



T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**RATLARDA CİSPLATİNİN NEDEN OLDUĞU DNA HASARI,
NEFROTOKSİSİTE ve BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
Rhododendron luteum EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Deniz CANBOLAT

**KASIM 2020
GÜMÜŞHANE**

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA CİSPLATİNİN NEDEN OLDUĞU DNA HASARI,
NEFROTOKSİSİTE ve BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
Rhododendron luteum EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Deniz CANBOLAT

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Biyoteknoloji Anabilim Dalı”

Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 11.11.2020

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 20.11.2020

KASIM 2020

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum "Ratlarda Cisplatinin Neden Olduğu DNA Hasarı, Nefrotoksisite ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine *Rhododendron luteum* Ekstraktının Koruyucu Etkisinin Araştırılması" isimli tez çalışmada bütün bilgi ve belgeleri genel akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim./..../2020

Deniz CANBOLAT

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**RATLARDA CİSPLATİNİN NEDEN OLDUĞU DNA HASARI,
NEFROTOKSİSİTE ve BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE
Rhododendron luteum EKSTRAKTININ KORUYUCU ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Deniz CANBOLAT

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İbrahim TURAN

2020, 79 sayfa

Kanser karmaşık bir hastalık profiline sahip dünya çapındaki en büyük halk sağlığı sorunlarından biridir. Bu hastalığa karşı birçok tedavi yöntemi kullanılmasına rağmen insan sağlığını tehdit eden nedenler arasında olma özelliğini muhafaza etmektedir. Kullanılan tedavi yöntemlerinden biri olan kemoterapide birçok ilaç kullanılmaktadır ve bu ilaçlardan biri de cisplatindir. Yapılan çalışmalarda cisplatinin kanser hücrelerinin çoğalmasını engellerken aynı zamanda sağlıklı hücreleri de etkileyerek birçok yan etkiye sebep olduğu bildirilmiştir. Cisplatin kullanımının yan etkileri özellikle reaktif oksijen türlerine (ROS) atfedilmekte olup bu yan etkilere karşı koruyucu yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bu amaç doğrultusunda antioksidan maddeler ile cisplatinin birlikte kullanımının olduğu birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, ratlarda cisplatine bağlı olarak oluşan DNA hasarı,

oksidatif stres artışı, apoptoz, inflamasyon ve nefrotoksisite gibi hasarlara karşı *Rhododendron luteum* yaprak ekstraktının koruyucu etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Cisplatin kaynaklı nefrotoksisite modeli Wistar Albino türü dişi sıçanlarla oluşturulmuş olup sıçanlar rastgele 5 farklı gruba (n=6; kontrol grubu, dimetil sülfoksit (DMSO) grubu, cisplatin grubu, 12,5 mg/kg *Rhododendron luteum* tedavi grubu ve 25 mg/kg *Rhododendron luteum* tedavi grubu) ayrıldı. Kontrol grubuna 6 gün 0,5 ml'lik serum fizyolojik, çözücü grubuna 6 gün 0,5 ml'lik DMSO, cisplatin grubuna 1. gün tek doz 7,5 mg/kg'lık cisplatin ve 5 gün 0,5 ml'lik serum fizyolojik, tedavi gruplarına ise 1. gün 7,5 mg/kg'lık cisplatin ve 5 gün 0,5 ml'lik *Rhododendron luteum* ekstraktı (12,5 mg/kg ve 25 mg/kg) intraperitoneal olarak verildi ve ratlar 7. günde sakrifiye edildi. Böbrek dokusunda ve kanda; malondialdehit (MDA), toplam antioksidan kapasite (TAS), toplam oksidan kapasite (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), süperoksit dismutaz (SOD), Kaspaz-3, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), glutatyon (GSH), 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri ölçüldü ve böbrek dokusunun histopatolojik değerlendirmesi yapıldı. Böbrek doku örneklerinde tedavi grubunun cisplatin grubuna göre MDA, TOS, OSİ, Kaspaz-3, TNF- α , 8-OHdG anlamlı düzeyde azalırken (p<0.05), GSH seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi (p<0.05). Serum örneklerinde MDA, TOS, OSİ, TNF- α seviyeleri anlamlı düzeyde azalırken (p<0.05) GSH ve TAS seviyeleri anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi (p<0.05). Histopatolojik incelemede ise tedavi gruplarının cisplatin grubuna kıyasla hasar skorunu azalttığı gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda cisplatinin ratlarda nefrotoksisiteye neden olduğu ve oluşan bu toksisite üzerine *Rhododendron luteum*'ün koruyucu etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Cisplatin, Nefrotoksisite, Oksidatif stres, *Rhododendron luteum*

ABSTRACT
MS THESIS

**INVESTIGATION of the PROTECTIVE EFFECT of *Rhododendron luteum* on DNA
DAMAGE, NEPHROTOXICITY and SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS
CAUSED by CISPLATIN in RATS**

Deniz CANBOLAT

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim TURAN

2020, 79 pages

Cancer is one of the largest public health problems worldwide with a complex disease profile. Although many treatment methods are used against this disease, it remains among the causes that threaten human health. There are many drugs in chemotherapy, one of the treatment methods used, and one of these drugs is cisplatin. Studies have reported that while cisplatin prevents the proliferation of cancer cells, it also affects healthy cells and causes many side effects. Side effects of cisplatin use are especially attributed to reactive oxygen species (ROS), and new approaches are being developed to protect against these side effects. For this purpose, there are many studies in which antioxidant substances and cisplatin are used together. In this study, it was aimed to investigate the protective effect of *Rhododendron luteum* leaf extract against damages such as DNA damage, oxidative stress

increase, apoptosis, inflammation and nephrotoxicity caused by cisplatin in rats. Cisplatin-induced nephrotoxicity model was created with female Wistar Albino rats, and the rats were randomly assigned to 5 different groups (n = 6; control group, dimethyl sulfoxide (DMSO) group, cisplatin group, 12.5 mg / kg *Rhododendron luteum* treatment group and 25 mg / kg *Rhododendron luteum* treatment group). 0.5 ml saline solution for 6 days, 0.5 ml DMSO for 6 days for the control group, 7.5 mg / kg cisplatin for the first day and 0.5 ml for 5 days for the cisplatin group. Saline was administered to the treatment groups intraperitoneally, 7.5 mg / kg cisplatin on the first day and 0.5 ml *Rhododendron luteum* extract (12.5 mg / kg-25 mg / kg) for 5 days was sacrificed in the day. In kidney tissue and blood; malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAS), total oxidant capacity (TOS), oxidative stress index (OSI), superoxide dismutase (SOD), Caspase-3, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), glutathione (GSH), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels were measured and histopathological evaluation of the kidney tissue was made. MDA, TOS, OSI, Caspase-3, TNF- α , 8-OHdG significantly decreased (p <0.05), while GSH levels increased significantly (p <0.05). In serum samples, while MDA, TOS, OSI, TNF- α levels decreased significantly (p <0.05), GSH and TAS levels increased significantly (p <0.05). In histopathological examination, it was observed that the treatment groups decreased the damage score compared to the cisplatin group. According to the results, it was observed that cisplatin caused nephrotoxicity in rats and *Rhododendron luteum* had protective effects on this toxicity.

