂O₂ ile oluşturulan oksidatif strese geraniolün etkisini çeşitli metaller üzerinden değerlendirmiştir. Oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda doku Ca⁺² düzeylerinin arttığı, Zn⁺² düzeylerininse düştüğü gösterilmiştir. Geraniol ve geraniol ksantat uygulanan gruplarda Ca⁺² düzeylerinin düştüğü Zn⁺² düzeylerininse yükseldiği gösterilmiştir.

Danış (2015) da çalışmasında böbrek iskemi/reperfüzyon hasarına karşı geraniolün koruyucu etkisini göstermiştir.

Canbek ve ark. (2017) sıçanlarda parsiyel hepatektomi sonrası tek doz geraniol uygulamasının, biyokimyasal ve histolojik olarak düzelmeye sağladığını göstermişler ve Ge'nin karaciğer rejenerasyonunu indüklediğini bulmuşlardır. Ceyhan ve Canbek (2017) de geraniolün karaciğer rejenerasyonu üzerine etkisini çalışmışlardır.

Sonuç olarak; çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, geraniolün CP ile oluşturulan hepatotoksisiteye etkisi gözlemlenmiştir. Uyguladığımız dozların ikisinde de iyileştirici etkiyi görmüş olup 200 mg/kg uygulanan dozda istatistiksel olmayan (TAS'da anlamlı fark) daha iyileştirici etkiler görüldü. Kullanılan dozlar, uygulama yolları, süreleri, uygulamanın yapıldığı yaş ve cinsiyet, uygulamalarda kullanılan maddelere ve bizim uygulamada kullandığımız CP ve geraniolün oluşturduğu metabolik olayların sürecine ve işleyişine etki etmektedir. Bu nedenle sonuçlar kişiden kişiye değişmektedir. İnsan sağlığı açısından en ideal doz ve kullanım süreleri gibi değerlerin belirlenebilmesi için yapılan çalışmalara devam edilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Abelson JN, Simon MI, Pyle AM. In *Methods in Enzymology Part A*. Elsevier, 2014, p: 75-106
- Ahmad ST, Arjumand W, Seth A, Nafees S, Rashid S, Ali N, Sultana S. Preclinical renal cancer chemopreventive efficacy of geraniol by modulation of multiple molecular pathways. *Toxicology*. 2011;290: 69-81.
- Alqahtani S, Mahmoud AM. Gamma-glutamylcysteine ethyl ester protects against cyclophosphamide induced liver injury and hematologic alterations via upregulation of PPAR γ and attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016: 4016209.
- Altay Z. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ, 2016 (Tez Danışmanı: Prof. Dr. Seval Yılmaz).
- Asiri YA. Probucol attenuates cyclophosphamide-induced oxidative apoptosis, p53 and bax signal expression in rat cardiac tissues. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2010;3(5): 308-16.
- Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, Klein JDD, Derks KWJ, Bourgeois BRM, Stryeck S, Rijksen Y, van Willigenburg, Feijtel DA, van der Pluijm, Essers J, van Cappellen WA, Pothof WFJ, de Bruin RWF, Madl T, Hoeijmakers JHJ, Can J. Targeted apoptosis of senescent cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging. *Cell*. 2017;169: 132-47.
- Babukumar S, Vinothkumar V, Sankaranarayanan C, Srinivasan S. Geraniol, a natural monoterpene, ameliorates hyperglycemia by attenuating the key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*. 2017;55(1): 1442-49.
- Bard M, Albrecht MR, Gupta N, Guynn CJ, Stillwell W. Geraniol interferes with membrane functions in strains of *Candida* and *Saccharomyces*. *Lipids*. 1988;23(6): 534-8.
- Basu A, Bhattacharjee A, Samanta A, Bhattacharya S. Prevention of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and genotoxicity: Effect of an L-cysteine based oxovanadium(IV) complex on oxidative stress and DNA damage. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2015;40(3): 747-57.
- Başaran A. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı, Pelikan Yayıncılık, 2010, Ankara p: 295-305
- Başer KHC. Uçucu yağlar ve aromaterapi. *Fitomed*. 2009;7:8-25.
- Baydar H, Baydar NG. Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde distilasyon ürünlerinin uçucu yağ ve fenolik madde içerikleri ile antiradikal ve antioksidan aktiviteleri. *Tarım Bilimleri Dergisi*. 2017;23: 1-9.
- Bayramgürler D, Demirsoy EO. Mast hücreleri ve aktivasyonu. *Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi*. 2013;47:Özel Sayı 1: 37-40.
- Bhatt L, Sebastian B, Joshi V. Magniferin protects rat myocardial tissue against cyclophosphamide induced cardiotoxicity. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2017;8(2): 62-67.
- Boukhatem MN, Kameli A, Ferhat MA, Saidi F, Mekarnia M. Rose geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. *Libyan Journal of Medicine*. 2013;8(1): 22520.
- Bozza WP, Twomey JD, Kim SR, Zhang B. Detection of apoptosis: From bench side to clinical practice. In: *Apoptosis Methods in Toxicology, Methods in Pharmacology and Toxicology*. Springer, Inc 2016, New York, USA, p:13-28.
- Burke YD, Stark MJ, Roach SL, Sen SE, Crowell PL. Inhibition of pancreatic cancer growth by the dietary isoprenoids farnesol and geraniol. *Lipids*. 1997;32(2): 151-6.
- Can A. Kök Hücre Biyolojisi, Türleri ve Tedavide Kullanımları. Akademisyen Tıp Kitabevi, Inc.2014, Ankara, p: 520-8.
- Can S. Sıçanlarda uzun süreli böbrek iskemisi/reperfüzyon hasarına karşı geraniol'ün koruyucu etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2014 (Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mediha Canbek)

