

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**SİSPLATİN TOKSİSİTESİNDE KOENZİM Q₁₀'UN KARACİĞER DOKUSU AST,
ALT, GGT AKTİVİTESİ VE TAS, TOS DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Altyn MOVLAMOVA
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Onur ATAKİŞİ**

OCAK 2021

KARS



T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI



SİSPLATİN TOKSİSİTESİNDE KOENZİM Q₁₀'UN KARACİĞER DOKUSU AST,
ALT, GGT AKTİVİTESİ VE TAS, TOS DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

Altyn MOVLAMOVA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Onur ATAKIŞI

OCAK 2021
KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı öğrencisi Altyn MOVLAMOVA'nın Prof. Dr. Onur ATAKIŞI danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Sisplatin Toksisitesinde Koenzim Q₁₀'un Karaciğer Dokusu AST, ALT, GGT Aktivitesi ile TAS, TOS Düzeylerine Etkisinin Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

.. / .. / 20..

	Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	:	
Üye	:	
Üye	:	
Üye	:	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .. / .. / 20. gün ve ...
... / sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fikret AKDENİZ
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallarçerçevesinde elde ettiğimi,

Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygunolarak sunduğumu,

Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynakgösterdiğimi, Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Altyn MOVLAMOVA

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

SİSPLATİN TOKSİSİTESİNDE KOENZİM Q₁₀'UN KARACİĞER DOKUSU AST, ALT, GGT AKTİVİTESİ VE TAS, TOS DÜZEYLERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Altyn MOVLAMOVA

Kafkas Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Onur ATAKİŞİ

Sisplatin yumuşak doku, küçük hücreli akciğer kanseri, lenfoma, kemik, kas, sarkoma gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan aynı zamanda birçok yan etkiye sahip güçlü kemoterapötik ilaçlardan biridir. Yapılan çalışmada sisplatin toksisitesinde koenzim Q₁₀'un karaciğer dokusu aspartat aminotransferaz, (AST) alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi ve total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada materyal olarak 6 aylık 30 adet Sprague Dawley ırkı erkek rat kullanıldı ve 5 eşit gruba ayrıldı. Hayvanlar; 1. Grup (Kontrol), 2.Grup (Sisplatin), 3. Grup (Koenzim Q₁₀), 4.Grup (Sisplatin+Koenzim Q₁₀ (Deneme öncesi)) 5. Grup (CoQ₁₀+ Sisplatin Grubu (Deneme öncesi ve sonrası) olmak üzere beş gruba ayrıldı. Çalışmada ratlara sisplatin 10 mg/kg ve koenzim Q₁₀ 10 mg/kg i.p (İntraperitoneal) uygulandı. Denemelerin sonunda ratlara ksilazin-ketamin kombinasyonu (15 mg/kg-50 mg/kg) i.p uygulanarak ratların batın ön duvarı insizyonla açılıp karaciğer dokuları alınarak kurban edildi. Alınan karaciğer dokuları - 45 °C dondurucuda muhafaza

edilerek analizler yapılncaya kadar bekletildi. Karaciğer dokusu fosfat tamponunda homojenize edilerek, total protein, total antioksidan ve total oksidan kapasite düzeyleri ile AST, ALT ve GGT aktiviteleri ticari kit ile spektrofotometrede kolorimetrik olarak ölçüldü. Sisplatin verilen ratların karaciğer dokularında koenzim Q₁₀' un AST aktivitesinin istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Sisplatin ile birlikte koenzim Q₁₀ verilmesinin AST aktivitesini azalttığı saptanmıştır (P<0,05). Denemenin tüm gruplarındaki ALT aktiviteleri incelendiğinde, istatistiksel olarak en yüksek ALT aktivitesi Grup II' de saptanmıştır (P<0,001). Diğer tüm gruplardaki ALT aktivitesi arasında istatistiksel olarak bir fark elde edilememiştir. Sisplatin verilen grupta saptanan GGT aktivitesinde istatistiksel olmayan artışlar saptandı. Total oksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, kontrol ve diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak en yüksek TOK düzeyi Grup II' de gözlenmiştir (P<0,05). Koenzim Q₁₀ uygulanan gruplar Grup II ile kıyaslandığında kontrol grubunun TOK düzeyine benzer olduğu belirlenmiştir. Gama glutamil transferaz, total antioksidan kapasite, total protein düzeylerinde gruplar arasında herhangi bir fark olmadığı saptandı. Sonuç olarak, ratlara sisplatin uygulamasında koenzim Q₁₀'un karaciğer dokusunda total oksidan kapasite düzeyini, artan AST ve ALT enzimlerin aktivitelerini düzenleyek önemli bir koruyucu etkisinin olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, Koenzim Q₁₀, Total oksidan sistem, Total antioksidan sistem, Karaciğer enzimleri.

2021, 74 Sayfa

ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF COENZYME Q₁₀ ON THE LIVER TISSUE AST, ALT, GGT ACTIVITY AND TAS, TOS LEVELS IN CISPLATIN TOXICITY

Altyn MOVLAMOVA

Kafkas University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Onur ATAKIŞI

Cisplatin is one of the powerful chemotherapeutic drugs widely used in the treatment of various types of cancer such as soft tissue, small cell lung cancer, lymphoma, bone, muscle, sarcoma, and it also has many side effects. In the study, it was aimed to investigate the effect of coenzyme Q₁₀ on liver tissue aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT) activity and total antioxidant capacity (TAS) and total oxidant capacity (TOS) levels in cisplatin toxicity. Thirty 6-month-old Sprague Dawley male rats were used as material in the study and divided into 5 equal groups. Animals 1. Group (Control), 2. Group (Cisplatin), 3. Group (Coenzyme Q₁₀), Group 4 (Cisplatin + Coenzyme Q₁₀ (Before trial)), 5. Group (CoQ₁₀ + Cisplatin Group (Before and After Trial) were divided into five groups. In the study, cisplatin 10 mg / kg and coenzyme Q₁₀ 10 mg / kg intraperitoneal (i.p) were administered to rats. At the end of the experiments, xylazine-ketamine combination (15 mg / kg-50 mg / kg) was administered i.p to rats and their liver tissues were removed by cutting the anterior abdominal wall of rats. The liver tissues taken were kept in the freezer at - 45 °C until analysis. Liver tissue was homogenized in phosphate buffer, and total protein, total antioxidant and total oxidant capacity levels and AST, ALT and GGT

activities were measured colorimetrically with a commercial kit with a spectrophotometer. It was found that the AST activity of coenzyme Q₁₀ in the liver tissues of rats given cisplatin was statistically high. It was determined that coenzyme Q₁₀ administration with cisplatin decreased the AST activity (P <0.05). When ALT activities in all groups of the experiment were examined, statistically the highest ALT activity was found in Group II (P <0.001). There was no statistically significant difference between ALT activity in all other groups. Non-statistical increases in GGT activity were detected in the group given cisplatin. When the total oxidant capacity levels were examined, the statistically highest TOC level was observed in Group II compared to the control and other groups (P <0.05). When the coenzyme Q₁₀ applied groups were compared with Group II, it was determined that the TOC level of the control group was similar. There was no difference between the groups in terms of gamma glutamyl transferase, total antioxidant capacity, and total protein levels. As a result, it was concluded that coenzyme Q₁₀ has an important protective effect by regulating the total oxidant capacity level in the liver tissue and the increase in the activities of AST and ALT enzymes in cisplatin administration to rats.

Key Words: Cisplatin, Coenzyme Q₁₀, Total oxidant system, Total antioxidant system, Liver enzymes

2021, 74 pages

ÖNSÖZ

Eğitim sürecim ve tez çalışmam sırasında her türlü bilgi, teşvik ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen bana her konuda destek olan danışman hocam Prof. Dr. Onur ATAKİŞİ'ye en içten saygılarımı sunuyorum. Lisansüstü eğitim sürecinde, deney ve tezimin hazırlanma aşamasında sürekli yardımcı olan Biyokimya araştırma gurubu öğretim üyelerine, Biyokimya Anabilim dalı Doktora öğrencisi Melek ÖZTÜRKLER ve Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Esra ÇANTAY'a Yüksek Lisans eğitimim sırasında desteklerini esirgemeyen Avukat Kerem ÇAVLI'ya bu süreçte her türlü maddi ve manevi destekleri ile göstermiş oldukları sabırdan dolayı aileme teşekkür etmeyi zevkli bir borç bilirim.

Altyn MOVLAMOVA

İÇİNDEKİLER

ÖZET	III
ABSTRACT	V
ÖNSÖZ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Kanser	1
1.1.1. Kansere Neden Olan Etmenlerler.....	2
1.1.2. Karsinogenez.....	3
1.1.3. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler.....	4
1.1.3.1. Radyoterapi.....	4
1.1.3.2. Cerrahi Tedavi.....	4
1.1.3.3. Kök Hücre Tedavisi.....	5
1.1.3.4. Hormon Tedavisi.....	6
1.1.3.5. İmmünoterapi.....	7
1.1.3.6. Kanser Aşıları.....	8
1.1.3.7. Kemoterapi.....	8
1.2. Sisplatin	9
1.2.1. Sisplatin'in Kimyasal Yapısı.....	9
1.2.2. Sisplatin'in Etki Mekanizması.....	10
1.2.3. Sisplatin'in Genel Toksik Etkileri.....	11
1.2.4. Sisplatin Hepatoksisitesi.....	12
1.3. Serbest Radikaller	12
1.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	15
1.3.2. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri.....	15
1.4. Oksidatif Stres	17
1.5. Antioksidanlar	17
1.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	18
1.5.2. Eksojen Antioksidanlar.....	19
1.5.3. Endojen Antioksidanlar.....	20

1.5.4. Enzimatik Antioksidanlar	21
1.5.5. Nonenzimatik Antioksidanlar	22
1.6. Koenzim Q₁₀.....	22
1.6.1. Koenzim Q ₁₀ Kaynakları.....	25
1.6.2. Koenzim Q ₁₀ Biyosentezi.....	25
1.6.3. Koenzim Q ₁₀ 'un Antioksidan Etkisi	27
1.6.4. Koenzim Q ₁₀ Kanser Üzerine Etkileri.....	29
2. MATERYAL ve METOT.....	30
2.1. Materyal.....	30
2.2. Metot.....	31
2.2.1. Analizler İçin Kullanılan Cihazlar	31
2.2.2. Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler	31
2.3. Karaciğer Doku Homojenizasyonu	32
2.4. Total Antioksidan Kapasite Analizi	32
2.4.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar	32
2.4.2. Deneyin Yapılışı.....	32
2.4.3. Sonuçların Hesaplanması	33
2.5. Total Oksidan Kapasite Analizi.....	33
2.5.1. Kullanılan Reaktif ve Standartlar	33
2.5.2. Deneyin Yapılışı.....	34
2.5.3. Sonuçların Hesaplanması	34
2.6. Aspartat Aminotransferaz Aktivitesinin Belirlenmesi	34
2.6.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar	35
2.6.2. Sonuçların Hesaplanması	36
2.7. Alanin Aminotransferaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	36
2.7.1. Kullanılan Reaktif ve Standartlar	36
2.7.2. Sonuçların Hesaplanması	37
2.8. Total Protein Düzeyinin Bradford Yöntemi ile Belirlenmesi.....	37
2.9. Gamma Glutamil Transferaz Aktivitesinin Belirlenmesi	39
2.9.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar	39
2.9.2. Sonuçların Hesaplanması	40
3. BULGULAR	41

3.1. Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri	41
3.2. Alanin Aminotransferaz Düzeyleri.....	41
3.3. Gama Glutamil Transferaz	42
3.4. Karaciğer Dokuları Total Oksidan Kapasite ve Antioksidan Kapasite Düzeyleri	42
3.5. Total Protein Düzeyleri.....	43
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	46
5. KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kanser Hücresi ve Çoğalması.....	1
Şekil 1.2. Kansere Neden Olan Etmenler	2
Şekil 1.3. Karsinogenezin Oluşumu	3
Şekil 1.4. Kök Hücre Türleri	6
Şekil 1.5. Sisplatin'in cis ve trans Formu.....	10
Şekil 1.6. Cisplatin'in DNA ile etkileşiminde oluşan ana eklentiler.....	11
Şekil 1.7. Reaktif Oksijen ve Reaktif Nitrojen Türleri	14
Şekil 1.8. Koenzim Q ₁₀ 'un Redoks Formları	23
Şekil 1.9. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri.....	24
Şekil 1.10. Koenzim Q ₁₀ 'un Sentezi (PLF: pridoksal 5-fosfat).....	27
Şekil 1.11. Koenzim Q ₁₀ 'un Antioksidan Aktivitesi	28
Şekil 2. 1. Total Protein Düzeyinin Standart Grafiği.....	38
Şekil 3.1. Karaciğer dokuları Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri.....	41
Şekil 3.2. Karaciğer dokuları Alanin Aminotransferaz Düzeyleri.....	42
Şekil 3.3. Karaciğer Dokuları Total Oksidan Kapasite Düzeyleri.....	43

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	19
Tablo 2.1. Total Antioksidan Kapasite Analizi.....	33
Tablo 2.2. Total Oksidan Kapasite Analizi.....	34
Tablo 2.3. Aspartat Aminotransferaz Analizi.....	35
Tablo 2.4. Alanin Aminotransferaz Analizi.....	37
Tablo 2.5. BSA Standartları ve Protein Örneklerinin Hazırlanması.....	38
Tablo 2.6. Gamma Glutamil Transferaz Analizi.....	40
Tablo 3.1. Karaciğer Dokusu AST, ALT, GGT Aktivitesi Total Protein ve TAS, TOS Düzeyleri.....	44

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2,2'-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)
ATP	Adenozin trifosfat
ADP	Adenozin difosfat
AST	Aspartat Aminotransferaz
ALT	Alanin Aminotransferaz
ClO [·]	Hipoklorit
CAT	Katalaz
Cu	Bakır
C1	Sitokrom C1
CoQ	Koenzim Q
CoQ ₁₀	Koenzim Q ₁₀
C°	Santigrat
Ca	Kalsiyum
COX2	Prostaglandin-Endoperoksit Sentaz 2
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DT	Diaforaz
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fe ⁺³	Demir (III)
Fe ⁺²	Demir (II)
Fe-S	Demir Sülfür
FPP	Farnesil Pirofosfat
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferazlar
GSPE	Proantosiyanidin Ekstresi
HO ₂ [·]	Hidroperoksi
·H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit

HClO	Hipokloröz asit
HMG- CoA	3-metil- Glutaril Koenzim
Ig	İmmünoglobulin
IgG	İmmünoglobulin G
IgM	İmmünoglobulin M
IgD	İmmünoglobulin D
IgA	İmmünoglobulin A
IgE	İmmünoglobulin E
I,p	Intraperitoneal
iNOS	Nitrik Oksit Sentaz
KKH	Kanser Kök Hücre
K	Potasyum
LPO	Lipit Peroksidasyon
LDH	Laktat Dehrojenaz
MÖ	Milattan Önce
Mn	Manganez
MDH	Malat Dehidrojenaz
MDA	3,4-Metilendioksiamfetamin
MPO	Miyeloperoksidaz
NO	Nitrik Oksit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
Na	Sodyum
·O ₂	Süperoksit
·OH	Hidroksil
O ₂	Moleküler Oksijen
PLF	Pridoksal 5- fosfat
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RO·	Alkoksil
RO ₂ ·	Alkil Peroksi
SOD	Süperoksit Dismutaz Enzimi
TTA	Tümörle İlişkili Antijen
TAK	Total Antioksidan Kapasite

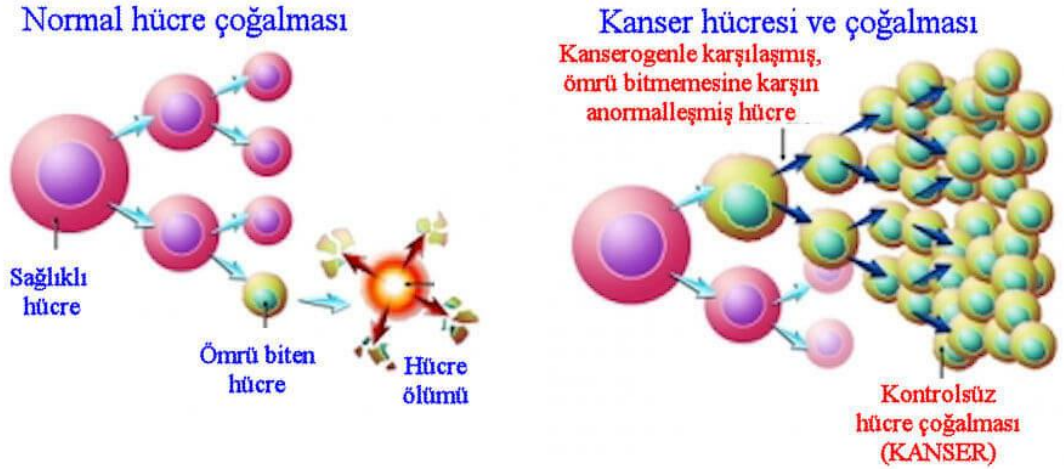
TOK	Total Oksidan Kapasite
TBARS	Tiyobarbitürük asit
TLR4	Toll Benzeri Reseptör 4
TNF	Tümör Nekroz Faktör
Zn	Çinko
Zo	Zingerone



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Kanser

Kanser genel olarak, bir organ ya da dokudaki anormal ve kontrol edilemeyen hücre bölünmesi sonucu ortaya çıkan kötü huylu büyüme veya tümörler olarak tanımlanmaktadır. Vücut hücrelerinin kontrolsüz olarak çoğalması ve büyümesi çevresel, kalıtsal ya da her iki faktörün etkisi ile DNA’da meydana gelen hasar sonucu ortaya çıkabilmektedir [1]. Onkoloji (oncos: tümör, logos: ilim) tümör veya neoplazi bilimi olarak tanımlanır. Benign tümör, iyi huylu, lokalize kalmaya meyilli, malign tümör ise daha agresif ve uzak bölgelere yayılmaya meyilli tümör türüdür. Kanseri ise tüm malign tümörler için kullanılan ortak bir terimdir [2]. Kanseri hakkında bilinen en eski kayıtlar MÖ 460-370 yılları arasında yaşayan Hipokrat tarafından ilk defa “*carcinoma*” ve “*carcinoma*” tedavi edilemeyen veya ülser oluşturmayan ve ülser oluşturan tümörler için kullanılmıştır. Galen ise şişme anlamına gelen “oncos” terimini kullanmıştır [3,4].