Keywords: Cisplatin, Nephrotoxicity, Oxidative stress, *Rhododendron luteum*

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmaya maddi destek sağlayan Gümüşhane Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimimde tez konumun seçilmesi ve tezimin yürütülmesinin her aşamasında bana desteklerini esirgemeyen bilgi ve deneyimlerini akıtaran sevgili Danışman Hocam, Sayın Doç. Dr. İbrahim TURAN'a,

Laboratuvar deneylerimde büyük katkıları olan Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Selim DEMİR ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Öğretim Görevlisi Nihal TÜRKMEN'e, ratların sakrifiye edilme aşamasında yardımlarını esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇOLAK'a, histolojik verilerin elde edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU ve Araştırma Görevlisi Abdülkadir KUTLU'ya, istatistik analizlerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet MENTEŞE'ye, lisans ve yüksek lisans hayatım boyunca desteğini hissettiğim arkadaşım Rahime ALTINTAS'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında her zaman yanımda olduklarını hissettiğim ve eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen annem Aysel KARAÇAYLI'ya, babam Çetin CANBOLAT'a, canım abim Fatih CANBOLAT'a, yengem Selime CANBOLAT'a ve yeğenim Ateş Vural CANBOLAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deniz CANBOLAT

Gümüşhane

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	VI
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Çalışmanın Amacı.....	3
1.3. Kanser.....	3
1.4. Cisplatin.....	4
1.4.1. Cisplatinin Yan Etkileri.....	7
1.5. Serbest Radikaller.....	9
1.5.1. Serbest Radikal Kaynakları.....	10
1.5.2. Serbest Radikal Türleri.....	12
1.5.2.1. Süperoksit Radikali.....	12
1.5.2.2. Hidroksil Radikali.....	13
1.5.2.3. Hidrojen Peroksit.....	13
1.6. Oksidatif Stres.....	14
1.6.1. Oksidatif Stresin Biyomoleküllere Etkileri.....	15
1.6.1.1. Serbest Radikallerin Hücrelerin Memran Lipitlerine Etkileri.....	15
1.6.1.2. Serbest Radikallerin Hücre Proteinlerine Etkileri.....	16
1.6.1.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri.....	17

1.6.2.	Oksidatif Stres Kaynaklı Patolojik Durumlar	17
1.6.2.1.	Oksidatif stres ve Kanser	17
1.6.2.2.	Oksidatif Stres ve İnflamasyon	18
1.7.	Antioksidan Savunma Sistemi	18
1.7.1.	Endojen Antioksidanlar	19
1.7.1.1.	Süperoksit dismutaz (SOD).....	19
1.7.1.2.	Katalaz (CAT)	20
1.7.1.3.	Glutatyon Redüktaz (GR)	20
1.7.1.4.	Glutatyon (GSH)	21
1.7.1.5.	Melatonin	21
1.7.1.6.	Seruloplazmin.....	21
1.7.2.	Eksojen Antioksidanlar	22
1.7.2.1.	Vitaminler	22
1.7.2.2.	Fenolik Bileşikler (Polifenoller).....	22
1.8.	Doğal Ürünler.....	23
1.8.1	<i>Rhododendron luteum</i>	23
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	27
2.1.	Giriş	27
2.1.1.	Kullanılan Cihaz, Alet, Malzemeler	27
2.1.2.	Kullanılan Kimyasallar	28
2.2.	Metod	28
2.2.1.	<i>Rhododendron luteum</i> Bitki Ekstraktının Hazırlanması.....	28
2.2.2.	Deney Hayvanları Uygulamaları.....	29
2.2.3.	Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi	33
2.2.4.	Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	33
2.2.4.1.	Doku MDA Ölçümü:	34

2.2.5.	Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi	35
2.2.5.1.	Serum MDA Ölçümü.....	36
2.2.6.	Doku ve Serum Örneklerindeki SOD Seviyelerinin Belirlenmesi	37
2.2.7.	Doku ve Serum Örneklerindeki CASP3 Seviyelerinin Belirlenmesi	38
2.2.8.	Doku ve Serum Örneklerindeki TNF- α Seviyelerinin Belirlenmesi	39
2.2.9.	Doku ve Serum Örneklerindeki 8-OHdG Seviyelerinin Belirlenmesi	41
2.2.10.	Doku ve Serum Örneklerindeki GSH Seviyelerinin Belirlenmesi	42
2.2.11.	Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi	43
2.2.12.	Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi	43
2.2.13.	Oksidatif Stres İndekslerinin (OSI) Hesaplanması.....	43
2.2.14.	Histopatolojik İnceleme	44
2.2.15.	İstatiksel Analiz	44
3.	BULGULAR	45
3.1.	Malondialdehit (MDA) Seviyeleri	45
3.2.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyeleri	46
3.3.	İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Seviyeleri	48
3.4.	TAS-TOS ve OSİ Seviyeleri.....	49
3.5.	8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin (8-OHdG) Seviyeleri.....	53
3.6.	Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyeleri.....	55
3.7.	Kaspaz-3 (CASP3) Seviyeleri.....	56
3.8.	Histopatolojik Bulgular.....	58
4.	TARTIŞMA	62
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
6.	KAYNAKLAR.....	70
7.	EKLER.....	80
	ÖZGEÇMİŞ	82