- Canbek M, Uyanoglu M, Canbek S, Ceyhan E, Ozen A, Durmus B, Turgak O. The effect of geraniol on liver regeneration after hepatectomy in rats. *In Vivo*. 2017;31(2): 209-13.
- Cardozo MT, de Conti A, Ong TP, Scolastici C, Purgatto E, Horst MA, Bassoli BK, Moreno FS. Chemopreventive effects of β -ionone and geraniol during rat hepatocarcinogenesis promotion: distinct actions on cell proliferation, apoptosis, HMGC_oA reductase, and RhoA. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011;22(2): 130-5.
- Carnesecchi S, Bradaia A, Fischer B, Coelho D, Schöller-Guinard M, Gosse F, Raul F. Perturbation by geraniol of cell membrane permeability and signal transduction pathways in human colon cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;303(2): 711–5.
- Ceyhan E, Canbek M. Determining the effects of geraniol on liver regeneration via the nuclear factor κ B pathway after partial hepatectomy. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. 2017;23(3): 38-45.
- Ceribaşı AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ateşşahin A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology*. 2010;107(3): 730-6.
- Chadha A, Madyastha KM. Metabolism of geraniol and linalool in the rat and effects on liver and lung microsomal enzymes. *Xenobiotica*. 1984;14(5): 365-74.
- Chen J, Fan X, Zhou L, Gao X. Treatment with geraniol ameliorates methionine-choline-deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2016;31(7): 1357-65.
- Chen W, Viljoen AM. Geraniol-A review of a commercially important fragrance material. *South African Journal of Botany*. 2010;76(4): 643-51.
- Cho M, So I, Chun JN, Jeon JH. The antitumor effects of geraniol: Modulation of cancer hallmark pathways (Review). *International Journal of Oncology*. 2016;48(5): 1772-82.
- Courtois G, Pescatore A, Gautheron J, Fusco F, Ursini MV, Senegas A. *NF- κ B-Related Genetic Diseases*. Springer, Inc 2016, p: 1-18
- Crespo R, Wei K, Rodenak-Kladniew B, Mercola M, Ruiz-Lozano P, Hurtado C. Effect of geraniol on rat cardiomyocytes and its potential use as a cardioprotective natural compound. *Life Sciences*. 2017;172: 8-12.
- Cuce G, Çetinkaya S, Koç T, Esen HH, Limandal C, Balcı T, Kalkan S, Akoz M. Chemoprotective effect of vitamin E in cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats. *Chemico-biological Interactions*. 2015;232: 7-11.
- Danış S. Sıçanlarda kısa süreli böbrek iskemisi / reperfüzyon hasarına karşı geraniolün koruyucu etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 2015 (Tez Danışmanı: Doç.Dr. Mediha Canbek).
- de Carvalho KI, Bonamin F, Dos Santos RC, Périco LL, Beserra FP, de Sousa DP, Filho JM, da Rocha LR, Hiruma-Lima CA. Geraniol-a flavoring agent with multifunctional effects in protecting the gastric and duodenal mucosa. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2014;387(4): 355-65.
- De Fazio L, Spisni E, Cavazza E, Strillacci A, Candela M, Centanni M, Ricci C, Rizzello F, Campieri M, Valerii MC. Dietary geraniol by oral or enema administration strongly reduces dysbiosis and systemic inflammation in dextran sulfate sodium-treated mice. *Frontiers in Pharmacology*. 2016;7: 38.
- Ding WX, Yin XM *In Cellular Injury in Liver Diseases*. Springer, Inc. 2017, p: 9-13
- Duggina P, Kalla CM, Varikasuvu SR, Bukke S, Tartte V. Protective effect of centella triterpene saponins against cyclophosphamide-induced immune and hepatic system dysfunction in rats: its possible mechanisms of action. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2015;71(3): 435-54.
- Eckel CM. *Human Anatomy Laboratory Manual*. McGraw-Hill Education, Third Edition, Inc.2017, New York, USA. p: 458-66.
- Elshater AA, Haridy MAM, Salman MMA, Fayyad AS, Hammad S. Fullerene C₆₀ nanoparticles ameliorated cyclophosphamide-induced acute hepatotoxicity in rats. *Biomedicine Pharmacotherapy*. 2018;97: 53-9.
- Eşrefoğlu M. *Embriyoloji*. İstanbul Tıp Kitabevleri, Inc.2016, İstanbul, p: 165-8