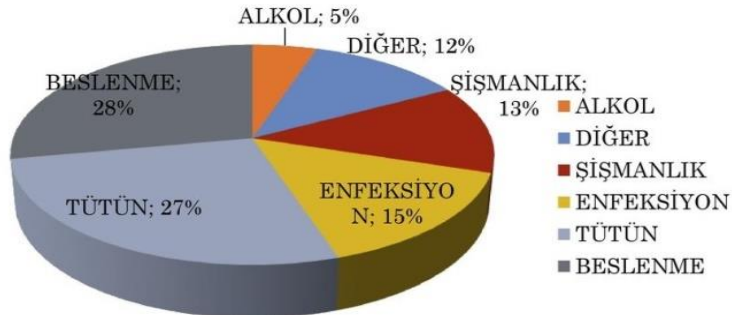
Şekil 1.1. Kanseri Hücre ve Çoğalması

Kanseri ortaya çıkabilmesi için hücrelerin yalnızca kontrolsüz çoğalması yeterli değildir. Hücrenin invazyon (diğer sağlıklı dokuları istila etme) ve metastaz (dolaşıma geçerek sağlıklı başka dokulara yayılma) gibi diğer malign özellikleri de kazanması

gerekmektedir [5,6]. Bu etkilerin önemli bir kısmı hücrenin mutasyonlara karşı hassas olduğu hücre siklusu esnasında gerçekleşir. Hücre siklusu, DNA sentezinin gerçekleştiği S evresi, mitoz bölünmenin izlendiği M evresi ve bu iki temel süreç arasında kalan geçici duraklama evreleri olan G1 ve G2 evreleri olmak üzere, başlıca 4 evrede gerçekleşir. Vücuttaki hücrelerin büyük çoğunluğu G0 olarak adlandırılan istirahat evresindedir. Bu hücreler normalde bölünmeyip ancak uygun bir uyarı geldiğinde hücre döngüsüne girer. Bu grup hücrelere örnek olarak kemik iliğindeki kök hücreleri ve karaciğer hücrelerinin çoğu gösterilebilir. İleri evredeki solid tümör kitlesindeki hücrelerin çoğunluğunun bu gruptan olduğu bildirilmiştir [7].

1.1.1. Kansere Neden Olan Etmenler

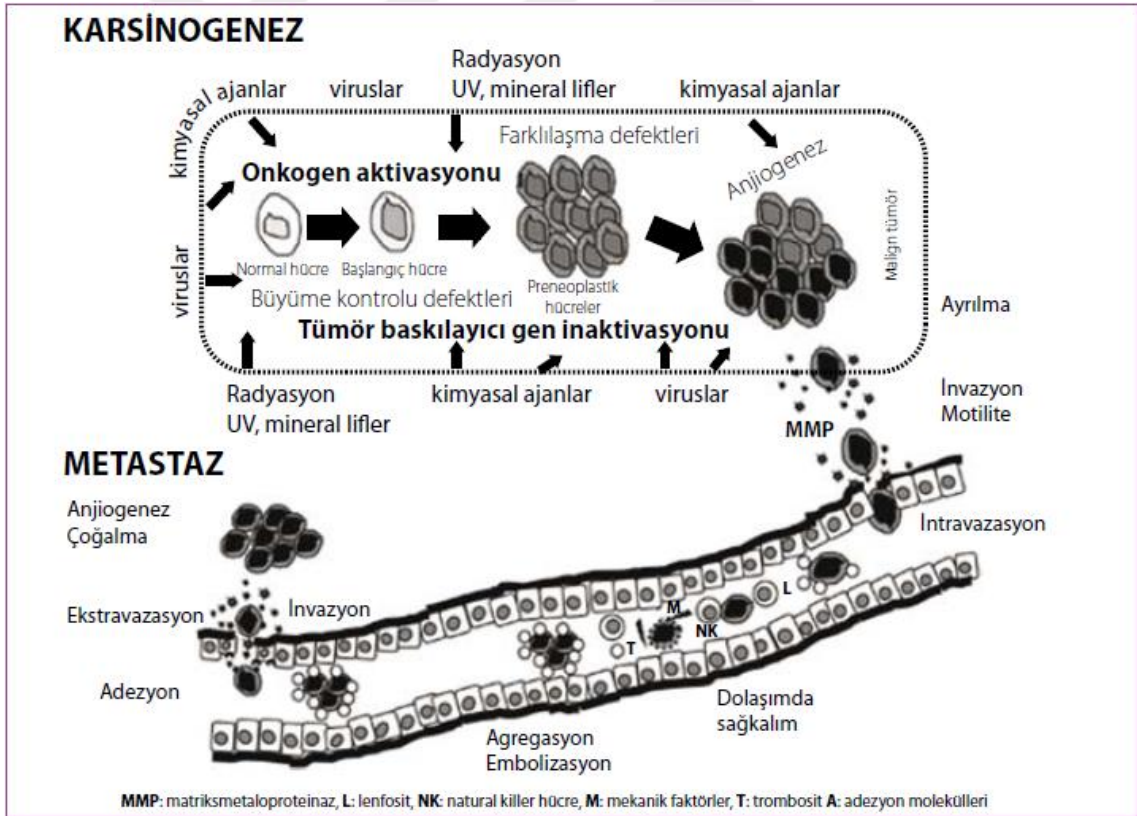
Kanser %90 çevresel ve %10 oranında ise genetik faktörlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Sigara kullanımı (özellikle larenks, akciğer, ve mesane kanserlerinin oluşumunda), obezite, enfeksiyon ajanları virüsler (EBV, HPV, HBV, HCV, HTLV1, HHV8 vb), bakteriler (*Helicobacter pylori*) ve parazitler (Schistosoma), mesleki maruziyet (asbestos, ağır metaller, arsenik, benzen vb.), diyet kaynaklı etmenler, alkol kullanımı, ultraviyole ışınları (UV) ve radyasyon maruziyeti kanserle ilişkilendirilen risk faktörleri olarak gösterilmektedir [8]. Hücrelerin kanserleşmesi sürecini gerçekleştiren genlerdeki mutasyonlara başlıca çevresel faktörler, diyet ve beslenme alışkanlıklarından kaynaklanan bazı maddeler yol açmaktadır [9].



Şekil 1.2. Kansere Neden Olan Etmenler

1.1.2. Karsinogenez

Kanser ve kansere giden yolda karsinojenik madde ve bunların organizmadaki etkileri, organizmanın bu karsinojenik maddelere karşı etkisizleştirme çabaları, optimal beslenme ve immün sistemin önemi karsinogenez ve kanserde iyi bilinmektedir. Kötü beslenme, malnütrisyon (enerji ve besin öğelerinin yetersiz ve dengesiz alımları sonucu organ, doku ve vücut fonksiyonlarında ölçümlenebilir olumsuz değişikliklerin görülmesi) gerek kanserojenik maddelerin organizmada etkisizleştirilmesi reaksiyonlarında gerekse de kanser oluşumunu takiben kanserli hastanın hayat kalitesi ve tedavisinde olumsuz bir tablonun oluşmasına, mortalite ve morbiditeye neden olmaktadır. Kanserli hastalarda ciddi metabolik ve biyokimyasal değişikliklerin olduğu bilinmektedir. Özellikle kanserin türlerine bağlı olarak, toplam beslenme yaklaşımı içerisinde total vücut sentezi akışında bazı değişikliklerin olabileceği bildirilmiştir [10].



Şekil 1.3. Karsinogenezin Oluşumu

1.1.3. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

Malignitenin tanınmasından bu yana, olağanüstü araştırmaların amacı kanser için yeni kaliteli tedavi yaklaşımları keşfetmektir. řu anda, dünya çapında devam eden tüm tıbbi kalite tedavi çalışmalarının % 60'ından fazlası kanser üzerine yoğunlaşmaktadır [11]. Kanser tedavisinde en sık kullanılan yöntemler radyoterapi, kemoterapi, kök hücre ve cerrahi yöntemlerdir. Bunların dışında hormon terapisi, immünoterapi ve biyolojik yöntemlerin kullanılması gibi farklı yöntemlerde kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kendine özgü avantaj ve dezavantajlarının bulunması, kanser hastalığının kişiye özgü olması ve tedavi yöntemlerinin de kişiden kişiye farklılık gösterebilmesi nedeniyle tek bir kesin tedavi yönteminin yeterli olamayacağı kaydedilmiştir [12].

1.1.3.1. Radyoterapi

1800'lü yılların sonlarına doğru uygulanmaya başlanan radyasyon tedavisi ise kanser tedavisinin dayanak noktasını oluşturmaktadır. Radyasyon moleküler oksijen ile etkileşerek süperoksit, hidrojen peroksit ya da hidroksil radikallerinin oluşumunu sağlamaktadır. Bu radikaller DNA hasarına ve hücre ölümüne sebep olmaktadır. Özellikle hızlı bölünen tümörlerde en etkili tedavilerden birisidir. Radyoterapi öncelikli tedavi olarak uygulandığı gibi kemoterapi ve cerrahi yöntemlerle birlikte de uygulanmaktadır. Radyoterapinin tek başına tedavi edici olarak uygulandığı kanser tipleri erken evrelerdeki larinks kanseri, serviks kanseri ve prostat kanserleridir [12].

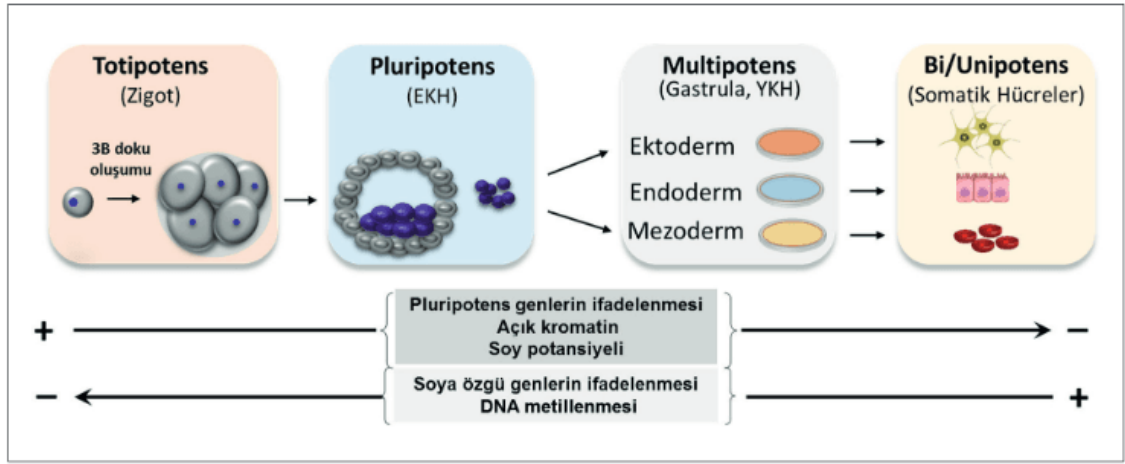
1.1.3.2. Cerrahi Tedavi

Cerrahi dokunun vücuttan kesilip alınmasıdır. Bu işlem ayakta hasta ya da yatan hastalarda gerçekleştirilir. Genellikle lokal anestezi altında ya da genel anestezi şeklinde yapılır. Cerrahi tedavi kanserin ana tedavi yöntemlerinden birisidir. Tamamen tek bir alanda bulunan, yayılmamış kanseri iyileştirebilir. Genellikle, kanserin erken evrelerinde kanserli hücreyi almak en kolay yol olarak görülür [13].

1.1.3.3. Kök Hücre Tedavisi

Kök hücreler henüz farklılaşmamış hücreler olup, sınırsız kendilerini yenileyebilir özelliğine sahip olan ve vücutta veya laboratuvar ortamında belli şartlar sağlandığında farklı hücre tiplerine, karaciğer, kas, kan veya beyin hücreleri gibi birçok özelleşmiş hücrelere olgunlaşabilmeleri ya da farklılaşabilen (plastisite) primitif nitelikte olan hücrelerdir [14,15]. Kök hücreler farklı hücre tiplerine farklılaşmadan uzun zaman boyunca kendilerini yenileyebilme ve çoğalabilme özelliğine sahiptirler. Hücrelerin bölünme ve yaşam sürelerini belirleyen faktörlerden birisi doğrusal koromozomların ucunda var olan 8 telomer adı verilen ve binlerce tekrarlanan kısa DNA zincirini (TTAGGG) içermektedir [16,17]. Kök hücreler, *in vivo* koşullarda dokuda bir hasarı bile olmadığı durumda farklılaşmamış hücre tiplerine farklılaşma potansiyeli vardır. Başka hücre tiplerine farklılaşıp bu türün devamı niteliğinde türler üretebilirler. Vücudun bir hasar ve zedelenme sonucunda, dokuyu tamir edebilme ve onu tekrar işlevsel hale getirebilme potansiyeli vardır [18].

Kök hücreler farklılaşma yeteneklerine göre dört gruba ayrılırlar. Bunlar sırasıyla totipotent, pluripotent, multipotent ve unipotent olarak isimlendirilir. *Totipotent*; tüm doku ve hücrelere dönüşebilme ve sınırsız farklılaşma yeteneğine sahip olan hücrelere denir. Totipotent kök hücreler zigot ve morula olarak tanımlanmıştır. Ayrıca bitki meristem hücrelerinde de bulunur. Zigotun 5-6 günlük dönemindeki sınırsız çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahip, embriyonik ve ekstraembriyonik hücre tiplerine farklılaşabilen hücre topluluğudur. *Pluripotent* hücreler ise plasenta hariç birden çok dokuya köken verebilen ve onarım yeteneği bulunan hücre topluluğudur. Endoderm, mezoderm ve ektoderm yapılarını oluşturabilir. *Multipotent* hücreler birden çok doku grubuna farklılaşma kapasitesine sahip hücre topluluğudur. Bu gruba örnek olarak hematopoetik kök hücreler verilebilir. *Oligopotent* Bir doku içinde iki veya daha fazla hücre grubunu oluşturabilen hücrelere denir. Oligopotent hücrelere lenfoid ve myeloid hücreler örnek verilebilir. *Unipotent* ise tek doku grubuna dönüşebilen hücre topluluğudur ve kas kök 4 hücreleri ya da spermatogoniyal kök hücreler bu gruba örnek gösterilmektedir [19].



Şekil 1.4. Kök Hücre Türleri [20].

Kök hücreler iki farklı kaynaktan elde edilir, bunlar embriyonik kök hücreler ve embriyonik olmayan kök hücrelerdir. Embriyonik kök hücreler memeli embriyosunda erken gelişim sürecindeki kök hücrelerden elde edilmektedir. Bu hücreler *in vitro* ortamda sınırsız ve farklılaşmamış çoğalma kapasitesine sahip olan pluripotent hücrelerdir. Embriyonik olmayan kök hücreler ise embriyo dışı fetüs kök hücreler, yetişkin kök hücreler, kadavradan elde edilen kök hücreler, partenot hücreleri (partenogenez), göbek kordonu ve plasenta kök hücreleridir [21]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli dokulardaki tümörlerin yapılarına bakıldığında kök hücre özelliğine benzer hücre özellikleri gösteren hücre toplulukları tespit edilmiş ve bu hücreler kanser kök hücresi (KKH) olarak isimlendirilmiştir. KKH sağlıklı kök hücreler gibi kendini yenileyebilen, pluripotensi ya da multipotensi gibi çok yönde farklılaşma yeteneği olan hücrelerdir. Kemoterapi, radyoterapi veya solid tümörlerde uygulanan cerrahi gibi klasik kanser tedavi yöntemlerine ve apoptoza dirençli olması, tümör oluşturabilmesi ve metastaza neden olması en belirgin önemli özelliklerindedir [19,22].

1.1.3.4. Hormon Tedavisi

Hormonlar, vücudun endokrin sistemini (pankreas ve hipofiz, tiroid ve adrenal bezleri) oluşturan organlar tarafından doğal olarak üretilen kimyasal maddelerdir. Bu kimyasal maddeler vücutta kan dolaşımı boyunca dolaşarak vücuttaki çeşitli organların farklı işlerini gerçekleştirmeye yardımcı olurlar. Hormon tedavisi genellikle meme ve prostat kanserlerini tedavi etmek için kullanılırken, diğer kanser türlerinin tedavisinde

hormonal tedavinin potansiyel kullanımını için araştırmalar devam etmektedir. Hormon tedavisi oral ilaç, enjeksiyon veya cerrahi müdahale şeklinde uygulanmaktadır. Hormon tedavisi "sistemik" bir tedavi olarak kabul edilir, yani vücutta seyahat eder. Cerrahi ve radyasyon tedavisi "lokal" tedaviler olarak kabul edilir [23].

1.1.3.5. İmmünoterapi

Bu tedavi şekli vücudun bağışıklık sisteminin i ve dış uyarılara karşı cevabını kullanarak yapılmaktadır. Kanserin tedavisinde  ana molekül grubu sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlar, sitokinler, antikrlar ve hücrelerdir. Tedavideki amaç bağışıklık sistemini harekete geçirip kanserli hücelere saldırmasını sağlamaktır.

Antikr tedavileri: Bu tip tedavilerde kullanılan ajanları genel olarak monoklonal antikrlar, konjuge monoklonal antikrlar, çıplak monoklonal antikrlar ve bispesifik monoklonal antikrlar olarak sınıflandırmak mümkündür. Antikrlar, vücuda giren yabancı maddelere (antijen) olarak B hücreleri tarafından salgılanan proteinler olup 4 polipeptid taşıyan bir immnoglobulinlerdir (Ig). Fonksiyonlarına ve yapılarına göre IgG, IgM, IgD, IgA ve IgE olmak üzere 5 alt gruba ayrılırlar. Her bir B hresi özel bir antikör üretebilir ancak üretilen miktar belli bir tipteki kanser hresine karşı yeterli gelmeyebilir. Bu nedenle, belli bir tipteki proteine karşı özel olarak üretilmiş ve aynı soydan gelen ve kanser hresi üzerindeki sadece tek bir epitpu tanımak üzere monoklonal antikrlar üretilir. Bunlar hücrenin sinyallerini bloke ederek, immün sistemi tetikleyerek veya hücelere ilaçları taşıyarak işlevlerini gösterirler. Konjuge monoklonal antikrların amai radyoaktif bir partikül veya kemoterapi ilacını hücreye taşıymaktır. Üzerlerinde taşıdıkları yükü hedef antijene bağlanarak boşaltılırlar ve hücrenin spesifik olarak ölmesini sağlarken sağlıklı hücelere olabildiğince az hasar verirler. Radyoimmnterapi olarak bilinen yöntemde radyo-etiketli antikrlar radyoaktif molekülleri hücelere taşıyabilirler. Radyoaktif işaretin yanında kimyasal olarak işaretli antikrların kullanılmasının meme kanserli hastalarda genel yaşam süresini anlamlı olarak uzattığı gösterilmiştir [24]. Kanserin tedavisinde en sıklıkla kullanılan antikör çeşidi ise radyoaktif veya kimyasal olarak işaretlenmemiş olan çıplak monoklonal antikrlardır. Bunlar, immün sistemi hızlandırarak işlev yaparlar.

Non-spesifik Kanser İmmnoterapileri: Bu tip tedaviler immün sistemi uyaran ve belli bir tipteki hücreyi hedeflemeyen tedavilerdir. Destek tedavi olarak immün sistemi

uyarıp hızlandırır. Vücudun enfeksiyonlara karşı direncini arttıran interferonlar, B ve T hücrelerinin sinyalleşmesinde kullanılan ve hücrelerin büyümesinde rol oynayan interlökinler, kemik iliğinin kan hücrelerini üretmesini teşvik eden granülositmakrofaj koloni stimulan etmen (GM-CSF) bu tip tedavide kullanılan ajanlardır [24].