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 1. Serbest radikal türleri	9
Tablo 1. 2. <i>Rhododendron</i> cinsinin sistematığı	24
Tablo 2. 1. Kullanılan cihaz, alet ve malzemeler.....	27
Tablo 2. 2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	28
Tablo 2. 3. SOD aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler.....	37
Tablo 2. 4. CASP3 aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler.....	38
Tablo 2. 5. TNF- α aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler.....	40
Tablo 2. 6. 8-OHdG aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler.....	41
Tablo 2. 7. GSH aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. 1. Cisplatinin moleküler yapısı	5
Şekil 1. 2. Cisplatin aktivasyonu ve DNA hasarı indüksiyonu	6
Şekil 1. 3. Cisplatin kaynaklı epitel hücre ölüm yolları	8
Şekil 1. 4. Reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ve düzenlenmesi	11
Şekil 1. 5. ROS Janusu: Terapötik bir bilmece.....	12
Şekil 1. 6. Oksidatif stres ve etkileri	15
Şekil 1. 7. ROS'lara bağlı oluşan lipid peroksidasyon türleri	16
Şekil 1. 8. Deoksiguanozin ve 8-OHdG'nin yapısı ve deoksiguanozin modifikasyonu ..	17
Şekil 1. 9. <i>Rhododendron luteum</i>	25
Şekil 1. 10. <i>Rhododendron luteumun</i> Türkiye'deki yayılış bölgeleri	25
Şekil 2. 1. Ratlara i.p. uygulama.....	30
Şekil 2. 2. Deney hayvanları çalışmasının grafiksel özet.....	31
Şekil 2. 3. Böbreğin ratlardan çıkarımı ve makroskobik görünümü	32
Şekil 2. 4. Doku protein ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	33
Şekil 2. 5. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	35
Şekil 2. 6. Serum MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	36
Şekil 2. 7. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği	38
Şekil 2. 8. CASP3 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	39
Şekil 2. 9. TNF- α ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	40
Şekil 2. 10. 8-OHdG ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	42
Şekil 2. 11. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği	43
Şekil 3. 1. Serum örneklerinin MDA değerleri.....	45
Şekil 3. 2. Doku örneklerinin MDA değerleri	46
Şekil 3. 3. Serum örneklerinin SOD değerleri	47
Şekil 3. 4. Doku örneklerinin SOD değerleri	47
Şekil 3. 5. Serum örneklerinin GSH değerleri	48
Şekil 3. 6. Doku örneklerinin GSH değerleri	49

Şekil 3. 7.	Serum örneklerindeki TOS seviyeleri	50
Şekil 3. 8.	Serum örneklerindeki TAS seviyeleri	50
Şekil 3. 9.	Serum örneklerindeki OSI seviyeleri	51
Şekil 3. 10.	Doku örneklerinin TOS değerleri.....	52
Şekil 3. 11.	Doku örneklerinin TAS değerleri.....	52
Şekil 3. 12.	Doku örneklerinin OSI değerleri.....	53
Şekil 3. 13.	Serum örneklerinin 8-OHdG değerleri	54
Şekil 3. 14.	Doku örneklerinin 8-OHdG değerleri.....	54
Şekil 3. 15.	Serum örneklerinin TNF- α değerleri	55
Şekil 3. 16.	Doku örneklerinin TNF- α değerleri	56
Şekil 3. 17.	Serum örneklerinin CASP3 değerleri	57
Şekil 3. 18.	Doku örneklerinin CASP3 değerleri	57
Şekil 3. 19.	Böbrek doku örneklerinin histolojik değerleri	58
Şekil 3. 20.	Kontrol grubu; Glomerül (G), (H&E X400).....	59
Şekil 3. 21.	DMSO grubu; Glomerül (G), (H&E X400).....	60
Şekil 3. 22.	Cisplatin grubu; Tubullerde dejenerasyon (çift ok), tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), vasküler konjesyon (ok başı) (H&E X400).	60
Şekil 3. 23.	R. luteum 12.5 mg/kg grubu; Tubullerde dejenerasyon (çift ok), tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), vasküler konjesyon (ok başı) (H&E X400).....	61
Şekil 3. 24.	Tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), Bowman boşluğu ve glomerülde dejenerasyon (yay) (H&E X400).....	61

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
CASP3	: Kaspaz-3
CAT	: Katalaz
CP	: Cisplatin
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
H ₂ SO ₄	: Sülfirik asit
H ₃ PO ₄	: Fosforik asit
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
IL	: İnterlökin
MDA	: Malondialdehit
NOXs	: Membrana bağlı NADPH oksidaz
O ₂ ⁻	: Süperoksit anyonu
OCT	: Organik katyon taşıyıcısı
OH [·]	: Hidroksil radikali
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOD1	: Sitozolik süperoksit dismutaz
SOD2	: Mitokondriyal süperoksit dismutaz
TAS	: Toplam antioksidan kapasite
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TNF- α	: Tümör nekroz faktör-alfa
TOS	: Toplam oksidan kapasite
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Karmaşık bir hastalık profiline sahip olan kanser dünya çapında en büyük halk sağlığı sorunlarından biridir (Hanahan ve Weinberg, 2011; Fouad ve Aanei, 2017). Her yıl milyonlarca insanı etkileyen kanser hastalığının Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından elde edilen bilgilere göre 2018 verileri ve 2040 tahminleri karşılaştırıldığında dünyadaki kansere bağlı ölüm sayısının ve kanser vakalarının yaklaşık olarak 1.6 ya da 1.7 kat artarak sırasıyla 16.4 ve 29.5 milyona çıkacağı öngörülmektedir. Kanser hastalığının dünyada bu kadar yaygın olmasından ve ölümlere sebebiyet vermesinden dolayı günümüzde bu hastalıkla mücadele için birçok çalışma yapılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2018 yılında yayınlamış olduğu Kanser İlaçlarının Fiyatlandırılması ve Etkileri rapora göre (WHO 2018) 2012 yılında, kanser ilaçlarına ve kanserle ilgili destek bakımına yapılan küresel harcama miktarı 90,9 milyar ABD doları, 2017 yılında ise bu miktarın 133 milyar ABD doları olduğu belirtilmiştir. Kanser ilacına harcanan finansal destekler karşılaştırıldığında yıllık büyüme oranının ise %7,9 olduğu belirtilmektedir (WHO, 2018). Yapılan çalışmalara ciddi miktarlarda bütçeler harcanmasına rağmen kanser, insan sağlığını tehdit eden nedenler arasında olma özelliğini devamlı muhafaza etmektedir.

Kanser hastalığında radyoterapi, hedefe yönelik tedaviler, hormon tedavisi, immünoterapi, cerrahi tedavi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Tedavi yöntemlerinden biri olan kemoterapinin 1940'larda ortaya çıkması, kanser hastalarının tedavileri için radyasyon tedavisine ek olarak klinisyenlere terapötik bir seçenek sağlamıştır (Chabner ve Roberts, 2005). Kemoterapide kullanılan birçok ilaç vardır ve bu ilaçlardan biri de kanserde yaygın kullanılan ve hücre siklusundan bağımsız bir ilaç olan cisplatindir (Türk, 2013). Cisplatin (CP) alkilleyici bir ajan olarak yumurtalık, akciğer, göğüs, testiküler, baş ve boyun gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Hasanvand vd., 2018). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CP'nin kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurmaya çalışırken aynı zamanda sağlıklı hücreleri de etkilediği gözlemlenmiş olup bu hücreler üzerine pek çok yan etkiye neden olduğu belirtilmektedir. Bu yan etkilerinden en önemlisi nefrotoksisite olarak bilinmektedir. Nefrotoksisite sonucunda böbrek fonksiyonları hızla

bozulmakta ve plazmada kreatinin ve üre düzeylerinde yükselmeler meydana gelmektedir (Jacob ve Lavakumar, 2016).