- Ettaya A, Dhibi S, Samout N, Elfeki A, Hfaiedh N. Hepatoprotective activity of white horehound (*Marrubium vulgare*) extract against cyclophosphamide toxicity in male rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2016;94(4): 441-47.
- Farhath MSS, Vijaya PP, Vimal M. Antioxidant activity of geraniol, geraniol acetate, gingerol and eugenol. *Research in Pharmacy*. 2013;3(1): 1-6.
- Fahmy SR, Amien AI, Abd-Elqleel, Elaskalany SM. Antihepatotoxic efficacy of *Mangifera indica* L. polysaccharides against cyclophosphamide in rats. *Chemico-biological Interactions*. 2016;244: 113-20.
- Ferrari CKB. The biology of nuclear factor kappa beta (NF- κ B) in health and pathology. *International Refereed Research Journal*. 2011 p: 53-9
- Floch MH. *Netter Gastroenteroloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, Inc.2011, İstanbul, p: 662-84
- Fouad AA, Qutub HO, Al-Melhim WN. Punicalagin alleviates hepatotoxicity in rats challenged with cyclophosphamide. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2016;45: 158-62.
- Fraiser LH, Kanekal S, Kehrer JP. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. *Drugs*. 1991;42(5): 781-95.
- Galle M, Kladniew BR, Castro MA, Villegas SM, Lacunza E, Polo M, de Bravo MG, Crespo R. Modulation by geraniol of gene expression involved in lipid metabolism leading to a reduction of serum-cholesterol and triglyceride levels. *Phytomedicine*. 2015;22(7-8): 696-704.
- Ghobadi E, Moloudizargari M, Asghari MH, Abdollahi M. The mechanism of cyclophosphamide-induced testicular toxicity and the protective agents. *Expert opinion drug metabolism toxicology*. 2017;13(5): 525-36.
- Gosh S. *Transcription Factor NF-kappa B*. CRC Press, Inc 2007, p: 1-107
- Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, Inc 2013, İstanbul, p: 837-40.
- Güneş M. Oksidatif strese maruz kalan ratlarda geraniol ve geraniol ksantat maddelerinin bazı metaller üzerine etkileri. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, Elazığ, 2010 (Tez Danışmanı: Doç.Dr. Habibe Özmen).
- Hasan SK, Sultana S. Geraniol attenuates 2-acetylaminofluorene induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in the liver wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2015;25(7): 559-73.
- Heidari-Soreshjani S, Asadi-Samani M, Yang Q, Saeedi-Boroujeni A. Phytoterapy of nephrotoxicity-induced by cancer drugs: an updated review. *Journal of Nephropathology*. 2017;6(3): 254-63.
- Hockenbery DM. *Mitochondria and Cell Death*. Humana Press, Inc 2016, New York, USA, p: 45-78
- Ilc T, Paraçe C, Boachon B, Navrot N, Werck-Reichhart D. Monoterperanol oxidative mechanism: Role in plant adaptation and potential applications. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7: 509.
- Jayachandran M, Chandrasekaran B, Namasivayam N. Effect of geraniol, a plant derived monoterpene on lipids and lipid metabolizing enzymes in experimental hyperlipidemic hamsters. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2015;398(1-2): 39-53.
- Jayachandran M, Chandrasekaran B, Namasivayam N. Geraniol attenuates oxidative stress by Nrf2 activation in diet-induced experimental atherosclerosis. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2015;26(4): 335-46.
- Jayachandran M, Chandrasekaran B, Namasivayam N. Geraniol attenuates fibrosis and exerts anti-inflammatory effects on diet induced atherogenesis by NF- κ B signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*. 2015;762: 102-11.
- Jiang K, Zhang T, Yin N, Ma X, Zhao G, Wu H, Qiu C, Deng G. Geraniol alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting inflammation and apoptosis. *Oncotarget*. 2017;8(41): 71038-53.
- Kanappan A, Sivaranjani M, Srinivasan R, Rathna J, Pandian SK, Ravi AV. Inhibitory efficacy of geraniol on biofilm formation and development of adaptive resistance in *Staphylococcus epidermidis* RP62A. *Journal of Medical Microbiology*. 2017;66(10): 1506-15.
- Karin M. *NF- κ B in Health and Disease*. Springer, Inc 2011, p: 26-51