1.1.3.6. Kanser Aşılıarı

Terapötik kanser aşılıarı, bağışıklık sistemini tümörle ilişkili antijenlere (TİA) karşı eğiterek yerleşik kanserleri tedavi etmek için kullanılır. Kanser aşılıarı tipik olarak immün tepkilerini arttırmak için bir tümör antijeni ve bir adjuvan içerir. Bu TİA'lar, tümörde aşırı eksprese edilen kendinden antijenler veya normal dokuda bulunmayan tümöre özgü mutasyonlar tarafından üretilen neoantijenler olabilir [25].

1.1.3.7. Kemoterapi

Alman tıp hekimi Paul Ehrlich tarafından 1900'lü yıllarda sifilis tedavisiyle ilgili olarak türetilen bir sözcük olan *Kemoterapi* ifadesini kullanmıştır. Kemoterapi, kanser hücresinin çoğalmasını önleyen ve sitotoksik etkiyle bu hücreleri öldüren kimyasal ajanlarla yapılan bir tedavi şeklidir. Günümüzde kemoterapinin ana ilkesi, "*sitotoksik ilaçlar*" olarak da isimlendirilen "*antineoplastik ilaçlar*" ile tedavinin de temel ilkelerini oluşturur [26]. Kemoterapi, cerrahi girişim öncesinde tümörün boyutunu küçültmek için tedavi amaçlı uygulanmaktadır. Lösemi ve lenfoma gibi kanser türlerinde kemoterapinin etkili bir tedavi yöntemi olduğu kanıtlanmıştır [27]. Sıklıkla sistemik şekilde kullanılmakta olan kemoterapinin esas amacı tümörlü hücrenin çoğalmasını yavaşlatıp durdurmaştır. Bunu hücrede DNA'ya etki etmesi ya da RNA sentezlenmesini engel olarak gerçekleştirmektedir [28,29]. Kemoterapi tedavisi intravenöz, oral, subkutan, intratümör, intraarteriyel, intrakaviter ya da subkutan intraplevral gibi çeşitli yollardan uygulanabilmektedir. Tek başına uygulanabilmesinin yanı sıra diğer tedavi yöntemleri olan radyoterapi ve cerrahi tedavi ile birlikte de kullanılabilir. Bu şekilde kötü huylu (malign) hücre çoğalması engellenmektedir. Neoadjuvan, küratif, adjuvan ve palyatif tedaviler kemoterapide kombine şekilde kullanılmaktadır [29-32].

Verilen ilaç dozuna ve türüne göre yan etki şekilleri değişmektedir. Anemi, bulantı-kusma, oral mukozit, yorgunluk vb. gibi kişinin yaşam kalitesini ciddi oranda

etkileyebilecek yan etkiler mevcuttur. Bu yan etkiler bireyin yaşam şekli ve sosyal yaşantısında çeşitli değişimlere sebebiyet vermesine bağlı olarak anksiyete, sosyal izolasyon ve depresyon gibi problemler ortaya çıkmaktadır [31].

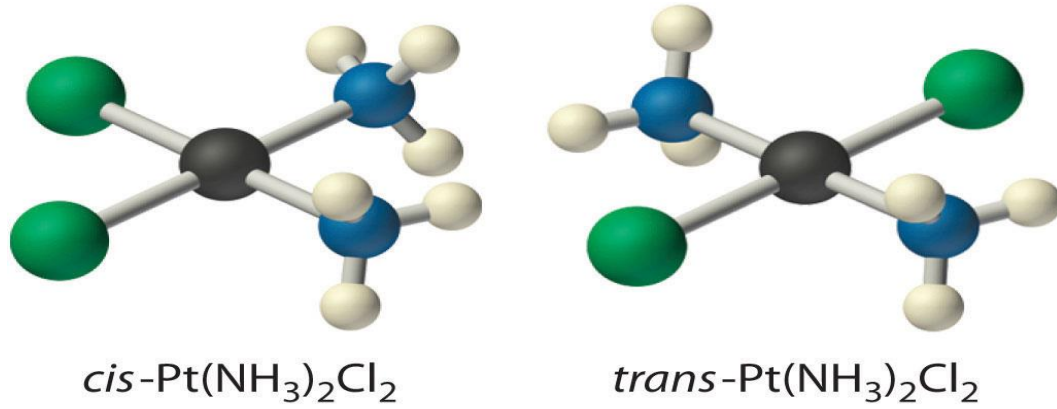
1.2. Sisplatin

Sisplatin ilk olarak 1844 yılında Michele Peyrone tarafından sentezlenmiş ve kimyasal yapısı 1893' te Alfred Werner tarafından açıklanmıştır. 1960 yılında Rosenberg ve arkadaşları platin içeren bazı sentez ürünlerinin *Escherichia coli*' de hücre bölünmesini engelleyebildiğini ve bu ürünlerin kanser kemoterapisinde kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir [33].

Sisplatin, özellikle yumurtalık, testis, baş ve boyun, mesane tümörleri dâhil olmak üzere çeşitli tümör türlerinde antikanser etki gösterdiğinden dolayı bilim adamlarının ilgisini çekmeye başlamıştır [34]. Buna ek olarak yumuşak doku, küçük hücreli akciğer kanseri, lenfoma, kemik, kas, sarkomlar ve kan damarları dahil çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [35]. 1960'lar da ve 1970'lerin sonunda sitotoksik özelliklere sahip olduğu keşfedilerek, kanserin tedavisi için kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Kanser tedavisi için 1978 yılında Food and Drug Administration (FDA) tarafından onaylanan sisplatin, halen günümüzde en yaygın olarak kullanılan ilaçların arasında yer almaktadır [34]. Sisplatinin yapısında bulunan platin (II)'nin antikanser özelliğinin belirlenmesinden dolayı, metal içeren diğer bileşiklerde araştırılmaya başlamıştır [36].

1.2.1. Sisplatin'in Kimyasal Yapısı

Sisplatin, cis-diaminodikloroplatin (II) olarak adlandırılan merkezinde metalik platinyum içeren, oda sıcaklığında beyaz ya da koyu sarı renkli olan bir bileşiktir. Sisplatinin moleküler ağırlığı 301,1 g/mol ve yoğunluğu 3,74 g/cm³'tür. Sisplatin genellikle normal sıcaklık ve basınçta kararlıdır. Sisplatinin yapısı incelendiğinde merkezdeki iki değerlikli platin atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor atomlarıyla bağ oluşturmaktadır [33]. Vücutta bu bileşiğin *cis* ve *trans* olarak iki farklı formu hücre içine alınır, bunlardan sadece *cis* formu sitotoksiktir ve *trans* izomeri antineoplastik etki sağlamadığı kaydedilmiştir [37].

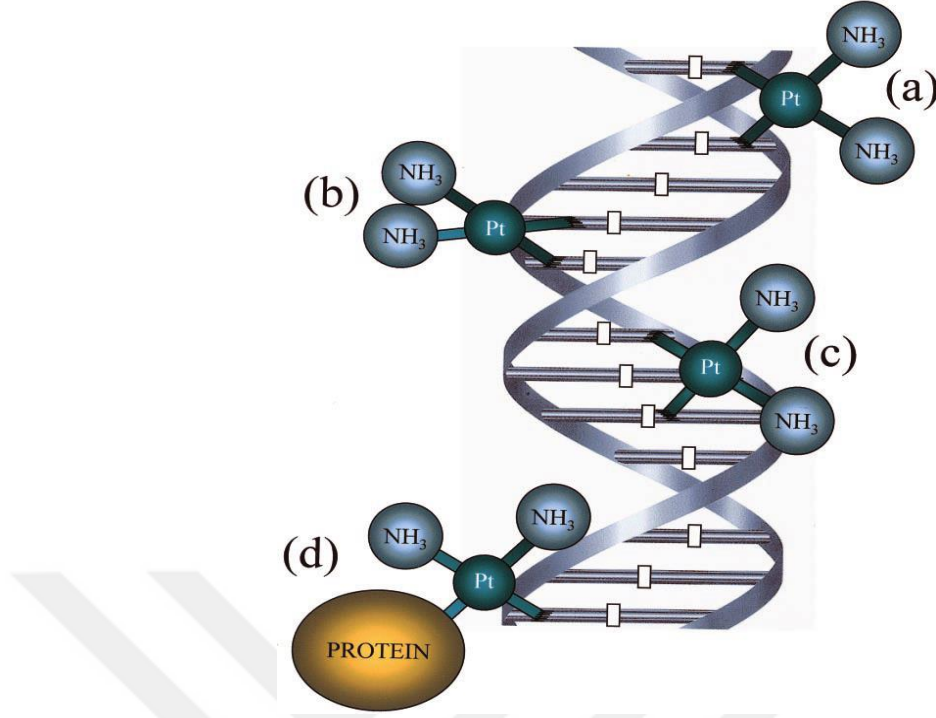


Şekil 1.5. Sisplatin'in cis ve trans Formu

1.2.2. Sisplatin'in Etki Mekanizması

Sisplatin içeriğindeki platinyum kompleksleriyle DNA bağlarında kırılmalara neden olarak kanserli hücrelerde apoptozisi tetiklemektedir ve böylece kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak etki eder. Sisplatin verildiği doza bağlı olarak çeşitli yan etkiler göstermektedir [38]. Sisplatin'in bazı spesifik genlerde değişikliklere neden olduğu da bildirilmiştir. Bu spesifik genlerden bazıları; ilaç direnç geni (MDR-1, P-gp), hücre iskelet yapısı ve fonksiyonundan sorumlu genler (Vim, Tubb5, Tmsb10, Tmsb4x, Anxa2), apoptozis sorumlu genleri (sitokrom-c oksidaz alt birim yer Genler Ben, BAR, 151-şok proteini 70-benzeri protein, Bax), doku remodeling geni (klusterin, IGFBP-1, TIMP-1), ve detoksifikasyondan sorumlu (Gstm2, Gtp2) genlerdir [39].

Sisplatin'in antikanser işlevi, çekirdekte genetik materyalde sarmal içi çapraz bağlar oluşturup DNA sentezini inhibe eden bir komplekse dönüşmesinden [40] yani DNA çift-zincirinde çapraz bağlanma yapmasından kaynaklanır. Bu şekilde sisplatin doğrudan tümör hücresinde DNA sentezini engeller [41]. Plazmanın yüksek klorür konsantrasyonlarında sisplatin elektrik yükü taşımaz. Hücre içerisine girerek DNA'nın N7 guanine bağlanarak her DNA zincirinde veya çift sarmalı oluşturan zincirlerin arasında çapraz bağların oluşmasını sağlar. Sitotoksik etkiyi bu bağlar oluşturur ve böylelikle DNA çoğalması ve RNA sentezini engellenmiş olur. Sisplatin, çeşitli süreçlerle ile mitokondriyal geçirgenliği artırarak apoptozu uyarmaktadır. Ancak aynı apoptotik etki sisplatin toksisitesinde de rol oynamaktadır [42,43].



Şekil 1.6. Cisplatin'in DNA ile etkileşiminde oluşan ana eklentiler.

(a), zicirler arası çapraz bağlantı. (b) 1,2-marka içi çapraz bağlantı. (c) 1,3-marka içi çapraz bağlantı. (d), protein-DNA çapraz bağlantısı [44].

1.2.3. Sisplatin'in Genel Toksik Etkileri

Platin bileşikleri metal iyonları içeren bileşiklerdir ve proteinler, nükleik asitler ve diğer hücrel moleküller için bağlanma noktaları oluştururlar. Bu özellikleri etkilerinin önemli bir kısmından sorumlu olduğu gibi aynı zamanda toksisiteyi açısından da önem taşır [45].

Sisplatin tedavisi birçok toksik yan etkileri de beraberinde getirir: Bunlar başta nefrotoksisite olmak üzere, hepatotoksisite, miyelosupresyon etki, nörotoksisite, geçici lökopeni, trombositopeni ve anemi gibi doz bağımlı belirgin yan etkileri bulunmaktadır. Kanser kemoterapisinde klinik açıdan önemli olan etken ise yan etkilere karşı korunmanın sağlanmasıdır [38].

Sisplatine bağlı toksisitenin, özellikle nefrotoksisitenin, azalan hücre içi glutasyon konsantrasyonuyla ilişkili olduğu bunun sonucunda da açığa çıkan ROS ve dolayısıyla oksidatif stresin membran bütünlüğünde ciddi hasarlar oluşturduğu gösterilmiştir [46].

1.2.4. Sisplatin Hepatoksitesisi

Sisplatin hepatotoksitesisi, standart dozlarda nadiren görülürken, daha yüksek dozlarda hepatotoksitesite sıklıkla gözlenir ve kanser hastalarının klinik durumunu da değiştirebilir [47,48]. Sisplatin kaynaklı karaciğer hasarı ve bunun hepatotoksitesinin mekanizması hakkında çok az şey bilinmektedir. Son zamanlarda, Lu ve Cederbaum [49] sisplatin kaynaklı hepatotoksitenin reaktif oksijen türlerinin oluşumunda artışa ve buna bağlı oksidatif stresin arttığını bildirmiştir. Böbrek dışında cisplatin kaynaklı oksidatif stresin sıçanlarda hem reaktif oksijen hem de nitrojen türlerinin oluşumuna ikincil olarak karaciğer ve lens dokularında hasar oluşturduğu bildirilmiştir [50].

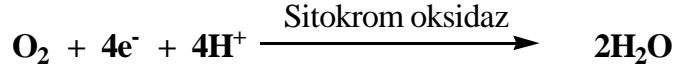
1.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller son yörüngesinde birden fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden yüksek reaksiyon yeteneğine sahip atom veya moleküllerdir. Ortaklanmamış elektron genel olarak üst kısma yazılan nokta ile gösterilir [51]. Bunun dışında dışarıdan etki ile yüksek ısı, ultraviyole ışın gibi yüksek bir enerji girişiyle molekülün homolitik ya da heterolitik bölünmesi yoluyla da oluşabilmektedir. Organizmanın oksijen ihtiyacının artmasıyla mitokondriyal elektron transport zincirindeki ortaklanmamış elektron çiftlerinin artışına bağlı olarak reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelir. Reaktif oksijen türlerine; süperoksit ($\cdot O_2$), hidroksil ($\cdot OH$), alkoksil ($RO\cdot$), alkil peroksi ($RO_2\cdot$), hidroperoksi ($HO_2\cdot$) hidrojen peroksit ($\cdot H_2O_2$) ve hipoklorit ($ClO\cdot$) gibi moleküller örnek olarak gösterilebilir [52,53]. Organizmada bulunan önemli bir radikal grubu da reaktif nitrojen türleri olan nitrik oksit (NO) ve peroksinitrittir. Bu tip maddeler hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak hem de ilaçlar ve diğer kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir [51-54]. Elektron transferi sonucu organizmada meydana gelen radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötr olabilirler [51]. Oksijen kaynaklı serbest radikaller aerobik en çok solunum reaksiyonları sonucu meydana gelir. Solunum zincirindeki oksijenin % 95'i $4 e^-$ olarak suya dönüşürken (aynı sırada hücre kendisi için

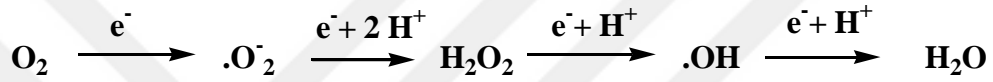
gerekli enerjiyi sentezler), % 4-5'i ardışık olarak elektron kazanarak kısmi indirgenme ile ROT'a dönüşür. Bu toksik ürünler hücreye zarar vermeden antioksidanlarca mitokondrilerde metabolize edilirler [51,55-57].

Solunum zincirindeki normal ve ROT oluşturan reaksiyonlar aşağıdaki gibidir.

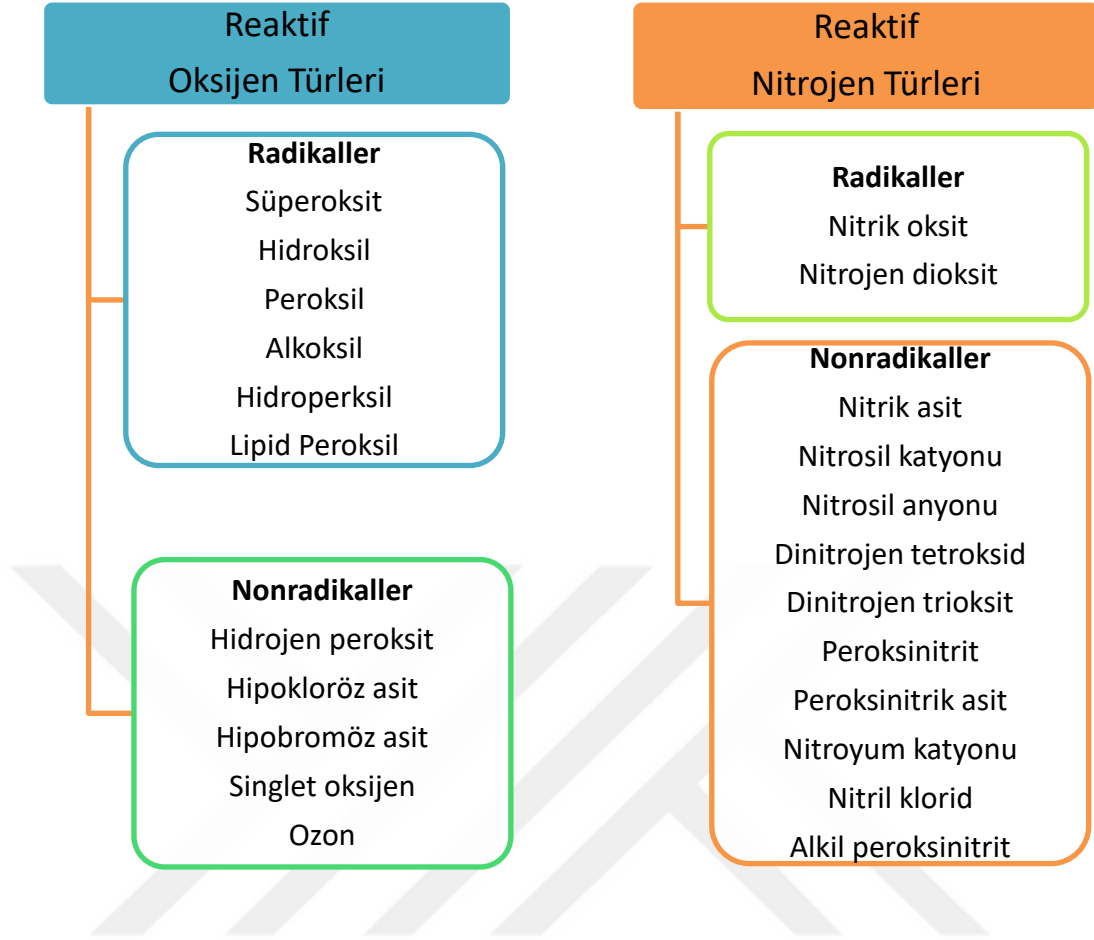
a-Normal Fizyolojik Reaksiyon:



b-Reaktif Oksijen Türlerinin Oluşumu



Organizmada çeşitli metabolik reaksiyonlar (oksidatif, ksenobiyotik, enzimatik ve nonenzimatik) sonucu oluşan serbest radikaller, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler tarafından substrat olarak kullanılırlar. Serbest radikaller organizmada öncelikle lipit, protein ve nükleik asitler gibi tüm biyomoleküller ile reaksiyona girebildiği, özellikle lipit ve proteinler üzerinde olumsuz etkileri bulunmaktadır [51,58]. Ölüm riskini arttıran ve yaşlanmayı hızlandıran immun sistemin çökmesinde, merkezi sinir sisteminin dejeneratif bozukluklarında, kardiyovasküler, diyabet ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde serbest radikallerin önemli bir rol oynadığı ve serbest radikalleri yok eden veya etkisini azaltan antioksidanların kullanılmasının yaşam süresini uzatabileceği ortaya konulmuştur [51,54,55].