CP'nin hücrelere yapmış olduğu toksik etkinin mekanizması tam olarak bilinmemesine de bu mekanizma ile ilgili birçok teori vardır. Bu teorilerden biri de serbest radikallerin artışına bağlı meydana gelen oksidatif stres artışıdır. CP reaktif oksijen türlerinden (ROS) olan süperoksit iyonlarını ve hidroksil radikallerini üretebilmekte ve bunlarla birlikte antioksidan enzimlerden olan glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerinin aktivitelerini baskılayabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı CP hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna ve DNA hasarına sebep olarak toksisiteye neden olmaktadır (Yapar vd., 2009; Elsherbiny vd., 2016). ROS'lardan etkilenen DNA'nın yapısında bulunan bazlarda yaklaşık olarak 23 farklı oksidatif modifikasyon meydana gelmektedir. Bu baz modifikasyonları arasında en fazla bilineni 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) dir ve bu modifikasyonda guanin molekülünün 8. karbon atomuna hidroksil (OH⁻) radikalleri etki ederek oksidasyona sebep olmaktadır (Yokuş ve Çakır, 2002; Atmaca ve Aksoy, 2009; Kroese ve Scheffer, 2014). CP kullanımını nedeniyle meydana gelen oksidatif stres durumu ortamda bulunan serbest radikallerin uzaklaştırılamaması üzerine apoptozu başlatabilir (Karakan ve Nazlıkul, 2017). Apoptoz mekanizması normalde enfekte olmuş, hasar görmüş hücreleri uzaklaştırır ancak bu mekanizmanın sağlıklı hücrelerde gerçekleşmesi birçok patolojik hastalığı ortaya çıkarmaktadır. Doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen ve inflamasyon ile karakterize edilen bir sitokin olan tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α)'nın CP kaynaklı nefrotoksisite de üretimi artmaktadır (Çayakar, 2018; Sierra vd., 2018). CP kullanımının yan etkileri özellikle ROS'lara atfedilmekte olup bu yan etkilere karşı koruyucu yeni yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bu amaç doğrultusunda antioksidan maddeler ile CP'nin birlikte kullanımının olduğu birçok çalışma bulunmaktadır (Silici vd., 2009; Kumar ve Pandey, 2013; Çiftçi vd., 2014; Tohamy vd., 2014). Bu çalışmalarda organizmadaki oksidatif stres durumu genelde lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA (malondialdehit), CAT (katalaz), GSH (redükte glutatyon) ve SOD (süperoksit dismutaz) gibi antioksidan enzimlerin ölçümü ile belirlenmektedir (Silici vd., 2009; Tohamy vd., 2014; Kahraman, 2019). Antioksidanlar ROS'ların canlılarda meydana getirdiği hasarları ortadan kaldıran savunma sistemidir. Bu sistem karsinojenlerin, toksik radikal reaksiyonların ve ilaçların zararlı etkilerine karşı hücreleri doğrudan ya da dolaylı yoldan korumaktadır (Mercan, 2004).

Tıbbi amaçla kullanılan bitkilerin tıbbi değerleri genellikle fitokimyasal içeriklerine bağlıdır. Bu fitokimyasalların en önemlileri alkaloidler, tanenler, flavanoidler ve fenolik bileşiklerdir (Arunkumar ve Muthuselvam, 2009; Padmavathi, 2013). Bitkilerin sekonder metabolitleri olan fenolik bileşikler birçok tıbbi özellik (antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser, kardiyoprotektif, antimikrobiyal, anti-aging vb.) gösterebilir. Bu nedenle, polifenoller ya da polifenol içeren doğal ürünler kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi oksidatif strese bağlı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel ajanlar olarak kullanılmaktadır (Pandey ve Rivzi, 2009; Li vd., 2014). Ülkemiz, iklim özelliklerinin etkisiyle ve çeşitli topografik yapıları ile 3 floristik bölgeye sahiptir ve bu bölgeye sahip olması biyoçeşitlilik açısından zengin bir ülke olmasını sağlamaktadır (Eminağaoğlu vd., 2014; Yazıcı, 2018). Bu biyoçeşitlilik içinde yer alan bitki türlerinden biri de ülkemizin Karadeniz Bölgesi'nde yer alan *Rhododendron* türleridir. *Rhododendron* türünden olan sarı çiçekli ormangülü (*Rhododendron luteum*) halk arasında eğri çiçeği, çifin, sarı ağu olarak da bilinmekte ve ilaç olarak ağrı kesici, idrar söktürücü ve romatizma ağrılarını gidermek için kullanılmaktadır (Popescu ve Kopp, 2013). Bunların yanında inflamasyon ve mantar enfeksiyonlarına karşı da kullanıldığı bildirilmektedir (Demir vd., 2016). Aynı zamanda yapılan çalışmalarda *Rhododendron luteum* bitkisinin çiçek ve yaprak kısımlarının güçlü antioksidan ve antikanser özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Demir vd., 2016; Turan vd., 2018; Demir vd., 2018).

1.2. Çalışmanın Amacı

Yüksek antioksidan özelliğine sahip olmasına rağmen literatürde *Rhododendron luteum* yaprak ekstraktının ratlar üzerinde oluşturulan CP kaynaklı nefrotoksisite, DNA hasarı ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine koruyucu özelliğini inceleyen bir çalışma bulunmadığı tespit edilmiş olup buradan hareketle bu çalışmada güçlü antioksidan özelliği belirlenmiş olan *Rhododendron luteum* yaprak ekstraktının CP'ye bağlı olarak oluşan DNA hasarı, oksidatif stres artışı, apoptoz, inflamasyon ve nefrotoksisite gibi hasarlara karşı koruyucu etkisinin *in-vivo* olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