- Khan M. Immune potentiating and antitoxic effects of camel milk against cyclophosphamide-induced toxicity in BALB/C mice. *International Journal of Health Sciences*. 2017;11(4): 18-22.
- Khan AQ, Khan R, Qamar W, Lateef A, Rehman MU, Tahir M, Ali F, Hamiza OO, Hasan SK, Sultana S. Geraniol attenuates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced oxidative stress and inflammation in mouse skin: Possible role of p38 MAP Kinase and NF- κ B. *Experimental and Molecular Pathology*. 2013;94(3): 419-29.
- Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık, Inc.2006, p:103-4, 459-68.
- Kigasawa K, Kajimoto K, Watanabe M, Kanamura K, Saito A, Kogure K. In vivo transdermal delivery of diclofenac by ion-exchange iontophoresis with geraniol. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. 2009;32(4): 684-7.
- Kim SH, Bae HC, Park EJ, Lee CR, Kim BJ, Lee S, Park HH, Kim SJ, So I, Kim TW, Jeon JH. Geraniol inhibits prostate cancer growth by targeting cell cycle and apoptosis pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011;407(1): 129-34.
- Kim SH, Lee IC, Baek HS, Moon C, Kim SH, Kim JC. Protective effect of diallyl disulfide on cyclophosphamide-induced testicular toxicity in rats. *Laboratory Animal Research*. 2013;29(4): 204-311.
- Kocahan S, Dogan Z, Erdemli E, Taskin E. Protective effect of Quercetin against oxidative stress-induced toxicity associated with Doxorubicin and cyclophosphamide in rat kidney and liver tissue. *Iranian Journal of Kidney Diseases*. 2017;11(2): 124-31.
- Köse E, Sarsılmaz M, Taş U, Kavaklı A, Türk G, Dabak DÖ, Sapmaz H, Ögetürk M. Rose oil inhalation protects against formaldehyde-induced testicular damage in rats. *Andrologia*. 2012;44(1): 342-8.
- Lapczynski A, Bhatia SM, Foxenberg RJ, Letizia CS, Api AM. Fragrance material review on geraniol. *Food and Chemical Toxicology*. 2008;46(11): 160-70.
- Lavrik IN. *Systems Biology of Apoptosis*. Springer, Inc 2013, p: 85-125
- Liao P, Hemmerlin A, Bach TJ, Chye ML. The potential of the mevalonate pathway for enhanced isoprenoid production. *Biotechnology advances*. 2016;34(5): 697-713.
- Liou HC. *NF- κ B/Rel Transcription Factor Family*. Springer, Inc 2006, New York, USA, p: 1-36
- Liu J, Zhang W, Du G, Chen J, Zhou J. Overproduction of geraniol by enhanced precursor supply in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*. 2013;168(4): 446-51.
- Luedde T, Schwabe RF. NF- κ B in the liver-linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8(2): 108-18.
- Lüleyap Ü. *Moleküler Genetiğin Esasları*, Nobel Kitabevleri, 2008. P: 292-6
- Lv Y, Zhang L, Li N, Mai N, Zhang Y, Pan S. Geraniol promotes functional recovery and attenuates neuropathic pain in rats with spinal cord injury. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2017;95(12): 1389-95.
- Madankumar A, Tamilarasi S, Premkumar T, Gopikrishnan M, Nagabhishek N, Devaki T. Geraniol attenuates 4NQO-induced tongue carcinogenesis through downregulating the activation of NF- κ B in rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2017;434(1-2): 7-15.
- Madankumar A, Jayakumar S, Gokuladhas K, Rajan B, Raqhunandhakumar S, Asokkumar S, Devaki T. Geraniol modulates tongue and hepatic phase I and phase II conjugation activities and may contribute directly to chemopreventive activity against experimental oral carcinogenesis. *European Journal of Pharmacology*. 2013;705(1-3): 148-55.
- Marcuzzi A, Pontillo A, Leo LD, Tommasini A, Decorti G, Not T, Ventura A. Natural Isoprenoids are Able to Reduce Inflammation in a Mouse Model of Mevalonate Kinase Deficiency *Pediatric Research* 2008;64(2): 177-82.
- Marcuzzi A, Crovealla S, Pontillo A. Geraniol rescues inflammation in cellular and animal models of mevalonate kinase deficiency. *In vivo*. 2011;25(1): 87-92.
- Mahipal P, Pawar RS. Nephroprotective effect of *Murraya Koenigii* on cyclophosphamide induced nephrotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2017;10(8): 808-12.