Şekil 1.7. Reaktif Oksijen ve Reaktif Nitrojen Türleri

Serbest radikaller genellikle kovalent bağların homolitik yıkılması, yüksüz bir moleküle elektron transferi ve yüksüz bir molekülün elektronunu kaybetmesi şeklinde üç temel mekanizma ile oluşur [51].

Kovalent bağların homolitik kırılması: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar veya yüksek sıcaklık (500-600 °C) kovalent bağlı bileşiklerdeki kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri farklı atomlar üzerinde kalırsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron bulunur. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda ise reaktif özellik gösteren zıt yüklü iyon çiftleri oluşur [51,58,59].

Normal bir moleküle elektron transferi: Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron bulunması radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin oksijen molekülünün tek elektron ile indirgenmesi sonucunda radikal formu olan $\cdot O_2^-$ meydana gelir. Biyolojik sistemlerde bu mekanizma yolu ile radikal oluşumu yaygın olarak gerçekleştiğinden canlılar için oldukça önemlidir. Canlılarda çok sayıda enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle $\cdot O_2^-$ radikalinin üretildiği bildirilmektedir [58,59].

Normal bir molekülün elektron kaybetmesi: Radikal özelliği bulunmayan bir molekülün elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalmasına bağlı radikal formu oluşur [58,59].

1.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Biyolojik Kaynaklar: Aktive olmuş fagositler (makrofajlar vb.), antineoplastik ajanlar (doxorubicine vb.), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucular), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal ajanlar, sigara dumanı, solventler, aromatik hidrokarbonlar) ve stres [51].

İntrasellüler Kaynaklar: Küçük maddelerin otooksidasyonu (tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinler ve antibiyotikler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofandioksijenaz ve hemoglobin), mitokondrial elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450, sitokrom b₅), peroksizomlar (oksidazlar ve flavoproteinler), plazma membranı (lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz ve lipit peroksidasyonu), oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma ve intoksikasyon) [51].

1.3.2. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri

Organizmada savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak şekilde serbest radikallerin üretilmesinin başta lipitler olmak üzere, protein, DNA, enzim, karbonhidrat veya bunların önemli bileşiklerini etkilemesine bağlı olarak çeşitli bozukluklara yol açtığı bildirilmiştir [51,54,56,60]. Hücre zarındaki yağ asitleri ve kolesteroldeki

doymamış bağlar serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluşturur. LPO fosfolipit, glukolipit, gliserit ve steroidlerin yapısında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidan maddeler aracılığıyla alkol, aldehit, hidroksi asit, etan, pentan gibi ürünlere yıkılmasını kapsar. LPO olaylarının potansiyel olarak yıkıcı etkileri olan zincir reaksiyonları olduğu, daha ileri peroksidasyon olaylarını başlatan serbest radikaller için devamlı bir kaynak sağladığı ve hücre zarında geriye dönüşümsüz hasarlar meydana getirir [51,55]. Oksidan maddeler, proteinlerde dekarboksilasyona, peptid bağlarının hidrolizine, disülfid bağları ve çapraz bağlar oluşturarak hücre için esansiyel olan Ca-ATPaz, Na/K ATPaz gibi enzimlerde fonksiyon kaybı sonucu hücre içi ve dışı iyon dağılımının bozulmasına neden olur [51,61].

Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme dereceleri amino asit dizilimine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallere affinitesi yüksek olduğundan, triptofan, tirozin, fenil alanin gibi aromatik yapıları amino asitler ile metiyonin, sistin, sistein gibi kükürtlü amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden çok çabuk etkilenirler. Sonuçta özellikle sülfür ve karbon merkezli radikaller meydana gelir. Radikalleri oluşturan reaksiyonlar sonucu immunglobin G (IgG) ve albuminin üç boyutlu yapısı bozulduğundan normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. İyonize edici radyasyonlarla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ardından ölüme yol açar. Sitotoksite büyük ölçüde nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek DNA zincirinde kırılmaların yanısıra DNA polimerazın inhibisyonuna neden olur. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçer ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon kaybına ve ölümüne yol açar. Bu yüzden DNA, serbest radikal hasarından kolayca zarar görebilen önemli bir hedeftir [51,55].

Serbest radikallerin protein metabolizması üzerinde olumsuz etkilerinin bulunması yanında karbonhidrat metabolizması üzerinde de glikolitik, ATP sentezini azaltıcı ve ATP kullanımını artırıcı yönde etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler gibi meydana gelen radikaller diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklarda önemli rol oynarlar.

Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve kendi aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar [51].

1.4. Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisindedir ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme, bu dengenin bozulmasına neden olur. ‘Oksidatif stres’ olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [62].

Reaktif oksijen türleri oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup başta mitokondriyum olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi-reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebepler bağlı olarak üretilirler [63]. Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinden sorumludur [64,65].

1.5. Antioksidanlar

Organizmada oksijen radikallerin oluşmasını ve oksidatif stresin meydana getirdiği hasarı önlemeye yönelik gelişmiş savunma sisteminin elemanları antioksidanlar olarak bilinmektedir [66]. Organizmada oksidan/antioksidan sistem arasında hassas bir denge vardır. Bu dengenin sağlanması antioksidanlar ile gerçekleştirilir. Dengenin bozulması, doku hasarına neden olacak şekilde oksidatif strese neden olur. Genel olarak enzimatik antioksidanlar hücre içinde, enzimatik olmayan antioksidanlar ise hücre dışında daha fazla etkilidir [67].

Antioksidanlara oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesinin yöntemleri ise toplayıcı, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etki olmak üzere dört ayrı şekilde etki ederler.

Toplayıcı, süpürücü etki (scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir.

Bastırıcı etki (quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler, flavonoidler, trimetazidin ve antisiyanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

Onarıcı etki (repair etki): Hasara uğramış sistemlerin tekrar tamir edilmesi, eski haline getirilmesini sağlarlar.

Zincir kırıcı etki (chain breaking etki): Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Hemoglobun, seruloplazmin ve minareler zincir kırıcı etki gösterirler [51].

1.5.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen (enzimatik ve enzimatik olmayan) olmak üzere iki grup altında toplanabilir [68]. Bu antioksidanların bazıları düşük molekül ağırlıklı olanlar ve enzimatik kofaktörler gibi enzimleri içerirler. Yaygın enzimatik olmayan antioksidanlar, birçok besinsel kaynaktan elde edilebilmekte olup besinlerde en yaygın bulunanları polifenol bileşenlerdir. Besinlerden alınan diğer antioksidanlar ise vitaminler, karotenoidler, organosülfür bileşenleri ve mineraller şeklinde sıralanabilir [69].

Tablo 1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Eksojen Antioksidanlar	
Vitamin Eksojen Antioksidanlar	İlaç Olarak Kullanılan Eksojen Antioksidanlar
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestetikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
	Nötrofil adezyon inhibitörleri
	Sitokinler (TNF ve IL-1) Barbitüratlar
	Demir şelatörleri

Endojen Antioksidanlar		
Enzimatik Antioksidanlar	Nonenzimatik Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutatyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutatyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin

1.5.2. Eksojen Antioksidanlar

α -Tokoferol (Vitamin E): Vitamin E, yüksek antioksidan potansiyeli olan yağda çözünen bir vitamindir. Bu vitamin, sekiz stereoizomeri olan asimetric bir bileşiktir. Bu

asimetrik formlar α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokotrienol olarak sınıflandırılmaktadır. İnsanlarda en biyoaktif formu α -tokoferoldür. α -tokoferol, serbest radikallerin hasarlarından hücre membranlarını korur. α -tokoferolün antioksidan olarak temel fonksiyonu lipid peroksidasyonuna karşı korumada bulunmaktır. Vitamin E; kolon, prostat ve göğüs kanserleri, bazı kardiyovasküler hastalıklar, iskemi, katarakt, artrit ve nörolojik bozukluklara karşı koruma özelliğine sahiptir [70].

Askorbik Asit (Vitamin C): Askorbik asit olarak da bilinen Vitamin C, suda çözünebilen bir vitamindir. Kollajen, karnitin ve nörotransmitter biyosentezi için gereklidir [71]. Vitamin C süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini kolaylıkla temizler ve dolayısıyla oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlar. Vitamin C lipitlerde çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturarak bir koantioksidan olarak hareket edebilir. Vitamin C, sayılan bu antioksidan görevlerinin yanı sıra, Fe^{+3} 'ü lipid peroksidasyonunu artıran Fe^{+2} 'ye dönüştürerek, oksidan bir davranış da göstermektedir [72].

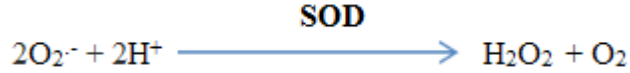
β -Karoten (Vitamin A): A vitamini, hayvanlarda retinolün uzun zincirli yağ asidi esterleri halinde, bitkilerde ise bir provitamin olan β -karotenler formunda bulunur. β -karoten, α -karoten ve β -kriptoksantin A vitaminine dönüşebildikleri için provitamin A olarak da bilinirler. Tüm bu provitaminler antioksidan karotenoidlerdir [73]. Serbest radikal reaksiyonlarına katılan karotenoidler antioksidan aktivitelerini; zararlı hidrojen peroksitlerin oluşum hızını azaltarak gösterirler ve membran lipidlerini peroksidatif hasara karşı korurlar [74].

1.5.3. Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak iki alt grupta sınıflandırılabilir [75].

1.5.4. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz: Reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını oluşturur [75]. Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini ($\cdot\text{O}_2^-$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, Katalaz (CAT) ya da Glutasyon peroksidaz (GPx) ile ortamdan uzaklaştırılır [76].



İnsanlarda SOD'un üç formu bulunur. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) sitozolde, manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) mitokondride ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) hücre dışı sıvılarda bulunur [68].

Katalaz (CAT): Katalaz enzimi; canlı metabolizma hücrelerinde hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya parçalanmasını sağlar böylece hücreler için zararlı olan hidroksil radikalinin oluşumunu engeller. Ayrıca, katalaz enzimi peroksidatif reaksiyonların oluşturduğu alkoller, formaldehit, formik asit ve fenoller gibi toksik bileşiklerin etkilerini azaltmada da rol oynar [69].

Glutasyon Peroksidaz (GPx): Glutasyon peroksidaz H_2O_2 'nin dönüşümünü katalizleyerek lipid peroksidasyon kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır. İki adet intraselüler glutasyon peroksidaz (GPx) bulunmaktadır. Bunlar GPx-1 ve GPx-4'tür. GPx-1 çoğu dokuda bulunur ve hücre içerisinde yaygın bir dağılım gösterir. Fosfolipid hidroperoksit peroksidaz veya GPx-4 lipid peroksidatların detoksifikasyonunda fosfolipazların eylemini gerektirmeyen eşsiz bir antioksidan enzimdir. Ayrıca glutatyonun dışında değişik birçok tiyoller de kullanabilme yeteneğine sahip bir enzimdir [77].

1.5.5. Nonenzimatik Antioksidanlar

Redükte Glutasyon (GSH): Glutasyon, hemen hemen bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenir. Bundan dolayı yüksek yoğunluklarda bulunur. Glutasyon bir antioksidan olarak hareket eder ve ayrıca hücrenin redoks durumunu korumada, detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikosonoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak faaliyet gösterir [78].

Seruplazmin: Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.

Transferin: Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler

Laktoferrin: Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.

Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.

Ürik asit: Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.

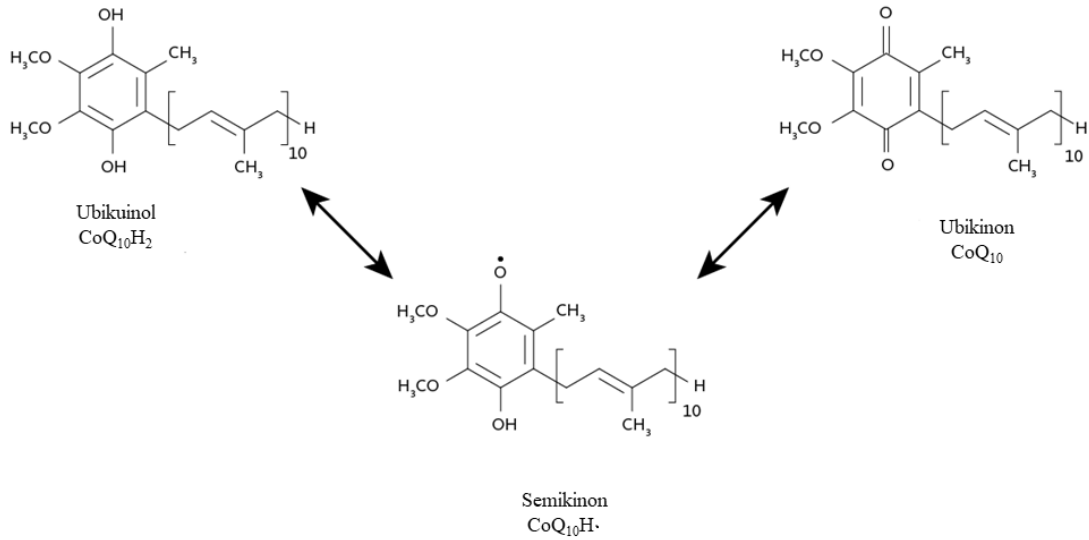
Albümin: HOCl radikali toplar. Proteini ve metal iyonlarını bağlar

Bilirubin: Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır [79].

1.6. Koenzim Q₁₀

Nonenzimatik antioksidanlar sınıfına giren koenzim Q₁₀'un kimyasal formülü 2,3-dimetoksi-5-metil-6-dekaprenil-1,4-benzokinon'dur. Hücredeki enerji üretimi sırasında kilit enzimatik reaksiyonlarda koenzim olarak görev yapan [80,81], yağda çözünen, turuncu kristal bir tozdan oluşan vitamin benzeri bir maddedir [82]. Bu molekül bitkilerde, memelilerde ve insanların hemen hemen bütün hücrelerinde, bakteri ve birçok aerobik organizmalarda bulunur. Koenzim Q₁₀ insan dahil birçok organizma tarafından sentezlenir [83]. İnsan organizmasında, bu enzim solunum zincirinde önemlidir ve mitokondri içinde adenzin trifosfat (ATP) üretimi için bir elektron

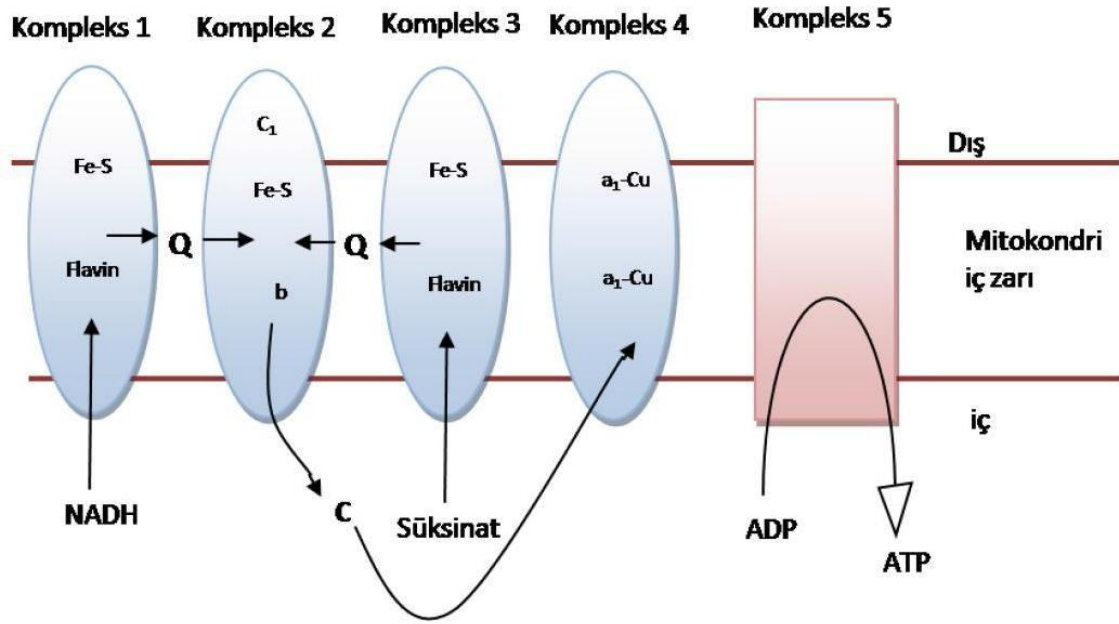
taşıyıcı olarak görevlidir [84]. Dolayısıyla metabolik enerjinin üretiminde önemli yeri vardır ve eksikliğinde enerji üretimi gerçekleşemez. Koenzim Q₁₀, membran yapısında yer alarak, fosfolipid tabakasının korunmasını sağlar [85,86]. Biyolojik dokularda biyokimyasal olarak hem indirgenmiş formda (ubikinol-10) hem de okside formda (ubikinon-10) bulunur [80]. Ubikinon kelimesi, latince “ubiquitos quinone” kelimelerinden türetilmiş olup tüm hücrelerde bulunması ile ilişkilendirilen ve “her yerde bulunan” anlamına gelen bir terimdir [87]. Değişik uzunlukta bir izoprenoid yan zinciri ile ortak benzokinon halkasını paylaşırlar. İnsanlarda ve diğer birkaç memeli türünde, yan zincir 10 izopren ünitesinden oluşur, bu nedenle bu yapıya koenzim Q₁₀ ismi verilmiştir [88].



Şekil 1.8. Koenzim Q₁₀'un Redoks Formları

Koenzim Q₁₀, 1957 yılında Dr. Frederick Crane tarafından keşfedilmiştir [89]. 1958 yılında da Prof. Karl Folkers ve yardımcısı Merck, Koenzim Q₁₀'un biyokimyasal yapısını açıklamışlardır. 1960 yılında Japonya'da Prof. Yamamura Koenzim Q₇'yi bir insanda konjestif kalp yetmezliğinde ilk kez kullanmıştır. 1966'da Mellors ve Tappel Koenzim Q₆'nın antioksidan etkisini göstermiş, 1972'de Gian Paolo ve Prof. Karl Folkers Koenzim Q₁₀'un insanların kalp hastalığındaki etkisinden bahsetmişlerdir. 1970'lerin ortalarında Japonya'da saf Koenzim Q₁₀ elde edilmiştir. Koenzim Q₁₀'un biyolojik enerji transferindeki rolünü kanıtlamasıyla Peter Mitchell, 1978 yılında Nobel ödülünü kazanmıştır [90].