1.3. Kanser

Yetişkin bir insanın yaklaşık olarak 10^{15} hücreden meydana geldiği bilinmekte ve var olan bu hücrelerin ölümleri ile bölünüp farklılaşmaları bir denge içindedir. Fakat kanser hastalarında bu dengenin bozulduğu bilinmektedir. Kanser, hücrelerin ölümü ve çoğalması

arasındaki dengenin azalmış apoptoz veya aşırı hücre proliferasyonu nedeni ile meydana geldiği patolojik bir olaydır (Demir, 2015). Bu patolojik olay karmaşık bir hastalık profiline sahiptir ve dünya çapında en büyük halk sağlığı sorunlarından birisidir (Hanahan ve Weinberg, 2011; Fouad ve Aanei, 2017; Iqbal vd., 2018). Her yıl milyonlarca insanı etkileyen kanser hastalığının Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) tarafından elde edilen bilgilere göre 2018 verileri ve 2040 tahminleri karşılaştırıldığında dünyadaki kansere bağlı ölüm sayısının ve kanser vakalarının yaklaşık olarak 1.6-1.7 kat artarak sırasıyla 16.4 ve 29.5 milyona çıkacağı öngörülmektedir. Kanser hastalığının dünyada bu kadar yaygın olmasından ve ölümlere sebebiyet vermesinden dolayı günümüzde bu hastalıkla mücadele için birçok çalışma yapılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2018 yılında yayınlamış olduğu Kanser İlaçlarının Fiyatlandırılması ve Etkileri rapora göre (WHO 2018) 2012 yılında, kanser ilaçlarına ve kanserle ilgili destek bakımına yapılan küresel harcama miktarı 90,9 milyar ABD doları, 2017 yılında ise bu miktarın 133 milyar ABD doları olduğu belirtilmiştir. Kanser ilacına harcanan finansal destekler karşılaştırıldığında yıllık büyüme oranının ise %7,9 olduğu belirtilmektedir (WHO, 2018). Yapılan çalışmalara ciddi miktarlarda bütçeler harcanmasına rağmen kanser, insan sağlığını tehdit eden nedenler arasında olma özelliğini devamlı muhafaza etmektedir.

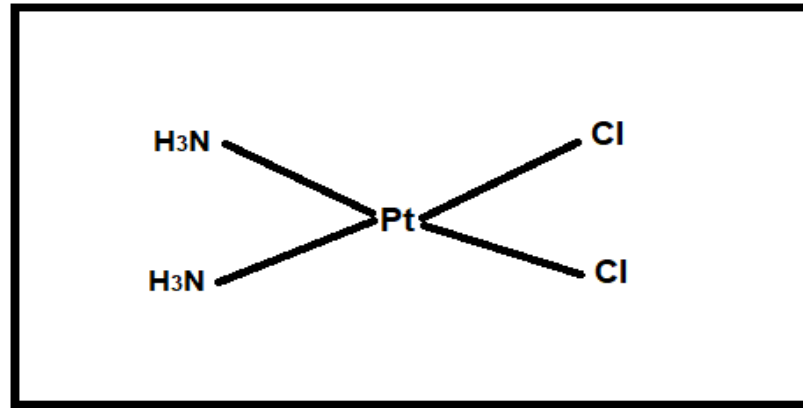
Kanser hastalığında radyoterapi, hedefe yönelik tedaviler, hormon tedavisi, immünoterapi, cerrahi tedavi ve kemoterapi gibi tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Kemoterapinin amacı kanser hücrelerini kemoterapötik ajanlar kullanarak öldürmektir. Bu yöntemde kullanılan birçok kemoterapotik ajan vardır ve bu ajanlardan biride akilleyici özelliğe sahip cisplatindir (Baykara, 2016).

1.4. Cisplatin

Cisplatinin 1960'larda bir anti-kanser ilacı olarak keşfi, kanser tedavisinde yeni bir dönem başlatmıştır (Florea ve Büsselberg, 2011). İlacın keşfi 1965 yılında tesadüf eseri olmuş olup Rosenberg ve ark. yapmış oldukları çalışmada *Escherichia coli* bakterilerini platin elektrotları olan bir büyüme çözeltilisinin içinde inkübe etmiş ve bakteri hücrelerinin alışılmışın dışında büyümelerinin sınırlandığını ve bu hücrelerin filamentöz bir şekil aldığını belirtmiştir (Rosenberg vd., 1965; Manohar ve Leung, 2017). İlk olarak 1978'de yumurtalık ve testis kanserlerindeki kullanımı için ABD Gıda ve İlaç İdaresi CP'yi antineoplastik ajan olarak onaylamış olup daha sonraki yıllarda ise bu kanserlere ek olarak mesane, baş ve boyun, özefagus, meme, küçük hücreli dışı akciğer, servikal, mide, prostat kanserleri,

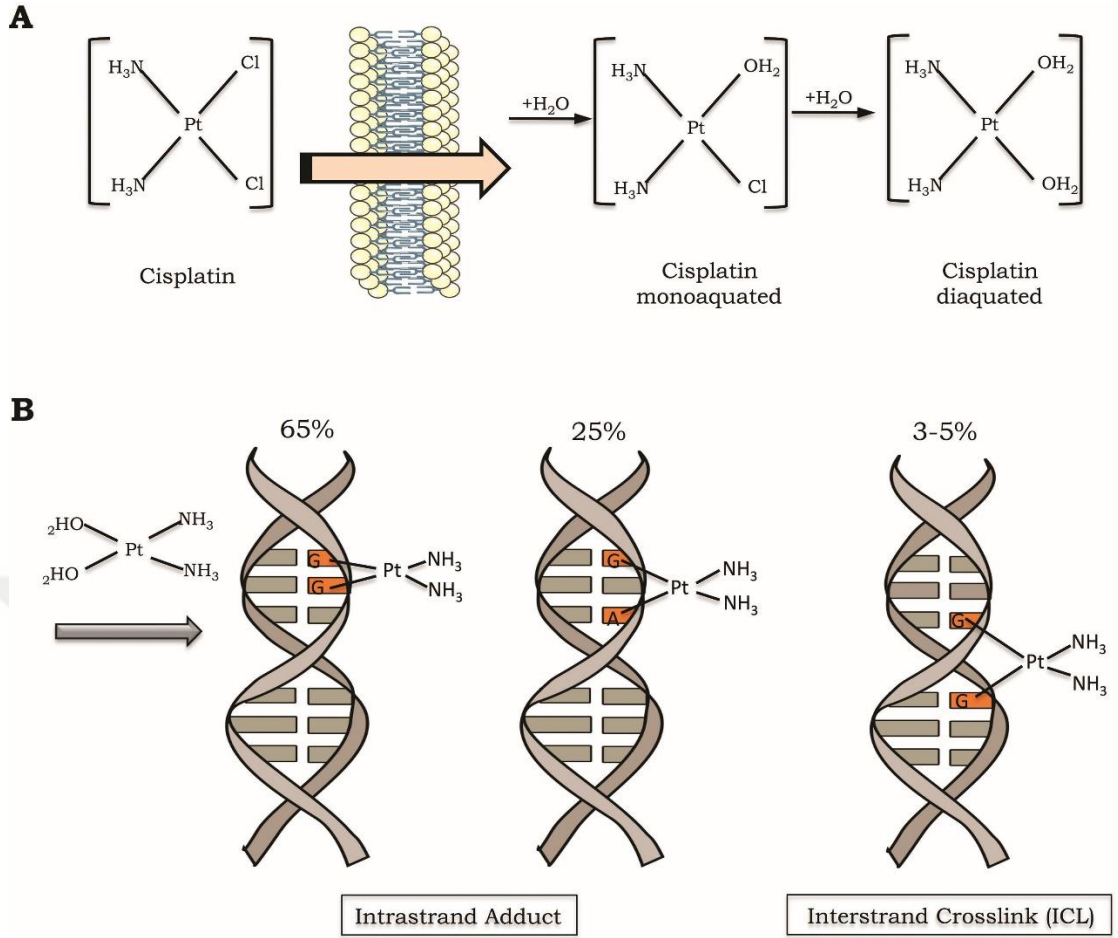
Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar, nöroplastom sarkomala, multipl miyelom, melanom gibi hastalıklarda da kullanımına izin vermiştir (Manohar ve Leung, 2017).