- Marieb EN, Wilhelm PB, Mallatt J. Human Anatomy, Pearson Education. Eighth Edition, Inc.2017, England, p:742-6.
- Maruyama N, Takizawa T, Ishibashi H, Hisajima T, Inouye S, Yamaguchi H, Abe S. Protective activity of geranium oil and its component, geraniol, in combination with vaginal washing against vaginal candidiasis in mice. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. 2008;31(8): 1501-6.
- Mansour HH, El Kiki SM, Hasan HF. Protective effect of N-acetylcysteine on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2015;40(2): 417-22.
- Merwid-Lad A, Trocha M, Chlebda-Sieragowska E, Sozański T, Szandruk M, Magdalan J, Ksiadzyna D, Pieśniewska M, Fereniec-Golebiewska L, Kwiatkowska J, Szelag A. The impact of morin, a natural flavanoid, on cyclophosphamide-induced changes in the oxidative stress parameters in rat livers. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2014;23(4): 505-9.
- Moore KL, Dalley AF. *Kliniğe Yönelik Anatomi*. Nobel Tıp Kitabevleri, Dördüncü baskı, Inc.2007, İstanbul, p:263-9
- Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitabevleri, Onuncu baskı, Inc.2016, İstanbul, p: 279
- Muganda PM. *Apoptosis Methods in Toxicology*. Humana Press, Inc 2016, 1st Edition, New York, USA, p: 1-10
- Mulaikal TA, Emond JC. *Physiology and Anatomy of the Liver*. In: *Liver Anesthesiology and Critical Care Medicine*. Eds: Wagener G. Springer, Inc 2012, New York, p: 4
- Mullens BA, Watson DW, Gerry AC, Sandelin BA, Soto D, Rawls D, Denning S, Guisewite L, Cammack J. Field trials of fatty acids and geraniol applied to cattle for suppression of horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), with observations on fly defensive behaviors. *Veterinary Parasitology*. 2017;245: 14-28.
- Nafees S, Rashid S, Ali N, Hasan SK, Sultana S. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NFκB/MAPK pathway. *Chemico-biological Interactions*. 2015;231: 98-107.
- Nagata S, Nakano H. In *Apoptotic and Non-apoptotic Cell Death*. Springer, Inc 2017, p: 95-110
- Ntuli TM. *Cell Death, Autophagy, Apoptosis and Necrosis*. Inc 2015, 1st Edition, p: 373-90
- Onaolapo AY, Oladipo BP, Onaolapo OJ. Cyclophosphamide-induced male subfertility in mice: An assessment of potential benefits of Maca supplement. *Andrologia*. 2018;50(3).
- Ovalle WK, Nahirney PC. *Netter Temel Histoloji*. Güneş Tıp Kitabevleri, Inc.2009, p:61, 312-23.
- Oyagbemi AA, Omobowale TO, Saba AB, Olowu ER, Dada RO, Akinrinde AS. Gallic acid ameliorates cyclophosphamide-induced neurotoxicity in wistar rats through free radical scavenging activity and improvement in antioxidant defense system. *Journal of Dietary Supplements*. 2016;13(4): 402-19.
- Ozkaya A, Sahin Z, Gorgulu AO, Yuca A, Celik S. Geraniol attenuates hydrogen peroxide-induced liver fatty acid alterations in male rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2017;6(1): 29-35.
- Ozkaya A, Sahin Z, Kuzu M, Saglam YS, Ozkaraca M, Uckun M, Yologlu E, Comakli V, Demirdag R, Yologlu S. Role of geraniol against lead acetate-mediated hepatic damage and their interaction with liver carboxylesterase activity in rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2018;124(1): 80-7.
- Özçelik H, Muca B, Özavcı AGM. Isparta yağgülü (*Rosa x damascena* Mill.) yağı ve çiçeklerinin strese bağlı nörolojik ve psikiyatrik hastalıklara etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*. 2011;4(2): 99-105.
- Pavan B, Dalpiaz A, Marani L, Beggiato S, Ferraro L, Canistro D, Paolini M, Vivarelli F, Valerii MC, Comparone A, De Fazio L, Spisni E. Geraniol pharmacokinetics, bioavailability and its multiple effects on the liver antioxidant and xenobiotic-metabolizing enzymes. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9: 18.
- Parve S, Aliakberova GI, Gylmanov AA, Abdulganieva DI. Role of exogenous phosphocreatine in chemotherapy-induced cardiomyopathy. *Reviews in Cardiovascular Medicine*. 2017;18(2): 82-7.
- Prasad SN, Muralidhara. Mitigation of acrylamide-induced behavioural deficits, oxidative impairments and neurotoxicity by oral supplements of geraniol (a monoterpene) in a rat model. 2014;223: 27-37.