Koenzim Q₁₀ mitokondride solunum zincirinin elektron taşıyıcısı olarak görev alır. Koenzim Q₁₀ elektron transfer zincirinde yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görev yapan kompleks I, II ve III olarak isimlendirilen enzim sistemlerinin aktiviteleri için gerekli bir koenzimdir. Koenzim olarak görev yaparken taşımakla görevli olduğu elektron ve protonları (2H⁺⁺2e⁻) yapısındaki kinon halkasına katarak hidroksikinona dönüşür. Yapısındaki kinon grubu koenzim Q₁₀'a elektron taşıyıcısı özelliğini kazandırır [91]. Redoks özelliği (indirgenme-yükseltgenme) ile elektronların kompleks I (nikotinamid adenin dinükleotid dehidrojenaz) ve kompleks II'den (süksinat dehidrojenaz) kompleks III'e (ubikinon - sitokrom c redüktaz) taşınmasını sağlar. Bu sırada çok önemli biyolojik enerji olan ATP üretilir. Böylece, koenzim Q₁₀ hücrel enerji üretiminde önemli bir rol oynar [85].



Şekil 1.9. Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

NADH = nikotinamid adenin dinükleotid, Q = KoQ, C= sitokrom C, Fe-S = demir sülfür kümeleri, C1 = sitokrom C1, b = sitokrom b, a1-Cu = bakır ile ilişkili sitokrom a1, ADP = adenzin difosfat, ATP = adenzin trifosfat, oklar yolak içinde elektronların akış yönünü göstermektedir [92].

1.6.1. Koenzim Q₁₀ Kaynakları

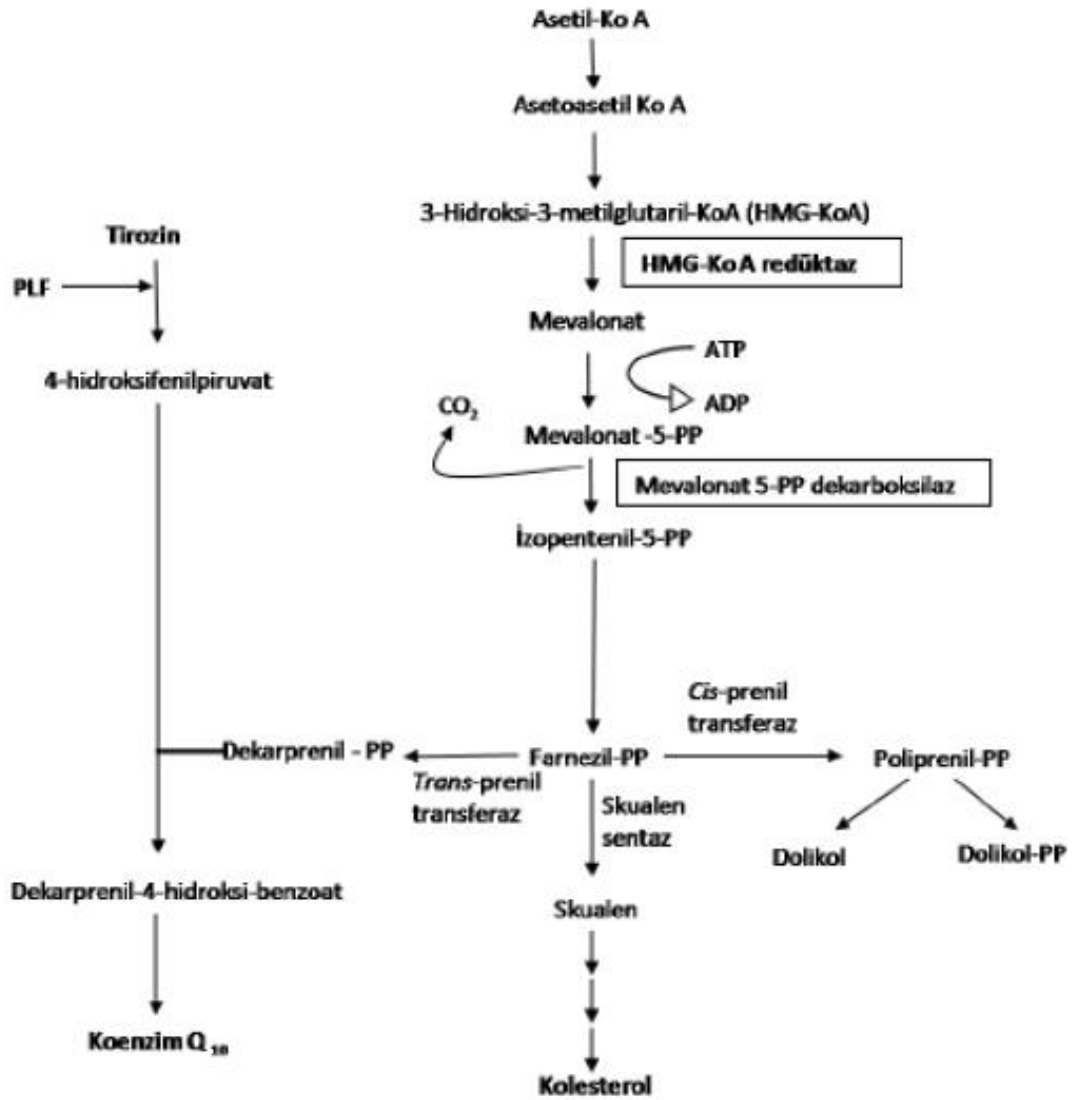
Koenzim Q₁₀ endojen ve eksojen olmak üzere iki kaynaktan bulunur. Koenzim Q₁₀, insanlarda Asetil-KoA ve eksojen kaynaklı tirozin amino asidinin katkılarıyla kolesterol biyosentezinin de gerçekleştiği ortak bir yolda sentezlenir. Tirozinin aromatik halka ön maddesi olarak koenzim Q₁₀ sentezine katılabilmesi için B6 (piridoksal-5-fosfat) vitamininin varlığına gerek duyulur. Endojen koenzim Q₁₀, insan dokularında en yüksek konsantrasyonda kalp (110 µg/g doku), karaciğer (60 µg/g doku) ve böbrekte (70 µg/g doku) bulunur, en düşük konsantrasyon 8 µg/g, akciğer dokularındadır. Beyin ve akciğer dokuları hariç insan dokularının büyük bölümü indirgenmiş formda koenzim Q₁₀ içerir.

Eksojen koenzim Q₁₀ çoğunlukla diyetten sağlanır. Koenzim Q₁₀, dana eti, tavuk eti, alabalık, brokoli, soya fasulyesi gibi tüm hayvansal ve bitkisel gıdalarda farklı oranlarda bulunmaktadır. Kagan ve Quinn (2001) tarafından yapılan bir sınıflandırmada; koenzim Q₁₀ içeren gıdaların zengin (20 µg/g) daha fazla ve (20 µg/g) daha az kaynaklar olarak ikiye ayrılır. Koenzim Q₁₀'ca zengin gıdalar kas dokusundaki mitokondrinin yüksek miktarda içermesine bağlı olarak başlıca kırmızı et (8 - 200 µg/g) ve balık (4 - 64 µg/g) olarak belirtilmiştir [93].

1.6.2. Koenzim Q₁₀ Biyosentezi

Koenzim Q₁₀ sentezi üç ana basamakta incelenebilir. Benzokuinon çekirdeği tirozinden, izoprenoid yan zinciri kolesterol sentezi için de ortak yol olan mevalonat yolu aracılığıyla asetil-koenzim-A'dan sentezlenir [94,95] ve bu iki ana parçanın birleşmesi de transprenil transferaz tarafından katalizlenir. Hidroksimetil glutaril-KoA (HMG-KoA) redüktaz hem Koenzim Q₁₀ sentezinde hem de kolesterol sentezinde anahtar görevdedir. Mevalonat yolu, asetil-koenzim-A (asetil-CoA) ile başlayıp kolesterol, dolikol ve koenzim Q öncüsü olan farnesil pirofosfat (FPP) üretimi ile devam eder. Bu aşama tüm son ürünler için ortak yol olup daha sonra FPP' dan değişik reaksiyonlar sonucunda koenzim Q'nun izoprenoid yan zinciri sentezlenir. FPP, aynı zamanda kolesterol ve dolikolün öncü maddesidir. Koenzim Q'nun uzun yan zinciri, farklı türlerde sayısı 6-10 arasında tekrarlayan izopren ünitesi taşır. Tirozin ya da

fenialaninden elde edilen 4-hidroksil benzoik asit ile polipirenil pirofosfat transferaz enziminin katalizlediği reaksiyonla Polipirenil 4-hidroksil Benzoik asidi oluşturur ve bu koenzim Q'nun prekürsörüdür. Gösterilen yolda 3-hidroksi 3-metil glutaril koenzim A (HMG-CoA) redükte edilerek mevalonata çevrilir ve bu basamağı katalizleyen HMG-CoA redüktaz bu yolun düzenleyici enzimi olarak düşünülmektedir [96]. Koenzim Q'nun sentezi endoplazmik retikulum'da başlar ve golgide tamamlanır, buradan hücredeki diğer bölgelere dağılır. En çok mitokondride bulunur. Hayvan hücrelerinde koenzim Q'nun mitokondriye ek olarak endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, peroksizom ve plazma membranında yer aldığı gösterilmiştir. Koenzim Q yüksüz olduğundan sınırlı miktardaki fazlalık plazma membranından kana geçer ve plazma lipoproteinlerine bağlanır. Kolesterolün tersine koenzim Q, dolaşım ile farklı dokulara dağılım göstermez. Koenzim Q'nun redükte formu (ubikinol) lipit peroksidasyon inhibitörüdür [95]. Koenzim Q'nun lipit peroksidasyonu üzerine etkisi, lipit radikali veya lipit peroksil radikallerini yakalamasına bağlı olabilir. Ubikinol, Vitamin E'nin redükte formunun devamlılığını sağlayarak da lipit peroksidasyonunu inhibe edebilir [97].



Şekil 1.10. Koenzim Q₁₀'un Sentezi (PLF: pridoksal 5-fosfat)

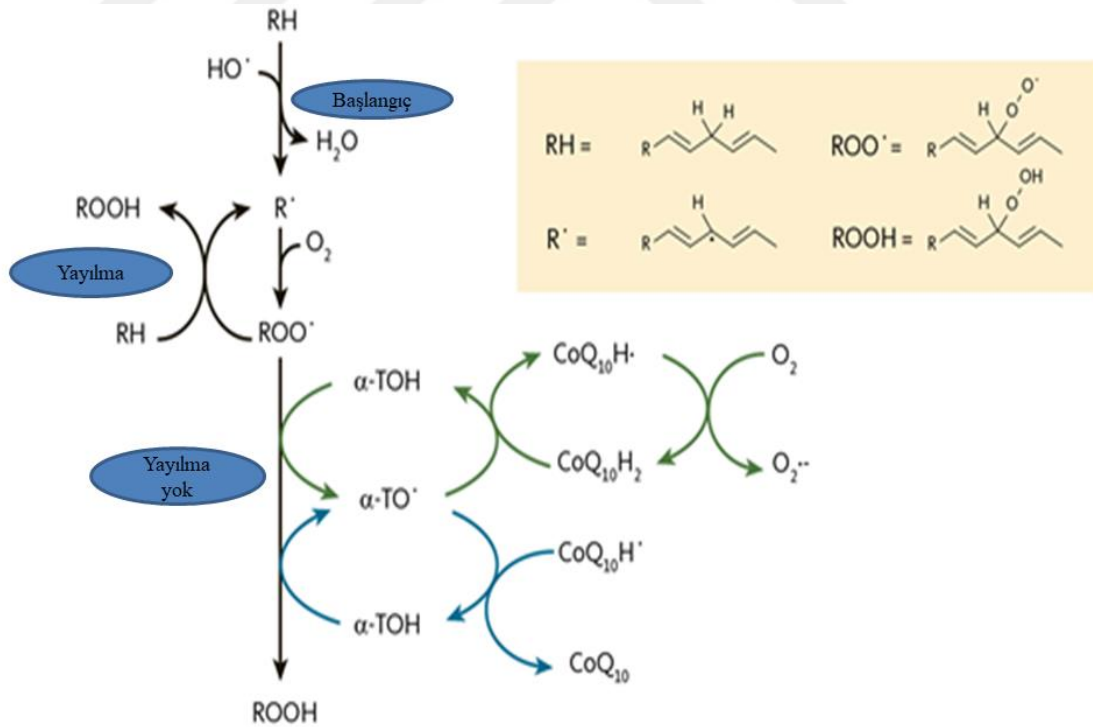
1.6.3. Koenzim Q₁₀'un Antioksidan Etkisi

ATP sentezi için önemli olan Q₁₀, organizmanın tüm hücrelerine etki ederek mitokondriyal biyoenerji için gerekli olan bileşiktir. Koenzim Q₁₀ redoks özelliği nedeniyle, serbest radikallerin nötralizasyonunda ve reaktif oksijen türlerine karşı savunmada görev alır [98]. Serbest radikallerin DNA ve proteinlere zarar vermesini önleyerek, lipid peroksidasyonuna etki eder ve kalsiyum aşırı yüklenmesini önler kalsiyum kanallarını stabilize ederek redoks reaksiyonlarına katılabilen endojen olarak sentezlenebilen tek yağda çözünen antioksidandır [99]. Enzim, serbest radikalleri

ayırarak α -tokoferil radikalini α -tokoferole indirgeyerek lipid peroksidasyonuna hareket eder [100]. Koenzim Q_{10} işlevi E vitaminine çok benzer, ancak E vitamini koenzim Q_{10} 'un aksine sadece diyetle sağlanabilir [101].

Hücre membranlarındaki koenzim Q_{10} 'un büyük bir kısmı ubikinol (Koenzim $Q_{10}H_2$) şeklindedir ve koenzim Q_{10} 'un redükte formu olan ubikinol çok etkili bir antioksidandır. Koenzim $Q_{10}H_2$ çoğu subselüler membranlarda lipid peroksidasyonunu önleme yeteneğine sahiptir. Hücrenin, tüm intraselüler bölgelerinde koenzim Q_{10} 'nu redükte tutmak için etkili sistemler mevcuttur [91]. Bu işlem üç adet enzim sayesinde gerçekleşmektedir.

Bunlar; NADH sitokrom-b5 redüktaz, NADH/NADPH oksidoredüktaz (DT diaforaz) ve NADPH koenzim Q_{10} redüktazdır. Endomembrandaki 1 ve 3. redüktazlar özellikle, bir radikal ile reaksiyon sonucu oluşan herhangi bir semikinonun bir elektron ile tekrar redüklenmesi için önemlidir [85].



Şekil 1.11. Koenzim Q_{10} 'un Antioksidan Aktivitesi

1.6.4. Koenzim Q₁₀ Kanseri Üzerine Etkileri

Vücutta doğal olarak bulunan bir enzim türü olan Koenzim Q₁₀, yapılan araştırmalara göre kanserle mücadelede önemli bir rol oynuyor. Birçok hastalığa iyi gelen Koenzim Q₁₀, özellikle kemoterapi tedavisinin neden olduğu yan etkileri azalmanda etkilidir. Kemoterapi gören çoğu hasta, immün sisteminin çökmesi sonucu ağır bir tedavi süreci yaşar. Ama yapılan araştırmalar, Koenzim Q₁₀'un kemoterapinin tolere edilmesine yardımcı olduğunu, bağışıklık fonksiyonu üzerinde olumlu etkileri bulunduğunu ve kansere kritik destek sunabileceğini göstermektedir. Kanserle karşı bir çok tedavi şeklinde etkin bir savaşçı olan Koenzim Q₁₀'un, kalp ve beyin sağlığı için de hayati katkıları bulunuyor. Bir hücrel koruyucu olan Koenzim Q₁₀ özellikle toksik etkileri azaltmak için onkoloji tedavilerinde kullanılır [102].

Koenzim Q₁₀ takviyesinin potansiyel sağlık yararları kabul edilmiştir ve standart medikal tedaviye ek olarak terapötik değeri de özellikle kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklara etkinliği vardır. Bu nedenle, koenzim Q₁₀ son yıllarda giderek daha popüler bir diyet takviyesi haline gelmiştir. Çeşitli koenzim Q₁₀ ürünleri hem çiğnenebilir hem de çiğnenebilir olmayan tabletler, toz dolu kapsüller ve koenzim Q₁₀' nun bir yağ süspansiyonunu içeren yumuşak jelatin kapsüller halinde piyasada mevcuttur [88].

Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada ratlarda oluşturulan deneysel sisplatin toksisitesinde koenzim Q₁₀'un karaciğer dokusu aspartat aminotransferaz, (AST) alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi ve total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Çalışmada, Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Barındırma, Uygulama ve Araştırma Ünitesinden temin edilen, 6 aylık 30 adet Sprague Dawley erkek rat kullanıldı. Deneye başlamadan önce Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından (KAÜ-HADYEK/2019-155) gerekli izin alındı. Hayvanlar 1. Grup (Kontrol, n=6), 2. Grup (Sisplatin, n=6), 3. Grup (Koenzim Q₁₀, n=6), 4. Grup (Sisplatin+Koenzim Q₁₀, n=6), 5. Grup (CoQ₁₀+ Sisplatin Grubu (Deneme öncesi ve sonrası), n=6) olmak üzere beş gruba ayrıldı. Çalışmada ratlara sisplatin 10 mg/kg ve koenzim Q₁₀ 10 mg/kg intraperitoneal (ip) uygulandı. Uygulamalar sonunda ratlara ksilazin-ketamin kombinasyonu (15mg/kg-50mg/kg) i.p uygulanarak batin ön duvarı insizyonla açılıp karaciğer dokuları alınarak sakrifiye edildi. Alınan dokular -45 °C dondurucuda muhafaza analizler yapılncaya kadar muhavaza edildi. Karaciğer dokularında; total protein, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi ve total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) düzeyleri ticari kit ile spektrofotometrede kolorimetrik olarak ölçüldü.

1. Grup (Kontrol Grubu, n=6): 7 gün boyunca % 0,05' lik serum fizyolojik verildi. Deney süresince normal yem ve içme suyu ile *ad libitum* olarak beslendi.
2. Grup (Sisplatin Grubu, n=6): İlk 3 gün serum fizyolojik, 4. gün 10 mg/kg tek doz ip sisplatin ve üç gün süresince serum fizyolojik verildi.
3. Grup (CoQ₁₀ Grubu, n=6): 7 gün boyunca 10 mg/kg CoQ₁₀ ip uygulandı.
4. Grup (CoQ₁₀ + Sisplatin Grubu, n=6) (Deneme öncesi): İlk 4 gün ip 10 mg/kg CoQ₁₀, 4.gün aynı zamanda 10 mg/kg tek doz sisplatin ve sonrasında serum fizyolojik verildi.
5. Grup (CoQ₁₀+ Sisplatin Grubu (Deneme öncesi ve sonrası), n=6): İlk 4 gün 10 mg/kg CoQ₁₀, 4.gün aynı zamanda 10 mg/kg tek doz sisplatin uygulandı. Ardından 3 gün boyunca 10 mg/kg CoQ₁₀ uygulamaya devam edildi.