Metaller, bazı hücrenel süreçler için gereklidir ve cisplatin (CP) metal içeren bir ilaçtır (Florea ve Büsselberg, 2011). CP iki klorid ve iki amonyağa bağlı bir platin atomundan oluşan küçük ve son derece basit bir moleküldür ve Şekil 1.1’de cisplatinin moleküler yapısı gösterilmektedir (Ruggiero vd., 2013; Rocha vd., 2018).



Şekil 1. 1. Cisplatinin moleküler yapısı

Basit bir molekül olmasına rağmen CP çok güçlü bir ilaçtır. Sitozolda olduğu gibi düşük klorür konsantrasyonu koşullarında CP, bir ya da iki kloridin su molekülleri ile yer değiştirdiği bir işleme tabi tutulur. H₂O ile yer değiştiren Cl’ler CP’nin oldukça reaktif hale gelmesini sağlar ve çeşitli biyomoleküllere kolayca bağlanabilir formunu oluşturur. Bu reaktif formu Şekil 1.2.A’da gösterilmiştir. Reaktif formunda CP, DNA bazlarına kovalent olarak bağlanır ve DNA eklentileri oluşturur. CP özellikle pürin bazlarının nükleofilik N7 bölgeleri ile reaksiyona girer ve bir çift reaksiyon, pürinleri kovalent olarak bağlayabilir. CP, aynı iplik üzerinde bulunan pürinlere zincir içi eklentiler ya da alternatif olarak farklı iplikler üzerindeyse zincirler arası çapraz bağ şeklinde bağlanır. İntrastrand ve interstand çapraz bağ Şekil 1.2.B’de gösterilmiştir (Siddik, 2003; Rocha vd., 2018). CP’nin DNA’ya bağlanması transkripsiyonu ve DNA sentezini bloke eder. Hücre döngüsü durur ve DNA onarım mekanizmalarının yetersizliğinde ve aşırı hasar durumunda, hücreler apoptoza yönlendirilir.



Şekil 1.2. Cisplatin aktivasyonu ve DNA hasarı indüksiyonu (Rocha vd., 2018).

Cisplatin, gastrointestinal sistemde absorpsiyonu zayıf olan bir ilaçtır. Bu nedenle intraperitoneal ya da intravenöz olarak uygulanmaktadır (Crom vd., 1987). Vücut sıvılarına ve tüm dokulara hızlı bir şekilde yayılım gösteren CP'nin karaciğere, testislere, ince bağırsağa ve böbreklere yüksek seviyede nüfuz ettiği belirtilmiştir. İlacın %90'ı böbrek tarafından %10'u ise safra tarafından elemine edilmektedir (Ruggiero vd., 2013).

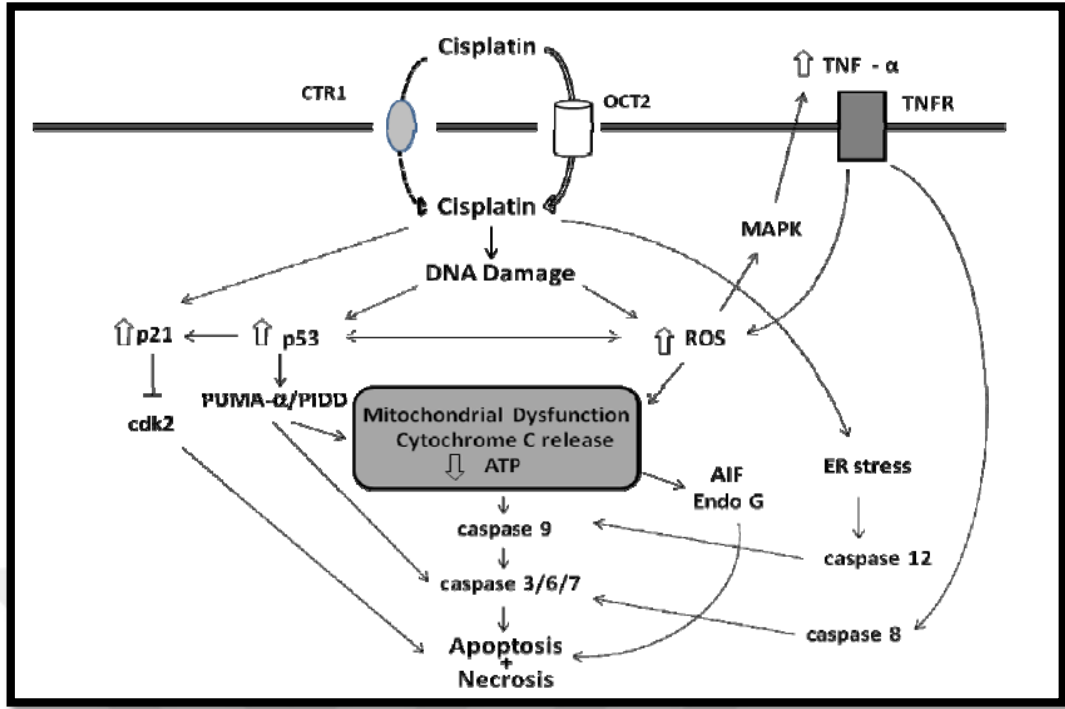
CP, katı tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan en etkili antikanser ajanlarından biridir. Bu nedenle birçok kanser türünde tedavi için kullanılmaktadır. Fakat son zamanlarda CP ile ilgili yapılan çalışmalarda ilacın kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurmaya çalışırken aynı zamanda normal hücrelere de etki ettiği gözlemlenmiş ve sağlıklı hücreler üzerine pek çok yan etkiye sebep olduğu belirtilmiştir (Silici vd., 2009; Kumar ve Padey, 2013; Tohamy vd., 2014).