- Rekha KR, Selvakumar GP, Sethupathy S, Santha K, Sivakamasundari RI. Geraniol ameliorates the motor behaviour and neurotrophic factors inadequacy in MPTP-induced mice model of Parkinson's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2013;51(3): 851-62.
- Rekha KR, Selvakumar GP. Gene expression regulation of Bcl2, Bax and cytochrome-C by geraniol on chronic MPTP/probenecid induced C57BL/6 mice model of Parkinson's disease. *Chem Biol Interact*. 2014;217: 57-66.
- Sadler T.W. *Langman's Medical Embryology*. Wolters Kluwer, Inc. 2015, Thirteenth Edition, Philadelphia, p: 236
- Saladin KS. *Human Anatomy*. McGraw-Hill Education, Inc.2017, Fifth Edition, New York, p:673-77.
- Saleh DO, Mansour DF. Ovario-protective effects of genistein against cyclophosphamide toxicity in rats: Role of anti-müllerian hormone and oestradiol. *European Journal of Pharmacology*. 2016;789: 163-71.
- Sancak B, Cumhur M. *Fonksiyonel Anatomi*. ODTÜ yayıncılık, Dördüncü baskı, Inc.2008, Ankara, p:226-32.
- Sawada S, Okano J, Imamoto R, Yasunaka Y, Abe R, Koda M, Murawaki Y, Isomoto H. Preventive effect of geraniol on diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Yonago Acta Medica*. 2016;59(1): 37-43.
- Sherehan M. Ibrahim, Ezzedin S. El- Denshary, and Dalaal M. Abdallah Geraniol, Alone and in Combination with Pioglitazone, Ameliorates Fructose-Induced Metabolic Syndrome in Rats via the Modulation of Both Inflammatory and Oxidative Stress Status *PLoS One*. 2015; 10(2): e0117516
- Shirani K, Hassani FV, Razavi-Azarkhiavi K, Heidari S, Zanjani BR, Karimi G. Phytotherapy of cyclophosphamide-induced immunosuppression. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2015;39(3): 1262-75.
- Snell RS. *Klinik Anatomi*. Nobel Tıp Kitabevleri, 6.Edisyon, Inc.2004, İstanbul, p:225-7.
- Soubh AA, Abdallah DM, El-Abhar HS. Geraniol ameliorates TNBS-induced colitis: Involvement of Wnt/ β -catenin, p38MAPK, NF- κ B, and PPAR γ signaling pathways. *Life Sciences*. 2015;136: 142-50.
- Su YW, Chao SH, Lee MH, Ou TY, Tsai YC. Inhibitory effects of citronellol and geraniol on nitric oxide and prostaglandin E₂ production in macrophages. *Planta Med* 2010; 76: 1666–1671.
- Tiwari M, Kakkar P. Plant derived antioxidants- Geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress. *Toxicology in Vitro*. 2009;23(2): 295-301.
- Thapa D, Losa R, Zweifel B, Wallace RJ. Sensitivity of pathogenic and commensal bacteria from the human colon to essential oils. *Microbiology*. 2012;158: 2870–77.
- Todorova V, Vanderpool D, Blossom S, Nwokedi E, Hennings L, Mrak R, Klimberg VS. Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione. *Nutrition*. 2009;25(7-8): 812-7.
- Torabi F, Malekzadeh Shafaroudi M, Rezaei N. Combined protective effect of zinc oxide nanoparticles and melatonin on cyclophosphamide-induced toxicity in testicular histology and sperm parameters in adult Wistar rats. *International Journal of Reproductive Biomedicine*. 2017;15(7): 403-12.
- Tortora B. GJ, Derrickson B. *Principles of Anatomy & Physiology*. Wiley & Sons, 15th Edition, Inc.2017, US, p: 922-6.
- Trelease RB. *Netter's Surgical Anatomy Review*. P.R.N, Elsevier, Second Edition, Inc.2017 Philadelphia, p:233-50.
- Tripathi DN, Jena GB. Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: a study in mice. *Chemico-biological Interactions*. 2009;180(3): 398-406.
- Tuorkey MJ. Therapeutic potential of nigella sativa oil against cyclophosphamide-induced DNA damage and hepatotoxicity. *Nutrition and Cancer*. 2017;69(3): 498-504.
- Vinothkumar V, Manoharan S, Sindhu G, Nirmal MR, Vetrichelvi V. Geraniol modulates cell proliferation, apoptosis, inflammation, and angiogenesis during 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2012;369(1-2): 17-25.
- Wagener G. *Liver Anesthesiology and Critical Care*. Medicine Springer Science+Business Media, New York, Inc. 2012, New York, USA, p:

- zafunction by inhibiting NOX-2 derived oxidative stress in high fat diet mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016;474(1): 182-7.
- Wang J, Su B, Zhu H, Chen C, Zhao G. Protective effect of geraniol inhibits inflammatory response, oxidative stress and apoptosis in traumatic injury of the spinal cord through modulation of NF- κ B and p38 MAPK. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(6): 3607-13.
- Wu H. *Cell Death*. Springer, Inc 2014, New York, USA, p: 15-97
- Yu Q, Nie SP, Wang JQ, Liu XZ, Yin PF, Huang DF, Li WJ, Gong DM, Xie MY. Chemoprotective effects of *Ganoderma atrum* polysaccharide in cyclophosphamide-induced mice. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014;64: 395-401.
- Yu SG, Hildebrandt LA, Elson CE. Geraniol, an inhibitor of mevalonate biosynthesis, suppresses the growth of hepatomas and melanomas transplanted to rats and mice. *The Journal of Nutrition*. 1995;125(11): 2763-7.
- Yue L, Li J, Chen W, Liu X, Jiang Q, Xia W. Geraniol grafted chitosan oligosaccharide as a potential antibacterial agent. *Carbohydrate Polymers*. 2017;176: 356-64.
- Zarei M, Shivanandappa T. Amelioration of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by the root extract of *Decalepis hamiltonii* in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;57: 179-84.



7. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Tekirdağ'da doğdu. İlköğrenimini Süleymanpaşa İlköğretim Okulu'nda, ortaöğrenimini Tekirdağ Anadolu Lisesi'nde, lise öğrenimini Tekirdağ Fen Lisesi'nde tamamladı. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandı ve 2012 yılında mezun oldu. 2012 yılında mecburi hizmet kapsamında Konya Karapınar Devlet Hastanesi acil servisinde pratisyen hekim olarak çalışmaya başladı. 2013 yılında Öğretim Üyesi yetiştirme Programı ile Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. 2018 yılında, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimini tamamladı. Evli ve bir çocuk annesidir.



8. EKLER



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi MÜDÜRLÜĞÜ



Karar Sayısı: 2017 - 022

Karar Tarihi: 14.07.2017

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D.'den Prof.Dr.S.Serpil KALKAN, Arş.Gör.Dr.H.Tuba CANBAZ ve KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden Dr.Rahim KOCABAŞ (Ph.D) tarafından sunulan "**Sığırcılarda Siklofosamid ile Oluşturulan Hepatotoksisiteye Geraniolün Olası Koruyucu Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı tez projesi 9 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 6 grupta toplam 52 adet sıçan kullanılacağı ve sıçanların anestezi altında servikal d'slokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Projenin deney hayvanlarına ilişkin yönlerinin, Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddeler gereğince "Etik Kurallara Uygunluk Esası" dikkate alınarak hazırlandığı belirlenmiştir. Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ndeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumluluklar ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım ettiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof.Dr.Selim KUTLU
Başkan

Prof.Dr.Lema TAVLI
Üye Katılmadı

Prof.Dr.Ayşe Saide
ŞAHİN
Üye-Katılmadı

Prof.Dr.Mehmet GÜL

Doç.Dr.Ercan KURAR
Üye

Doç.Dr.Tevfik
KÜÇÜKKARTALLAR
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hasan
Hüseyin KOZAK
Üye

Yrd.Doç.Dr.Ömer
TANYELİ
Üye

Vet.Hekim Halil Aydın
ŞİMŞEK
Üye

Vet.Hekim Alpaslan ÖZKURKÜLER
Üye

Mustafa ŞİRİN
Üye

Adres : Meraam Tıp Fakültesi Kampüsü 42080 Akıncıkışığı Meraam / KONYA
Tel : +90 332 223 71 11 e-posta : konudam@konya.edu.tr
Faks : +90 332 223 71 24 Elektronik Ağ : http://www.konya.edu.tr/merkezler/konudam