2.2. Metot

2.2.1. Analizler İçin Kullanılan Cihazlar

1. Mikroplak Okuyucu (Bio-Tek Eon, USA)
2. Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Rotina 35R)
3. Etüv (Labart)
4. Vorteks (Yellow line TTS 2, USA)
5. Mikroplak alkalayıcı (Biosan, PSU-2T, EU)
6. Çalkalamalı İnkübatör (Inovia, INO THZ-100B)
7. Hassas terazi (Denver, TP-214)
8. Manyetik karıştırıcı (Wisestir, MSH-20A, Kore)
9. pH Metre (Adwa AD800, Romanya)
10. Otomatik pipet (Eppendorf, Socorex)
11. Soğutucu (+4°C, Profilo)
12. Derin dondurucu (-20°C, Profilo ve -45°C, Uğur)
13. Mekanik homojenizatör
14. Distile su cihazı (GFL, Water Stills 2004, Germany)
15. Ultra pure su (VWR Chemicals, USA)

2.2.2. Analizler İçin Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler

1. Cisplatin (Koçak Farma, TÜRKİYE)
2. Koenzim Q₁₀ (Solgar, USA)
3. Aspartat Aminotransferaz kiti (Erba Lachema, Brno, CZECH REPUBLIC)
4. Alanin aminotransferaz (Erba Lachema, Brno, CZECH REPUBLIC)
5. Total antioksidan kapasite kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep TÜRKİYE)
6. Total oksidan kapasite kiti (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep TÜRKİYE)
7. Gamma Glutamil Transferaz Kiti (Erba DDS, TÜRKİYE)

2.3. Karaciğer Doku Homojenizasyonu

Karaciğer dokuları fosfat tamponunda yıkandıktan sonra birer parça kesildi. Kesilen bir miktar doku ependorf tüpe alınarak ve her doku örneği için 500 µL lizis tamponu eklenerek dokular buz üzerinde mekanik homojenizatör ile homojenize edildi. Numuneler 4°C’de,12.000 rpm’de 30 dk santrifüj edilerek süpernatant elde edildi daha sonra kullanılmak üzere -45 °C’de muhafaza edildi.

2.4. Total Antioksidan Kapasite Analizi

Numunelerdeki total antioksidan kapasite düzeyleri ticari kit kullanılarak spektrofotometre ile ölçüldü. Numunelerde bulunan antioksidan maddelerin mavi-yeşil renkteki 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzoitazolin-6-sülfonat (ABTS) radikali ile reaksiyona girerek bileşiğin renginde azalmaya ya da rengin kaybolmasına neden olması prensibine dayanan metotta standart olarak E vitamini analogu olan trolox kullanıldı.

2.4.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar

Ayraç 1: Test tamponu

Ayraç 2: Renklendirilmiş ABTS [2,2'-azino-bis (3-etil benzolin-6 sulfonik asit)] radikal çözeltisi

Standart 1: 0,0 mmol Trolox Equiv./L çözeltisi

Standart 2: 1,0 mmol Trolox Equiv./L çözeltisi

2.4.2. Deneyin Yapılışı

Mikroplak kuyucukları Standart 1, Standart 2 ve Test olmak üzere belirlendi. Standart 1 kuyucuğuna 30 µL Standart 1, Standart 2 kuyucuğuna 30 µL Standart 2 ve Test kuyucuklarına 30 µL numune eklendi. Bütün kuyucuklara 300 µL Reaktif 1 eklendi ve 660 nm’de birinci okuma yapıldı. Bütün kuyucuklara 75 µL Reaktif 2 eklendi ve 37 °C’de 5 dk inkübe edildikten sonra 660 nm’de ikinci okuma yapıldı.

Tablo 2.1. Total Antioksidan Kapasite Analizi

	Standart 1	Standart 2	Test
Ayraç 1	500 µl	500 µl	500 µl
Standart	30 µl	30 µl	-
Numune	-	-	30 µl
660 nm ilk okuma			
Ayraç 2	75 µl	75 µl	75 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
660 nm ikinci okuma			

2.4.3. Sonuçların Hesaplanması

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Örnekte})] / [(\Delta\text{Abs Std1}) - (\Delta\text{Abs Std2})]$$

$\Delta\text{Abs Std1}$ = Standart 1’in ikinci absorbansı – Standart 1’in ilk absorbansı

$\Delta\text{Abs Std2}$ = Standart 2’in ikinci absorbansı – Standart 2’in ilk absorbansı

Δ Numunenin absorbansı = Numunenin ikinci absorbansı – Numunenin ilk absorbansı

2.5. Total Oksidan Kapasite Analizi

Numunelerdeki total oksidan kapasite düzeyleri ticari kit kullanılarak spektrofotometre ile ölçüldü. Numune de bulunan oksidan maddeler Fe^{2+} -o-dianisidin kompleksini ferri (Fe^{3+}) iyonla oksitler. Fe^{3+} ’ün asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluşturmasına temeline dayanan metotta standart olarak hidrojen peroksit kullanıldı. Sonuç $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$ olarak ifade edildi.

2.5.1. Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Ayraç 1: Test tamponu (50 ml x1)

Ayraç 2: Prokromojen solüsyonu (10 ml x 1)

Standart 1: Kör solüsyonu (deiyonize su)

Standart 2: Stabilize edilmiş standart stok solüsyonu (SSSS) (800 mM $\text{H}_2\text{O}_2 \text{Equiv./L}$, 10 ml x1)

2.5.2. Deneyin Yapılışı

Mikroplak kuyucukları Standart 1, Standart 2 ve Test olmak üzere belirlendi. Standart 1 kuyucuğuna 75 µL Standart 1, Standart 2 kuyucuğuna 75 µL Standart 2 ve Test kuyucuklarına 75 µL numune eklendi. Bütün kuyucuklara 500 µL Reaktif 1 eklendi ve 530 nm’de birinci okuma yapıldı. Bütün kuyucuklara 25 µL Reaktif 2 eklendi ve 37 °C’de 5 dk inkübe edildikten sonra 530 nm’de ikinci okuma yapıldı.

Tablo 2.2. Total Oksidan Kapasite Analizi

	Standart 1	Standart 2	Test
Ayraç 1	500 µl	500 µl	500 µl
Standart	75µl	75 µl	-
Numune	-	-	75 µl
530 nm ilk okuma			
Ayraç 2	25 µl	25 µl	25 µl
37 °C’de 5 dakika inkübasyon			
530 nm ikinci okuma			

2.5.3. Sonuçların Hesaplanması

Sonuç = $[(\Delta\text{Absorbans Örnek}) / (\Delta\text{Abs Std2})] \times 20$ (Std 2 değeri)

$\Delta\text{Abs Örnek} = \text{Örneğin ikinci absorbansı} - \text{Örneğin ilk absorbansı}$

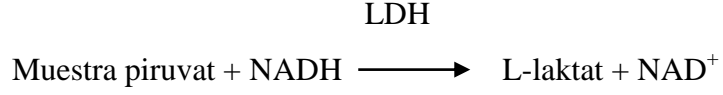
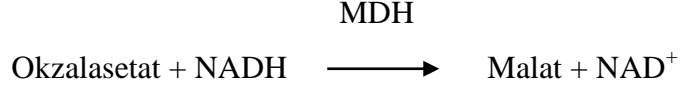
$\Delta\text{Abs Std2} = \text{Standart 2'nin ikinci absorbansı} - \text{Standart 2'nin ilk absorbansı}$

Std 2 değeri = 20 µmol H₂O₂ Equiv./L

2.6. Aspartat Aminotransferaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer dokusu homojenatında AST düzeyi ticari kit (Erba Lachema, Brno, CZ) kullanılarak ölçüldü.

AST'nin kinetik olarak tespit edilmesi:



AST= Aspartat Aminotransferaz

MDH= Malat Dehidrojenaz

LDH= Laktat Dehidrojenaz

2.6.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar

Ayraç 1:

Tris buffer (pH 7.8) 110 mmol/L

L-Aspartik asit 340 mmol/L

LDH \geq 4000 U/L

MDH \geq 750 U/L

Ayraç 2:

CASPO 20 mmol/L

2-oksoglutarat 85 mmol/L

NADH 1.05 mmol/L

Tablo 2.3. Aspartat Aminotransferaz Analizi

Aspartat Aminotransferaz Analizi	
Numune	100 μ l
Ayraç 1	1000 μ l
Karıştır 37 °C'de 5 dakika inkübasyon	
Ayraç 2	250 μ l
Karıştır 37 °C'de 1 dakika inkübasyon	
340 nm'de 1, 2 ve 3. dakikada değişen optik yoğunluk ölçüldü ($\Delta A/\text{min.}$)	

2.6.2. Sonuçların Hesaplanması

340 nm: aktivite = ($\Delta A/\text{min.}$) $\times 1745$

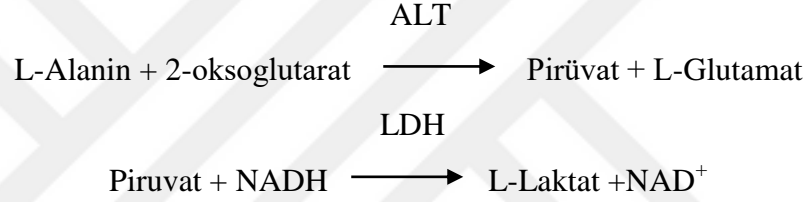
$$\text{AST (U/I)} = \frac{\Delta A_{\text{num/min}}}{\Delta A_{\text{cal/min}}} \times C_{\text{cal}}$$

C_{cal} : Kalibratör konsantrasyonu

2.7. Alanin Aminotransferaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer dokusu homojenatında ALT aktivitesi ticari kit (Erba Lachema, Brno, CZ) kullanılarak ölçüldü.

ALT'nin kinetik olarak tespit edilmesi:



ALT: Alanin aminotransferaz, LDH: Laktat dehidrojenaz

2.7.1. Kullanılan Reaktif ve Standartlar

Ayraç 1:

Tris buffer (pH 7.8) 137.5 mmol/L

L- Alanin 709 mmol/L

LDH ≥ 2000 U/L

Ayraç 2:

CASPO 20 mmol/L

2-oksoglutarat 85 mmol/L

NADH 1.05 mmol/L

Tablo 2.4. Alanin Aminotransferaz Analizi

Alanin Aminotransferaz Analizi	
Numune	100 µl
Ayraç 1	1000 µl
Karıştır 37 °C’de 5 dakika inkübasyon	
Ayraç 2	250 µl
Karıştır 37 °C’de 1 dakika inkübasyon	
340 nm’de 1, 2 ve 3. dakikada değişen optik yoğunluk ölçüldü (ΔA/min.)	

2.7.2. Sonuçların Hesaplanması

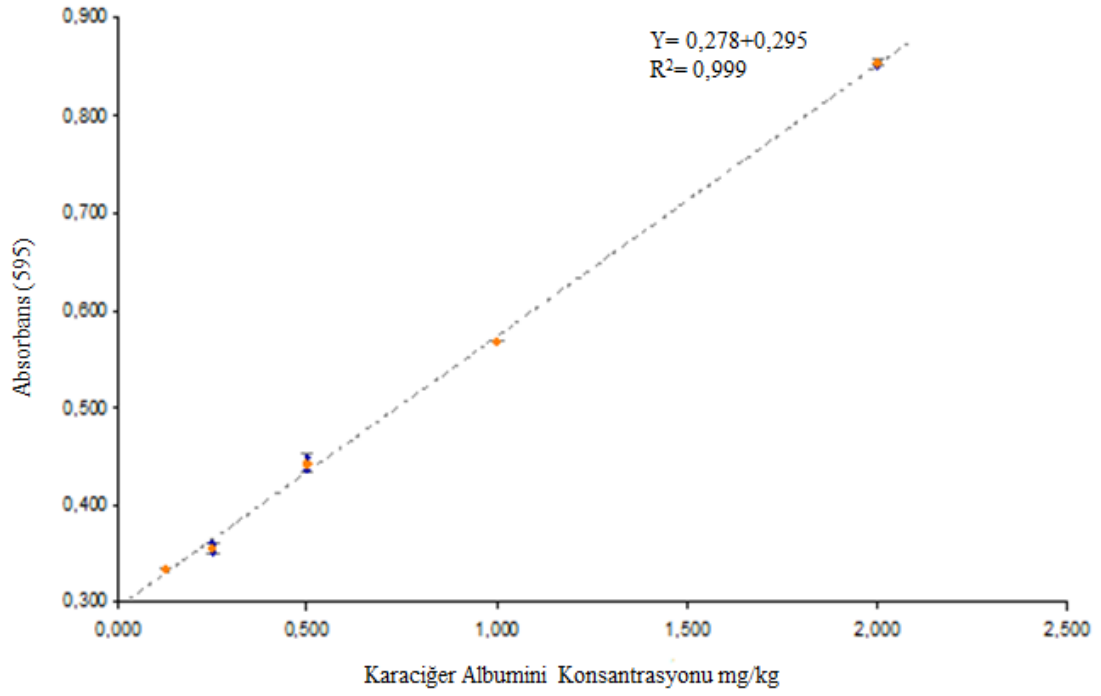
340 nm: aktivite = (ΔA/min.)×1745

$$ALT (U/I) = \frac{\Delta A_{num}/min}{\Delta A_{cal}/min} \times C_{cal}$$

C_{cal}: Kalibratör konsantrasyonu

2.8. Total Protein Düzeyinin Bradford Yöntemi ile Belirlenmesi

Protein miktar tayini Bradford [A] yöntemine göre belirlendi. BSA'nın 0,2 mg/mL stok çözeltisinden 2-12 µg/mL konsantrasyon aralığında standartlar hazırlandı. Protein içeriği tayin edilecek standart ve numuneler, Tablo 2.5' de gösterilen hacimlerde saf su ve Bradford reaktifi ile hazırlandı. Oda sıcaklığında 10 dakika beklendikten sonra, 595 nm'de absorbans değerleri ölçülerek çizilen BSA kalibrasyon grafiğine göre doku numunelerinin protein konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 2. 1. Total Protein Düzeyinin Standart Grafiği

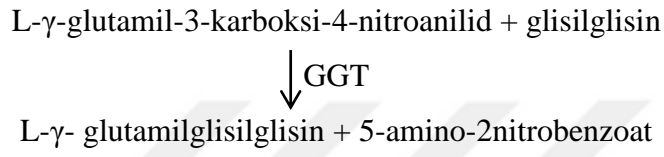
Tablo 2.5. BSA Standartları ve Protein Örneklerinin Hazırlanması

	0.2 mg/mL BSA Stok Çözeltisi	Su i, µL	Bradford Reaktif, µL
Kör	0	800	200
BSA Standart-2 µg/mL	10	795	200
BSA Standart-4 µg/mL	20	790	200
BSA Standart-6 µg/mL	30	780	200
BSA Standart-8 µg/mL	40	770	200
BSA Standart-10 µg/mL	50	760	200
BSA Standart-12 µg/mL	60	740	200
Protein Örneği	50	750	200

2.9. Gamma Glutamil Transferaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Karaciğer dokusu GGT düzeyi ticari kit (Erba Lachema, Brno, CZ) kullanılarak ölçüldü. Numunede bulunan GGT, glutamil grubunun, substrat γ -glutamil-3-karboksi-4-nitroanilitten glisilglisin oluşturan glutamil glisilglisin ve 5-amino-2-nitrobenzoata transferini katalize eder.

GGT'nin kinetik olarak tespit edilmesi:



5-amino-2-nitrobenzoat oluşum hızı, numunede bulunan GGT aktivitesi ile orantılıdır ve kinetik olarak (405) nm'de ölçüldü.

2.9.1. Kullanılan Ayraç ve Standartlar

Ayraç 1:

Tris tamponu (pH 8.25) 125 mmol / L

Glisil Glisin 125 mmol / L

Ayraç 2:

R2

L- γ -Glutamil-3-karboksi-4-nitroanilid 20 mmol / L

Tablo 2.6. Gamma Glutamil Transferaz Analizi

Numune	
Numune	100 µl
Ayraç 1	1000 µl
Karıştır 37 °C’de 5 dakika inkübasyon	
Ayraç 2	250 µl
Karıştır 37 °C’de 1 dakika inkübasyon	
405 nm’de 1, 2 ve 3. dakikada değişen optik yoğunluk ölçüldü (ΔA/min.)	

2.9.2. Sonuçların Hesaplanması

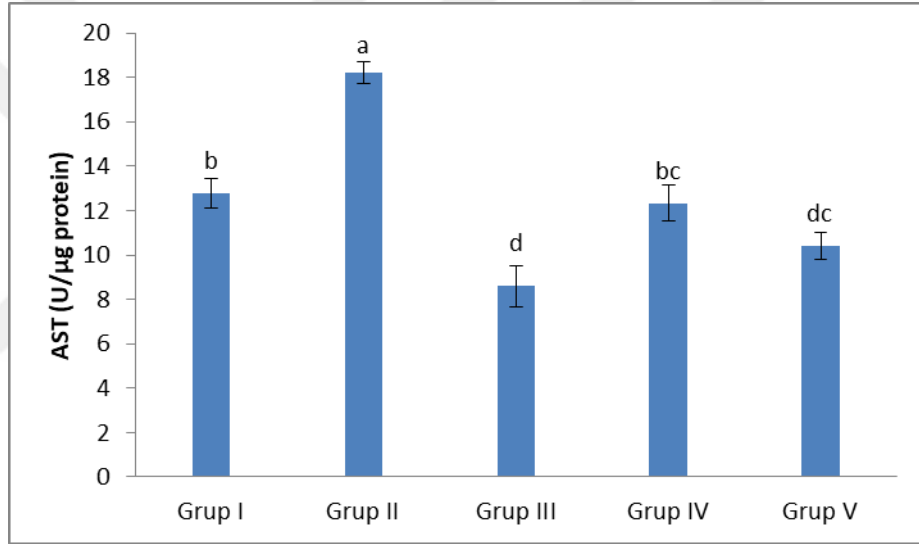
$$GGT (U/I) = \frac{\Delta A_{num}/min}{\Delta A_{cal}/min} \times C_{cal}$$

C_{cal} : Kalibratör konsantrasyonu

3. BULGULAR

3.1. Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri

Sisplatin toksitesi üzerine koenzim Q₁₀'un etkisinin araştırıldığı çalışmada; Şekil 3.1'deki gruplar incelendiğinde karaciğer dokuları AST düzeyleri Grup II'de istatistiksel olarak yüksek Grup III'de ise düşük olduğu belirlenmiştir (P<0,001). Benzer şekilde sisplatin ile birlikte koenzim Q₁₀ verilen Grup IV ve V'de istatistiksel olarak anlamlı azalışın olduğu gözlenmiştir (P<0,001). Sisplatin ile birlikte koenzim Q₁₀ verilmesinin AST düzeylerini azalttığı saptanmıştır (P<0,05).



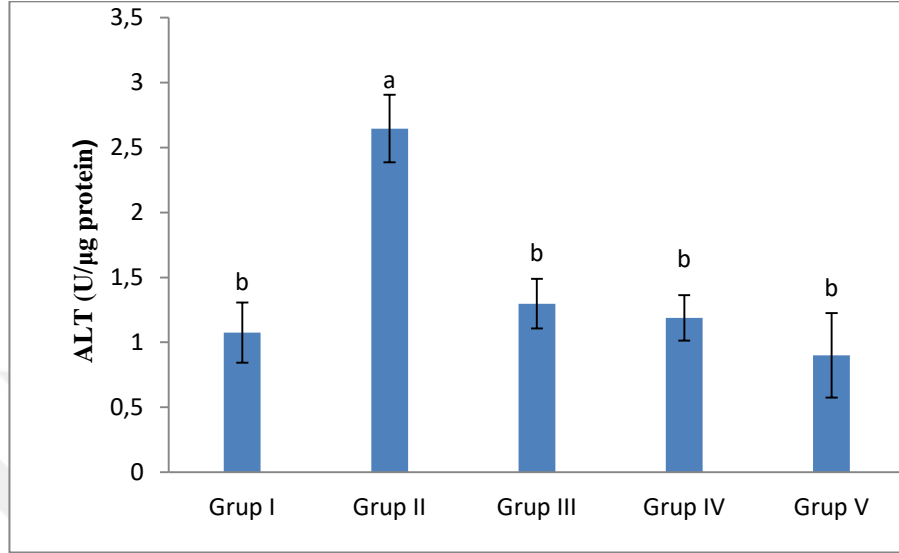
Şekil 3.1. Karaciğer dokuları Aspartat Aminotransferaz Düzeyleri

a-b-c-d: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (P<0.001).

3.2. Alanin Aminotransferaz Düzeyleri

Sisplatin verilen ratların karaciğer dokularında koenzim Q₁₀'nun ALT aktivitesi üzerine etkisi Şekil 3. 2'de gösterilmiştir. Karaciğer dokularında gruplar arası ALT aktiviteleri incelendiğinde, tüm dokularda istatistiksel olarak en yüksek ALT aktivitesi Grup II' de saptanmıştır (P<0,001). Tüm gruplardaki ALT aktivitesi Grup II ile kıyaslandığında

istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Grup I ALT aktivitesi ile Grup III, Grup IV, Grup V ALT aktivitesi arasında istatistiksel olarak bir fark elde edilememiştir.



Şekil 3.2. Karaciğer dokuları Alanin Aminotransferaz Düzeyleri

a-b: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($P<0.001$).

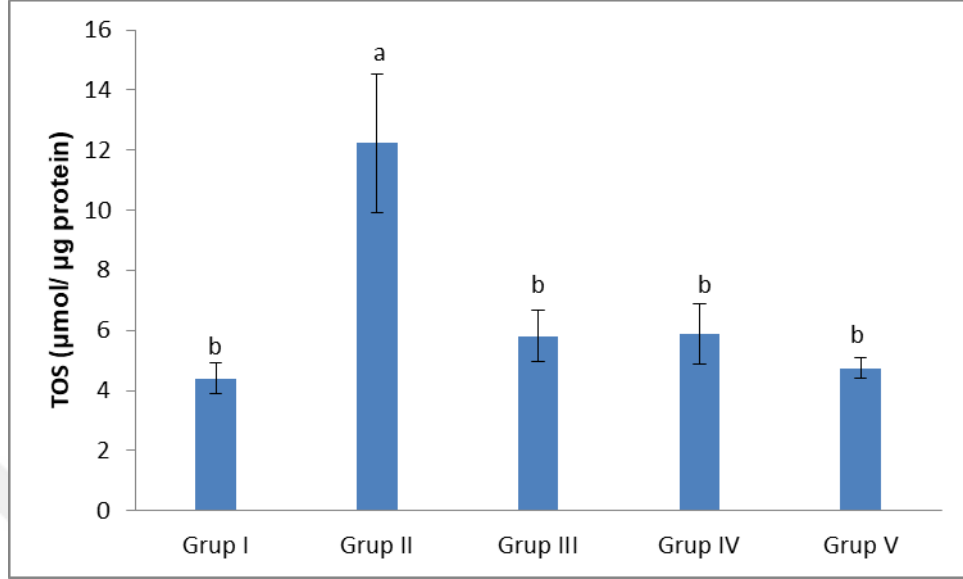
3.3. Gama Glutamil Transferaz

Karaciğer dokusunda ölçülen gama glutamil transferaz aktivitesi Tablo 3.1’ de gösterilmiştir. Karaciğer GGT aktiviteleri incelendiğinde gruplar arası istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir ($P=0,242$). Benzer şekilde tüm gruplar bir biri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

3.4. Karaciğer Dokuları Total Oksidan Kapasite ve Antioksidan Kapasite Düzeyleri

Rat karaciğer dokularında ölçülen total oksidan kapasite ve antioksidan kapasite düzeyleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Karaciğer dokularında ölçülen total oksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, kontrol ve diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak en yüksek TOK düzeyi Grup II’ de gözlenmiştir ($P<0,05$). Tüm gruplardaki TOK düzeyi Grup II ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük

saptanmıştır ($P<0,05$). Koenzim Q_{10} uygulanan gruplar Grup II ile kıyaslandığında kontrol grubunun TOK düzeyine benzer olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Karaciğer Dokuları Total Oksidan Kapasite Düzeyleri

a-b: Farklı harf taşıyan sütunlardaki gruplar arası fark önemlidir ($P<0.05$).

Karaciğer total antioksidan kapasite düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla Grup II de istatistiksel olarak artışın olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Tüm gruplar karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($P=0,153$) (Tablo 3.1).

3.5. Total Protein Düzeyleri

Karaciğer dokularının total protein düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($P=0,768$) (Tablo 3.1). Tüm gruplar arasındaki total protein düzeyleri incelendiğinde istatistiksel olarak en yüksek Grup II' de belirlenmiştir ($P<0,05$) Kontrol ve koenzim Q_{10} uygulanan gruplarda istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir.

Tablo 3.1. Karaciğer Dokusu AST, ALT, GGT Aktivitesi Total Protein ve TAS, TOS Düzeyleri.

Parametreler	Kontrol (Grup1)	Sisplatin (Grup2)	KoQ-10 (Grup3)	Sisplatin+KoQ-10 (DÖ) (Grup4)	Sisplatin+ KoQ-10 (DÖS) (Grup5)	P
Aspartat aminotransferaz (U/ µg protein)	12,790±0,652 ^b	18,201±0,485 ^a	8,587±0,929 ^d	12,320±0,809 ^{bc}	10,410±0,583 ^{dc}	0,001
Alanin aminotransferaz (U/ µg protein)	1,074±0,230 ^b	2,645±0,259 ^a	1,297±0,190 ^b	1,187±0,174 ^b	0,899±0,324 ^b	0,001
Gama glutamil transferaz (U/ µg protein)	1,678±0,403	3,189±0,817	1,940±0,329	2,725±0,565	1,619±0,616	NS (P=0,242)
Total Antioksidan Kapasite (mmol/µg protein)	0,256±0,027	0,162±0,017	0,276±0,047	0,232±0,030	0,226±0,068	NS (P=0,153)
Total Oksidan Kapasite (µmol/ µg protein)	4,398±0,520 ^b	12,229±2,301 ^a	5,819±0,849 ^b	5,885±0,994 ^b	4,750±0,354 ^b	0,001
Total Protein(µg/mL)	6,278±0,056	6,286±0,081	6,353±0,057	6,246±0,057	6,265±0,042	NS (P=0,768)

*: Gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir.

NS: Gruplar arasında istatistiksel olarak fark yoktur. (Ns: Non-significant), a-b-c-d: Farklı harf taşıyan sütunlardaki gruplar arası fark önemlidir (* P<0.001).

İstatistiksel analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS Windows 20.0 paket programı kullanılarak yapıldı (SPSS Inc.). Gruplar arasındaki ortalama değerler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi. Gruplar arasındaki farkları belirlemek için Kruskal-Wallis H analizi yapıldı. Gruplar arasındaki anlamlı farklılıkların kaynağı Mann-Whitney U-testi olarak belirlendi. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Sonuçlar, ortalama (\pm) ve standart hata ($x \pm Sx$) olarak ifade edildi.



4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Kanser genel olarak, bir organ ya da dokudaki anormal ve kontrol edilemeyen hücre bölünmesi sonucu ortaya çıkan kötü huylu büyüme veya tümörler olarak tanımlanmaktadır. Canlılarda hücrelerinin kontrolsüz olarak çoğalması ve büyümesi çevresel, kalıtsal ya da her iki faktörün etkisi ile DNA'da meydana gelen hasar sonucu ortaya çıkabilmektedir [1]. Kanser tedavisinde, radyoterapi, kemoterapi, kök hücre, cerrahi yöntemler, hormon terapisi, immünoterapi ve biyolojik yöntemlerin kullanılması gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Kullanılan yöntemlerin kendine özgü avantaj ve dezavantajlarının bulunması, kanserin sürecinin kişiye özgü olması ve tedavi yöntemlerinin de kişiden kişiye farklılık gösterebilmesi nedeniyle tek bir tedavi yönteminin yeterli olamayacağı bildirilmiştir[12]. Ayrıca kemoterapide kullanılan ilaçların çeşitli yan etkilerinden dolayı, tedavi sırasında olası toksikasyon durumlarının azaltılması amacıyla çeşitli koruyucu maddelerin kullanılması gerekmektedir. Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada ratlarda oluşturulan sisplatin toksisitesinde koenzim Q₁₀'un karaciğer dokusu aspartat aminotransferaz, (AST) alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi ve total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidan kapasite (TOK) düzeylerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Sisplatin kaynaklı nefrotoksisite hakkında yeterince araştırma olmasına karşın, hepatotoksisite hakkında çok fazla bilgiye sahip değiliz. Sisplatinin kullanımında meydana gelen nefrotoksisite, tedavide ortaya çıkan ve çok sık karşılaşılan yan etkisidir [103]. Sisplatin hepatotoksisitesi daha az görülmesine rağmen, yüksek dozda sisplatine maruz kalındığında hepatotoksisite ortaya çıkabilmektedir [103]. Karaciğer toksisitesinin sebebi, karaciğerin birçok ilaç ve kimyasal madde metabolizmasının ana yeri olmasından dolayıdır. Sisplatin böbreklerden sonra en çok karaciğerde birikir ve bu da yüksek doz kullanımıyla beraber hepatotoksisiteye neden olur. Dolayısıyla da hepatic nekroz gelişebilmekte ve karaciğerde apoptotik lezyonlar görülebilmektedir. Sisplatin hepatotoksisitesine ilişkin literatür bilgisi sınırlı olup, mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Sisplatin kaynaklı hepatotoksisiteye sebep olarak cisplatinin hücrelerde oluşturduğu oksidatif stres olduğu düşünülmektedir [103].

Fouad ve arkadaşları (2010) farelerde sisplatin ile yapılan böbrek toksikasyonunda, sisplatinin böbrek dokusunda MDA ve NO gibi oksidan moleküllerin düzeyini artırdığı,

GSH, CAT ve SOD gibi antioksidan moleküllerinin düzeyini azaltıldığını rapor etmişlerdir. Sisplatin ile birlikte koenzim Q₁₀ verildiğinde ise bu değerlerin kontrol grubundaki değerler ile benzerlik gösterdiğini, sisplatin toksisitesinde korucu bir madde olarak kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir [104]. Yaptığımız çalışmada sisplatin ile oluşturulan karaciğer toksikasyonunda TAK düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken, TOK düzeylerinde istatistiksel olarak artışlar bulunmamaktadır. Elde ettiğimiz bulguların yukardaki çalışmadan elde edilen oksidatif stresi artırdığına dair sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Bulgularımız'da TAK düzeyinde istatistiksel olarak bir fark bulunması ölçülen parametrenin total antioksidanların tamamını ölçmesi ve diğer antioksidan moleküllerdeki tam olarak yansıtılmamasından kaynaklanması ile ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Sisplatin ile oluşturulan hepatoksisitede molsidaminin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (2013), Sisplatin verilen grupta serum ALT düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artış gösterirken, sisplatin ve molsidamin verilen grupta kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Serum AST düzeylerinde bir değişiklik saptanmadığı kaydedilmiştir [105]. Yaptığımız çalışmada karaciğer dokusu ALT aktivitesi sadece sisplatin verilen grupta yüksek olarak saptanmıştır. Çalışmada elde ettiğimiz AST düzeyi grup II' de yüksek, sisplatin ile koenzim Q₁₀ verilen grupta düşük bulunmuştur. Çalışmamızda karaciğer dokusu TOS düzeyi en yüksek Grup II'de saptanmıştır. Elde ettiğimiz TOS düzeyi yukardaki çalışmanın MDA sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Yukarıdaki çalışmadan farklı olarak elde ettiğimiz sonuçlarda gruplar arasında fark bulunmuştur.

Yine aynı çalışmada [105], sisplatin verilen grupta MDA düzeyleri kontrol grubuna göre arttığı, sisplatin ile birlikte molsidamin verilen grupta ise kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. SOD, CAT ve GPx seviyeleri sisplatin verilen grupta düşük bulunmuştur, sisplatin ile molsidamin verilen grupta CAT ile GPx seviyeleri kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmişlerdir. Bunların aksine SOD düzeyinde sisplatin ile molsidamin verilen grupta değişiklik göstermediği kaydedilmiştir. MPO (miyeloperoksidaz) seviyesi sisplatin grubunda yüksek, sisplatin ile molsidamin grubunda ise kontrol grubuna yakın sonuçlar saptanmıştır. GSH düzeyinde ise gruplar arasında bir fark bulunmamıştır [105].

Yousef ve arkadaşları (2009) yılında sıçanlarda sisplatin ile indüklenen oksidatif strese üzüm çekirdeği proantosiyanidin ekstresinin etkisini araştırmışlardır. Sisplatin ile tedavi edilen sıçanlarda plazma, kalp, böbrek ve karaciğer dokuları ölçülmüştür. Sisplatin verilen grupta karaciğer dokusunda tiyobarbitürik asit (TBARS) reaktif maddesinde önemli ölçüde artmış, proantosiyanidin ekstresinin (GSPE) ile sisplatin verilen grupta kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Antioksidan enzimler olan GST, SOD, CAT ile GSH-Px aktiviteleri ve glutatyon (GSH) seviyelerini azaltırken, GSPE ile sisplatin verilen grupta kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir. Karaciğer AST ve ALT seviyeleri kontrol grubuna göre sisplatin verilen grupta azalmıştır. GSPE ile sisplatin verilen grupta kontrol grubuna yakın sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada GSPE' nin sisplatin toksisitesinin antogonize ederek koruyucu bir etki gösterebileceğini rapor etmişlerdir [106].

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, zingeronun cisplatin ve γ -radyasyon (IR) ile indüklenen hepatoksisiteye karşı koruyucu etkisi araştırılmıştır [107]. Zingeron (ZO), farklı farmakolojik özelliklere sahip bir zencefil bileşenidir. Zingerone ve sisplatin 14 gün boyunca sıçanlara oral yolla verilmiş, sonra 15 günde IR' ye maruz kalmış ve 23' nci günde deney tamamlanmıştır. Sisplatin, IR verilen gruplarda nitrik oksit sentaz (iNOS), NADPH oksidaz, toll benzeri resöptör 4 (TLR4), prostaglandin-endoperoksit sentaz 2 (COX2) ve miyeloperoksidaz (MPO) seviyelerinde artış gözlenmiştir. Karaciğer enzimleri AST, ALT ve ALP aktiviteleride artışlar saptanmıştır. Zingerone ile birlikte sisplatin ve IR verilen gruplarda kontrol grubuna yakın sonuçlar saptanmıştır [107]. Yaptığımız çalışmada karaciğer dokusu ALT aktivitesi sisplatin verilen grupta yüksek bulunmuş ve elde ettiğimiz ALT sonucu yukardaki çalışmaya benzerlik göstermektedir.

Ratlarda sisplatinin neden olduğu oksidatif strese karşı kastinginin karaciğer antioksidatif stres üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (2019), ratlar dört gruba ayrılarak; Grup-I'e normal tuzlu su, Grup II'e intraperitoneal olarak sisplatin 10 mg/kg), Grup III' e ilk gün sisplatin (10 mg/kg) enjekte ve kastingin (50 mg/kg) oral yolla verilmiştir. Grup-IV deney boyunca kastingin (50 mg/kg) oral olarak uygulanmıştır. Sisplatin verilen grupta, kontrol grubuna göre ALT, AST ve ALP (Alkale Fosfataz) düzeylerinde anlamlı artış gözlemlendiği kaydedilmiştir. Sisplatin ile birlikte kastingin verilen grupta

sadece sisplatin verilen gruba göre serum enzim aktivitelerindeki artışın azaldığı bulunmuştur. Sisplatin verilen grupta antioksidan enzimler CAT, SOD, POD, GSH ve GSR aktivitelerinin düştüğü, sisplatin ile kastingin verilen grupta bu antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli artışların olduğu saptanmıştır. Ayrıca karaciğer dokusunda H₂O₂ düzeyi sisplatin uygulanan grupta yüksek bulunmuştur. Sisplatin ile kastingin uygulanan grupta kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmiştir [108].

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz AST aktivite düzeyi Grup-II' de yüksek sisplatin ile koenzim Q10 verilen grupta kontrol grubuna yakın sonuçlar alınmıştır. AST düzeyi Grup II' de yüksek, sisplatin ile koenzim Q₁₀ verilen grupta da düşük bulunmuştur. Karaciğer dokusu AST ve ALT düzeyleri yukardaki çalışmayla benzerlik göstermektedir. Karaciğer TOK düzeyi en yüksek Grup II' de gözlenmiştir. Sisplatin ile koenzim Q10 verilen grupta kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmiştir. Karaciğer dokusundaki artan oksidan moleküllerin ve ölçülen enzimlerin aktivitelerinde değişimlerin gözlenmesi, sisplatinin karaciğer dokusunda H₂O₂ düzeyinde artışa neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, ratlara sisplatin uygulamasında koenzim Q₁₀'un karaciğer dokusunda total oksidan kapasite düzeyini, artan AST ve ALT enzimlerin aktivitelerini düzenleyerek önemli bir koruyucu etkisinin olduğu, ayrıca deneme öncesi veya deneme sonrası koenzim Q₁₀ uygulamasının benzer etkiler gösterebileceği kanısına varıldı.

5. KAYNAKLAR

- [1]. Weinberg, R. A., (2007). The biology of cancer. Second Edition, New York, ABD, Garland Science.
- [2]. Neoplazi (Bölüm 6), Robbins Temel Patoloji 8. Basım, 215.
- [3]. Atıcı, E. (2007).Tıp tarihinde kanser ve lösemi. Türk Onkoloji Dergisi, 22,(4).197-204.
- [4]. Sigerist, H. E. (1960). The historical development of the pathology and therapy of cancer. In: Marti-Ibanez F, editor. On the history of medicine. New York MD Publications Inc, 59-65.
- [5]. Ringer, D. P., Schnipper. L. E., Lenhard, R. E. and Osteen, R.T. (2001). Principles of Cancer Biology. İn, Gansler Teds. Clinical Oncology Atlanta. American Cancer Society, 21-35.
- [6]. İçli, F., Akbulut, H., İn, İlicin, G., Biberoglu, K., Süleymanlar, G. (2005). Onkolojiye Giriş, eds. İç Hastalıkları. Güneş Kitapevi, 2007- 2014.
- [7]. Dinçol, K., Topuz, E., ve Aydın, A. (2000). Kemoterapide Temel Prensipler. Karadeniz AN, eds. Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları, 34-47.
- [8]. Clavel, J. (2007). Progress in the epidemiological understanding of gene-environment interactions in majör diseases, cancer. C R Biol, 330 (4), 306-17.
- [9]. BESLER, H. T. (2015) Kanser ve Beslenme İlişkisi, TUBA-Gıda, beslenme ve kanserin önlenmesi sempozyumu Raporu,34-35.
- [10]. BESLER, H. T. (2015). Karsinogenez ve İmmnitenin (Aminoasitler, Yağ Asitleri vs.) Beslenmeye Etkisi. TUBA-Gıda, beslenme ve kanserin önlenmesi sempozyumu Raporu, 26-28.
- [11]. Wu, H C., Chang, D K., Huang, C T. (2006). Targeted therapy for cancer. Journal of Cancer Molecules, 2 (2), 57-66
- [12]. Dipiro, J., Tolberto, R., Yee, G., Matzke, G., Wells, B. and Posey L. (2005). Pharmaco therapy A Pathophysiologic Approach. Sixthed, Mc Grow-Hill Medical Publishing Division, Newyork. Chapter, 124, 2279-2280.
- [13]. <http://www.kanservakfi.com/cerrahi-ameliyat-nedir--125.html>, (20.05.2020).

- [14]. Weissman, I. L.(2000). Stemcells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *cell*, 100 (1), 157-168.
- [15]. Ilic, D. And Polak, J.M. (2011). Stemcells in regenerative medicine introduction. *British medical bulletin*, 98(1),117-126.
- [16]. Hiyama, E. And Hiyama, K. (2007). Telomere and telomerase in stem cells. *British journal of cancer*, 96 (7), 1020.
- [17]. Bongso, A. And Richards, M, (2004). History and perspective of stem cell research. *Best practice research Clinical obstetrics gynaecology*, 18 (6), 827-842.
- [18]. Mannello, F. And Tonti, G.A. (2007). Concise review: nobreak throughs for human mesenchymal and embryonic stem cell culture: conditioned medium, feederlayer, orfeeder-free; medium with fetal calf serum, human serum, orenriched plasma. serum-free, serum replacementnon conditioned medium, or ad hoc formula, Allthatglitters is not gold. *Stemcells*, 25 (7), 1603-1609.
- [19]. Can, A. (2013). *Akademisyen Kitapevi*, Ankara, 720.
- [20]. <https://www.biyologlar.com/kok-hucrelere-bakistanimler-kavramlar-ve-siniflandirmalar>, (10.09.2020).
- [21]. Gülhan Yamankoç, D., Aren, G. (2010). İnsan dişlerinin doku mühendisliğindeki önemi, theimportance of human teethın tissueengineering.
- [22]. Mimeault, M., Hauke, R., Mehta, P. P., Batra, S. K. (2007). Recent advances in cancers temprogenitor cell research: the rapeuticimplications forover coming resistance tothemos taggressive cancers. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 11(5), 981–1011.
- [23]. <https://www.oncolink.org/cancer-treatment/hormone-therapy/hormone-therapy-the-basics>, (22.05.2020).
- [24]. Baykara, O. (2016). *Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar*. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 5 (3), 159-160.
- [25]. Rosenberg, S. A., Yang, J. C. N.P. (2004). Restifo, Cancer immunotherapy. moving beyond curren tvaccines, *Nat. Med.* 10, 909–915.
- [26]. Bökesoy, A., Çakıcı, İ.ve Melli, M., (2000). *Farmakoloji Ders Kitabı*. Türk Farmakoloji Derneği, Ankara.

- [27]. Mian, M., Tinelli, M., DE, March .E., Turri, G., Meneghini, V., Pescosta, N., Berno, T. Ve Bortezomib. (2016). Thalidomideand Lenalidomide Have They Really Changed the Outcome of Multiple Myeloma. *AnticancerRes*, 36 (3), 1059-65.
- [28]. Rowland, J. H. (2008). What Are Cancer Survivors Telling Us. *The Cancer Journal*, 14 (6),361-368.
- [29]. Jeannie, V.P., Fran, B., Isaac, N. and Ruth, M.C. (2000). Participant Charecteristics Beforeand 4 Months Attendance at a Family Caregiver Cancer Education Program. *Cancer Nursing*, 23 (4), 295-303.
- [30]. Caley, A. and Jones, R. (2012). Theprinciples of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 30 (4), 186-190.
- [31]. Bhosle, J., Hall, G. (2009). Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surgery*, 4 (27), 173-177.
- [32]. Yalman, D., Aydemir, G. and Sanal, S. (2001). Kemoterapi Sertifika Programı Modül 1 ve Modül 2. T.C Kanserle Savaş Daire Başkanlığı, yayın no:620, Ankara, 1-49.
- [33]. Dasari, S. And Tchounwou, P.B., (2014). Cisplatin in cancertherapy: molecular mechanism of action. *Eur. J. Pharmacol*, 5, 364-378.
- [34]. Kelland, L. (2007).The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, 7, 573–584.
- [35]. Desoize, B., Madoulet, C., (2002). Particular aspectsof platinum compound susedat presentin cancer treatment. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*, 42, 317–325.
- [36]. Frezza, M., Hindo, S., Chen, D., Davenport, A., Schmitt, S., Tomco, D., Dou, Q. P. (2010). Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr. Pharm*, 16, 1813–1825.
- [37]. Olinski, R., Wedrychowski, A., Schmidt, W.N., Briggs, R.C. and Hnilica, L.S. (1987). In-vivo DNA-protein cross-linking by cis- and trans di ammine di chloroplatinum (II). *Cancer Res*, 47(1), 201-205.
- [38]. Yang, Y., Liu, H., Liu, F. And Dong, Z. (2014). Mitochondrial dysregulation and protection incis platin nephrotoxicity. *Archives of Toxicology*, 88, 1249–1256.
- [39]. Yao, X., Panichipal, K., Kurtzman, N. and Nugent, K. (2007). Cisplatin Nephrotoxicity: A Review. *The Journal of American Journal of the Medical Sceinces*, 334, 115-124.

- [40]. Sueishi, K., Mishima, K., Makino, K., Itoh, Y., Tsuruya, K., Hirakata, H. and Oishi, R. (2002). Protection by a radical scavenger edaravone against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *European Journal of Pharmacology*, 451, 203-208.
- [41]. Sadzuka, Y., Shoji, T. and Takino, Y. (1991). Change of lipid peroxide levels in rat tissues after cisplatin administration. *Toxicology Letters*, 57, 159-166.
- [42]. Antunes, L. M., Darin, J. D. and Bianchi N de, L. (2001). Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacological Research*, 43, 145-150.
- [43]. Florea, A. M. and Busselberg, D. (2009). Anti-cancer drugs interfere with intracellular calcium signaling. *Neurotoxicology*, 30, 803-810.
- [44]. https://www.researchgate.net/figure/Main-adducts-formed-in-the-interaction-of-cisplatin-with-DNA-a-interstrand_fig1_12072373, (15.09.2020).
- [45]. de Jongh, F. E., van Veen, R. N., Veltman, S. J., de Wit, R., van der Burg, M. E., van den Bent, M. J. And Verweij, J. (2003). Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option, analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. *Br J Cancer*, 88 (8), 1199-1206.
- [46]. Aggarwal, S. K. (1998). Calcium modulation of toxicities due to Cisplatin. *Met Based Drugs*, 5 (2), 77-81.
- [47]. Cersosimo, R. J. (1993). Hepatotoxicity associated with cisplatin chemotherapy. *Ann Pharmacother*, 27, 438-41.
- [48]. Yilmaz, H. R, Sogut, S. and Ozyurt, B. (2005). The activities of liver adenosine deaminase, xanthine oxidase, catalase, superoxide dismutase enzymes and the levels of malondialdehyde and nitric oxide after cisplatin toxicity in rats protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Toxicol Ind Health*, 21, 67-73.
- [49]. Lu, Y. and Cederbaum, A.I. (2006) Cisplatin-induced hepatotoxicity is enhanced by elevated expression of cytochrome P4502E1. *Toxicol Sci*, 89, 515-23.
- [50]. Naziroglu, M., Karaoglu, A., Aksoy, A. O. (2004). Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*, 195, 221-30.
- [51]. Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yay, Konya.

- [52]. Hyeok, Y. K., Choi, S., Won, M.H., Kang, T.C., Kang, J.H. (2000). Oxidative modification and inactivation of Cu,Zn-superoxide dismutase by 2,2'-azobis (2-aminopropane) dihydrochloride. *Biochim Biophys Acta*, 1543, 69-76.
- [53]. Nikjoo, H., Oneill, P. and Terrissol M. (1994). Modeling of Radiation-Induced DNA-Damage the Early Physical and Chemical Event. *International Journal of Radiation Biology*, 66, 453-457.
- [54]. Dröge, W. (2002). Free radical in the physiological control of cell function. *Physiol, Rew*, 82, 47-95.
- [55]. Karbownik, M., Lewinski, A., Reither, R. J. (2001). Anticarcinogenic actions of melatonin which involve antioxidative processes. comparison with other antioxidants. *J Bioch Cell Biol*, 33, 735-753.
- [56]. Stehbens, W.E. (2003). Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Exp Mol Pathol.*, 75, 265-276.
- [57]. Wang, Y., Walsh, SW. (1998). Placental mitochondria as a source of oxidative stress in preeclampsia. *Placenta*, 19, 581- 586.
- [58]. Kılınç, K. and Kılınç, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Derg*, 33 (2), 110-118..
- [59]. Young, P.R. Radicals. (2000). www.chem.uic.edu/web1/PDF/CH10.PDF.
- [60]. Ozata, M., Mergen, M., Oktenli, C., Aydin, A., Sanisoglu, S.Y., Bolu, E., Yilmaz, M.I., Sayal, A., Isimer, A., Ozadimir, I.C. (2002). Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem*, 35, 627-631.
- [61]. Yerer, M.B., Aydoğan, S. (2000). Oksidatif stres ve antioksidanlar. *Erciyes Üniv Sağ Bil Derg*, 9 (1), 49-53.
- [62]. Serafini, M. and DelRio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool. *Redox Report*, 9 (3), 145- 152.
- [63]. Yan, L.J. and Sohal RS. (1998). Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 95, 896-901.
- [64]. Berlett, B.S. and Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J Biol Chem*, 272, 203, 13-20316.
- [65]. Şahin, D.Y., Elbasan, Z., Gür, M. et al (2012). Relationship between oxidative stress markers and cardiac syndrome X. *J Clin Exp Invest*, 3, 174-180.

- [66]. Chapman, P.F., Atkins, C.M., Allen, M.T., Haley, J.E., Steinmetz, J.E.(1992). Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different forms of learning. *Neuroreport: An International Journal for the Rapid Communication of Research in Neuroscience*, 567-570.
- [67]. Koca, C., Altan, N., Dincel, A.S., Kosova, F. (2008). Tip 1 ve Tip 2 Diyabetik Hasta Serumlarında Oksidatif Stres ve Leptin Düzeylerinin incelenmesi, 100.
- [68]. Sen, S., Chakraborty, R. (2011). *The Role of Antioxidants in Human Health*. American Chemical Society, Oxidative Stress Diagnostics, Prevention and Therapy. Chapter, 1, 1-37.
- [69]. Ratnam, V.D, Ankola, D.D., Bhardwaj, D.K., Sahana M.N.V., Ravi, K., (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy, A pharmaceutical perspective. *Journal of Control Release* 113, 189-207.
- [70]. Pham, Huy L.A., He, H, Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*, 4 (2), 89-96.
- [71]. Li, Y., Schellhorn, H.E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *J Nutr*, 137, (10), 2171-2184.
- [72]. Carr, A.C. and Frei, B. (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, 69 (6), 1086- 1107.
- [73]. Murcia, M.A., Jimenez, A.M., Martinez, Tome. M. (2009). Vegetables Antioxidant Losses During Industrial Processing and Refrigerated Storage. *Food Research International*, 42, 1046-1052.
- [74]. Di Mascio, P., Murphy, M.E. and Sies, H. (1991). Antioxidan defense system, the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 53, 194-200.
- [75]. Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, YSR, De B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (1), 91-100.
- [76]. *Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidants in Health and Disease. J Clin Pathol*, 54 (3), 176-186.

- [77]. Ursini, F., Maiorino, M., Roveri, A. (1997). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx): more than an antioxidant enzyme? *Biomed Environ Sci.* 10, 327-32.
- [78]. Townsend, D.M., Tew, K.D. and Tapiero, H. (2003). The importance of glutathione in human disease. *Biomed Pharmacother*, 57 (3-4), 145- 155.
- [79]. Aydemir, B., Karadağ Sarı, E. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet. Journal*, 2 (2), 56-60.
- [80]. Parkhideh, D. (2008). Methods and compositions that enhance bioavailability of coenzyme-Q10. *United States Patent*, 7, 438,903,
- [81]. Kumar, A., Kaur, H P., Devi. and Mohan, V. (2009). Role of coenzyme Q10 (CoQ10) in cardiac disease, hypertension and Meniere-like syndrome. *Pharmacol. Therapeut*, 124, 259-9.
- [82]. Bhagavan, H. and Chopra, R. (2007). Plasma coenzyme Q10 response to oral ingestion of coenzyme Q10 formulations. *Mitochondrion*, 7, 78-10.
- [83]. Molyneux, S.L., Young, J.M. and Florkowski, C.M. (2008). Coenzyme Q10, is there a clinical role and a case for measurement. *Clin Biochem Rev*, 29,71-82.
- [84]. Mellors, A. And Tappel. A.L. (1966). The inhibition of mitochondrial peroxidation by ubiquinone and ubiquinol. *J. Biol. Chem.* 241, 4353–4356.
- [85]. Crane, F.L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, (6), 591-8.
- [86]. Singh, D., Jain, V., Saraf, S., Saraf, S. (2002). Coenzyme Q10, a review. *Ancient science of life*, 22, 2, 49.
- [87]. Overvad, K., Diamant, B., Holm, L., Hülmer, G., Mortensen, S.A. and Stender, S. (1999). “Review Coenzyme Q10 in health and disease”, *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, 764-70.
- [88]. Bhagavan, H.N., Chopra, R.K. and N.E. and Craft, C. (2007). Chitchumroonchokchai, M.L. Failla, “Assessment of coenzyme Q10 absorption using an in vitro digestion-Caco-2 cell model”. *International Journal of Pharmaceutics*, 333, 112–117,
- [89]. Crane, F.L., Hatefi, Y., Lester, R.L. and Widmer, C. (1957). Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta*, 25, 220-221.

- [90]. Nohl, H., Andrey, V.K. and Stainek, K. (2001). The Multiple Functions of Coenzyme Q. *Bioorganic Chemistry*, 29, 1-13.
- [91]. M. Turunen., J. Olsson. and G. Dallner. (2004). "Metabolism and function of coenzyme Q, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Biomembranes* 1660, (1-2), 171-199.
- [92]. Turunen, M., Olsson, J., Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1, 171-199.
- [93]. Ercan, P., Nehir, El,S. (2010). Koenzim Q10'un Beslenme Ve Sağlık Açısından Önemi Ve Biyoyararlılığı. *Tübav Bilim Dergisi*, 3 (2),194-195.
- [94]. Artuch, R., Salviati, L., Jackson, S., Hirano, M. and Navas, P. (2009). Coenzyme Q10 deficiencies in neuromuscular diseases. *Adv Exp Med Biol*, 652, 117-128, 11.
- [95]. Deichmann, R., MD, Lavie, C., and Andrews, S., MD. (2010). Coenzyme Q10 and statin-induced mitochondrial dysfunction. *The Ochsner Journal*, 10, 16-21, 5.
- [96]. Brown, M.S., Goldstein, J.L. (1986). A receptor-mediated pathway cholesterol hemostasis. *Science*, 232, 34-47, 13.
- [97]. Ernster, L. and Dalliner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1271, 195-204, 9.
- [98]. Maraver, J.G., Cordero, M.D., Ávila, M.O., Vega, A.F., Mata, M., Pavón, A. (2014). Coenzyme Q10 therapy. *Mol Syndromol*, 5, 187-10.
- [99]. Sugiyama, S., Kitazawa, M T., Ozawa, K., Suzuki, Y I. (1980). Anti-oxidative effect of coenzyme Q10. *Experientia*, 36, 1002–1003.
- [100]. Kagan, V., Serbinova, E., Packer, L. (1990). Antioxidant effects of ubiquinones in microsomes and mitochondria are mediated by tocopherol recycling, *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 169 (3), 851–857.
- [101]. Daniela, C., Paulo, H., Waib, Alceu Afonso Jordão Júnior. (2018). Mechanisms of action and effects of the administration of Coenzyme Q10 on metabolic syndrome, *Journal of Nutrition Intermediary Metabolism*, 27, 1326–32.
- [102]. https://www.saglikaktuel.com/haber/kanser-tedavisinde-etkili-savasci_26093.htm, (03.06.2020).
- [103]. Martins, N., Santos, N., Curti, C., Bianchi, M. and Santos, A. (2008). Cisplatininduces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism

- impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. *Journal of Applied Toxicology*, 28 (3), 337-344.
- [104]. Amr, A., Fouad, Ali Ibrahim Al-Sultan., Shereen, M., Refaie. and Mohamed T. Yacoubi. (2010). Coenzyme Q10 treatment ameliorates acute cisplatin nephrotoxicity in mice. *journal homepage Toxicology*, 274, 49–56.
- [105]. Bentli, R., Parlakpinar, H., Polat, A., Samdanci, E., Sarihan, M. E. and Sagir, M (2013). Molsidomine Prevents Cisplatin-induced Hepatotoxicity. *Archives of Medical Research*, 44, 521-528.
- [106]. Yousef, M.I., Saad, A.A. and El-Shennawy, L.K. (2009). Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1176–1183.
- [107]. Hebatallah, E., Mohameda, M., Badawyb, M M. (2019). Modulatory effect of zingerone against cisplatin or γ -irradiation induced hepatotoxicity by molecular targeting regulation, *Applied Radiation and Isotopes*, 154, 108891.
- [108]. Muhammad, U I., Asma, A., Aqsa, A., Hammad, I., Saima, M., Abdul, S., Al-Ghanim, K A., Al-Misned, F A., Ahmed, Z., Shahid, M. (2019). Remedial effects of casticin as an antioxidant on cisplatin induced oxidative damage in rat liver. *Journal of King Saud University Science*, 2-3.