1.4.1. Cisplatinin Yan Etkileri

Cisplatin kemoterapide sıklıkla kullanılan bir ilaç olmasına rağmen normal dokular üzerinde hepatoksisite, kardiyotoksisite, nörotoksisite ve nefrotoksisiteyi de içeren önemli yan etkiler oluşturmaktadır. CP'nin tedavisinde görülen doz sınırlayıcı ve en ciddi yan etki nefrotoksisitedir. Böbreklerde özellikle proksimal ve distal tübüleri etkilemektedir. Bu tübüller CP'nin etkisiyle genişlemekte ve tortu oluşturmaktadır. Bu olayda nekroza sebebiyet verir ve bunun sonucunda böbrekte glomerüler filtrasyon hızı azalır, kan üre azotu (BUN) ve serum kreatinin miktarları artar (Nakamura vd., 2010; Dasari ve Tchounwou, 2014; Jacob ve Lavakumar, 2016; Cao vd., 2018; Dinç, 2019). CP böbrek tübüllerinin özellikle dış medulla kısmındaki proksimal tübüllerinin S3 segmentinde birikmekte ve bu birikim nefrotoksik etki yaratmaktadır (Kröning vd., 2000; Köken, 2018).

Cisplatinin hücrelerdeki toksik etkisinin altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmese de ortaya birçok teori atılmıştır. Bu teorilerden biri de serbest radikallerin artışına bağlı meydana gelen oksidatif stres artışıdır. Çünkü CP gerek hidroksil radikalleri gerekse süperoksit iyonları gibi reaktif oksijen moleküllerini üretebilmekte ve bunların yanında antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin aktivitelerini baskılayabilmektedir. Bu nedenlerden dolayı CP, DNA hasarına ve hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna sebep olarak toksisiteye neden olmaktadır (Yapar vd., 2009; Elsherbiny vd., 2016).

Yapılan çalışmalarda CP'nin böbrek hücrelerinin içine alımını sağlayan iki farklı membran taşıyıcı tanımlanmıştır ve bu membran taşıyıcılar CTR1 ve organik katyon taşıyıcısı (OCT)2'dir. OCT2'nin böbreklere CP'nin alınmasına ve nefrotoksisiteye aracılık etmede önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir. CP, OCT2 ve daha az ölçüde CTR1 taşıyıcıları ile renal epitel hücrelerine girmektedir. Hücre içine alımının ardından mitokondriyal ve nükleer DNA'ya zarar verir ve mitokondriyal ve mitokondriyal olmayan hücre apoptozu ve nekroz yollarının aktivasyonuna yol açan ROS'ları üretmektedir. Şekil 1.3'te CP'nin hücre içine alımı ve CP kaynaklı epitel hücre ölüm yolları gösterilmektedir (Miller vd., 2010).



Şekil 1.3. Cisplatin kaynaklı epitel hücre ölüm yolları (Miller vd., 2010).

Cisplatin nefrotoksisitesinde mitokondriyal yolak temel apoptoz yolağı olarak belirtilmektedir (Pabla ve Dong, 2008). CP tedavisi böbrek hücrelerinde myeloid hücre lösemisi-1 (Mcl-1), B hücreli lenfoma-2 (Bcl-2) ve Bcl-2 ilişkili X proteini (Bax) gibi antiapoptotik proteinlerin azalmasına neden olmaktadır (Jiang vd., 2006; Yang vd., 2007). Ayrıca pro-apoptotik proteinle anti-apoptotik Bcl-2 protein oranının yükselmesine de neden olmaktadır (Wei vd., 2007; Sheikh-Hamad vd., 2004). Bu değişiklik dış mitokondri membranının geçirgenliğini arttırmakta ve mitokondriden serin proteaz HTRA1/Omi, apoptoz indükleyici faktör (AIF), endo nükleaz G, ikincil mitokondri kökenli kaspaz aktivatörü (Smac/DIABLO) ve sitokrom c gibi apoptotik faktörler salınmaktadır (Strasser vd., 2000; Danial vd., 2004;). Sitozole salınan sitokrom c Apaf-1 proteinine bağlanıp bu proteinde konformasyonel değişikliklere neden olmaktadır. Bu olayın sonucunda kaspaz-9 daha sonra kaspaz-3 aktive ederek kaspaz bağımlı apoptoz başlamaktadır (Pabla ve Dong, 2008).

Cisplatin nefrotoksisitesi inflamatuvar yanıtta ve ekstrinsik apoptoz yolağına katkı sağlayarak TNF- α sentezine ve TNFR (tümör nekroz faktör reseptörü)'nin ekspresyonunun artmasına neden olmaktadır. Ekstrinsik apoptoz yolağında daha çok TNFR1, inflamatuvar yanıt ile de TNFR2'nin ilişkili olduğu belirtilmiştir (Ramesh ve Reeves, 2003; Tsuruya vd.,

2003; Sanchez-Gonzalez vd., 2011). Ekstrinsik ölüm reseptörü yolağında da kaspaz-8, kaspaz-3'ü aktive etmekte ve sonucunda renal tübül hücre apoptozu gerçekleşmektedir (Tsuruya vd., 2003).

1.5. Serbest Radikaller

Serbest radikaller eşleşmiş elektronlara saldırıp onlardan elektron alabilen veya elektron verebilen moleküllerdir. Eşlenmemiş elektronlara sahip atomlar ya da moleküller olarak bilinen serbest radikaller pozitif, negatif veya nötr yüke sahip olabilmektedir (Brieger vd., 2012; Sezer ve Keskin, 2014). Bu moleküller nitrojen ya da oksijen kaynaklı olabilmektedir ve bu moleküller Tablo 1.1'de verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016a).

Tablo 1.1. Serbest radikal türleri (Karabulut ve Gülay, 2016a).

1. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Nonradikaller

Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Hipobromöz asit	HOBr
Singlet oksijen	¹ O ₂
Hipokloröz asit	HOCl
Ozon	O ₃

Radikaller

Süperoksit	O ₂ ⁻
Peroksil	ROO ⁻
Hidroksil	OH [·]
Alkoksil	RO [·]
Lipid peroksil	LOO ⁻
Hidroperoksil	HO ₂ ⁻

2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

Nonradikaller

Alkil peroksinitrit	ROONO
Nitroksil anyonu	NO
Nitril klorid	NO ₂ Cl
Nitrosil katyonu	NO ⁺
Nitronyum katyonu	NO ₂ ⁺
Nitrik asit	HNO ₂
Peroksinitrit	ONOO
Dinitrojen tetroksid	N ₂ O ₄
Peroksinitrik asit	ONOOH
Dinitrojen triksid	N ₂ O ₃

Radikaller

Nitrik oksit	NO [·]
Nitrojen dioksit	NO ₂ [·]

Birçok organizmada serbest radikaller normal metabolizma sırasında üretilmektedir. Vücudun vazgeçilmez bir elementi olan oksijenin, vücuda alındığında yaklaşık olarak %3 ila %5'inin serbest radikallere dönüştüğü ve bunun da reaktif oksijen türlerinin devamlı olarak hücrelerde üretilmesine sebep olduğu belirtilmektedir. Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen içeren moleküllerdir. Bu moleküller süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit

(H₂O₂) ve hidroksil radikalleri (OH[•]) olarak bilinmektedir (Cross vd., 1987; Sezer ve Keskin, 2014).

1.5.1. Serbest Radikal Kaynakları

Organizmalarda bulunan ROS ve RNS'ler eksojen ve endojen kaynaklardan meydana gelebilir.

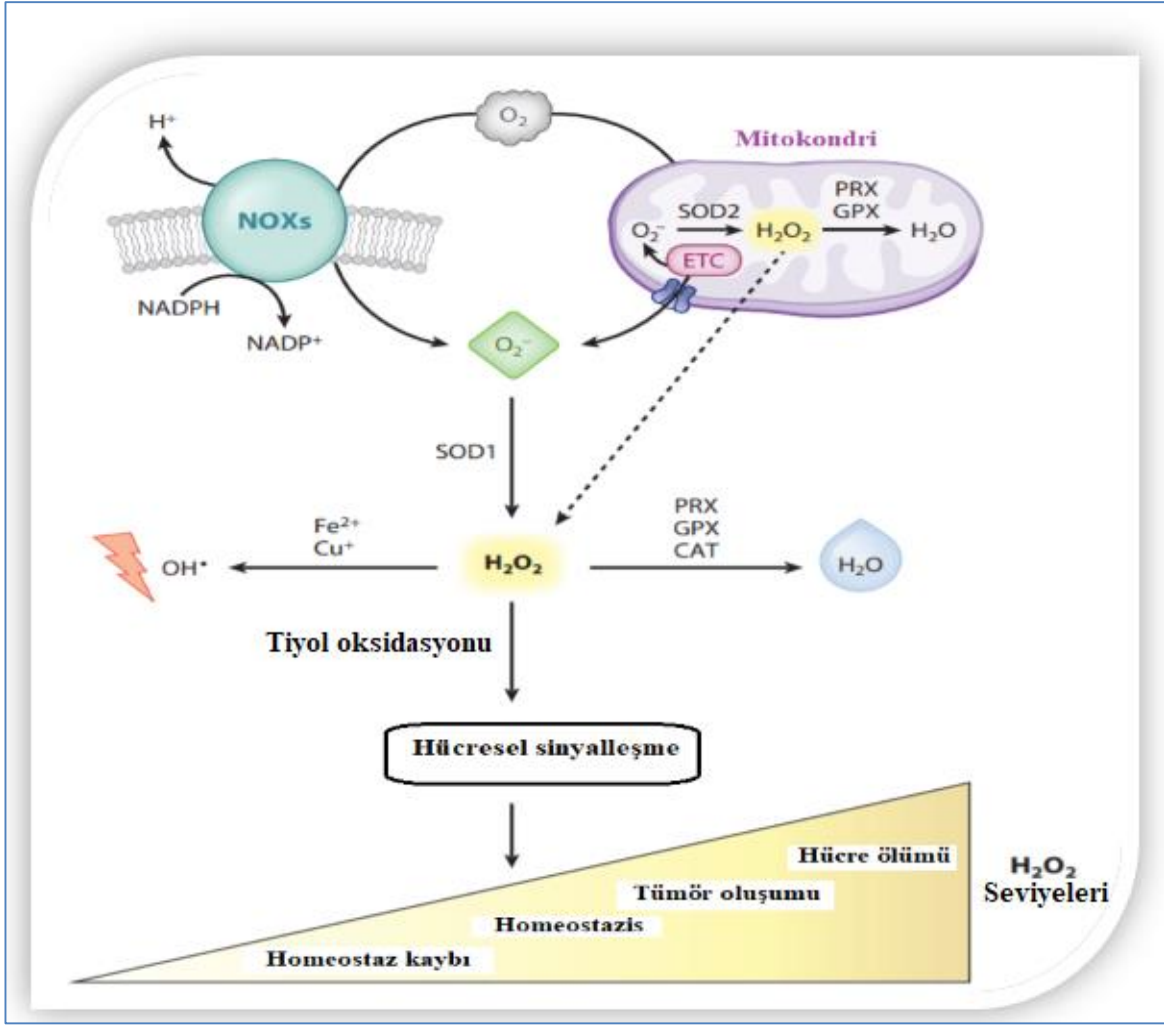
Eksojen kaynaklar;

- Organik maddelerin pişirilme esnasında yakılması,
- X-rays ışınları, UV ışınlar, mikrodalga ışınları,
- Volkanik faaliyetler,
- Hava kirleticileri (karbonmonoksit, formaldehit, tolüen ve ozon),
- Kimyasallar (boya, böcek ilacı, tiner, temizlik ürünü ve parfüm),
- Su kirletici maddeler (kloroform ve diğer trihalometanlar),
- Sigara ve alkol kullanımı sonucunda oluşabilmektedir.

Endojen kaynaklar;

- Sitokinler yangı durumunda serbest bırakılmaktadır ve sonucunda makrofajlar ve nötrofiller tarafından,
- Aerobik solunum sırasında mitokondride elektron transport sisteminden katalize edilen oksijenler tarafından,
- Plateletler, düz kas hücreleri ve araşidonik asit metabolizması tarafından,
- Lipit peroksidasyonu, mitokondriyel sitokrom oksidaz ve ksantin oksidaz gibi çeşitli kaynaklar tarafından,
- Patojenlere yanıt olarak immun sistem hücreleri tarafından,
- Vücut yorgunluğundan ya da zihinsel stresten kaynaklanan toksik yan ürün serbest radikaller olarak üretilebilmektedir (Sen vd., 2010; Karabulut ve Gülay, 2016a).

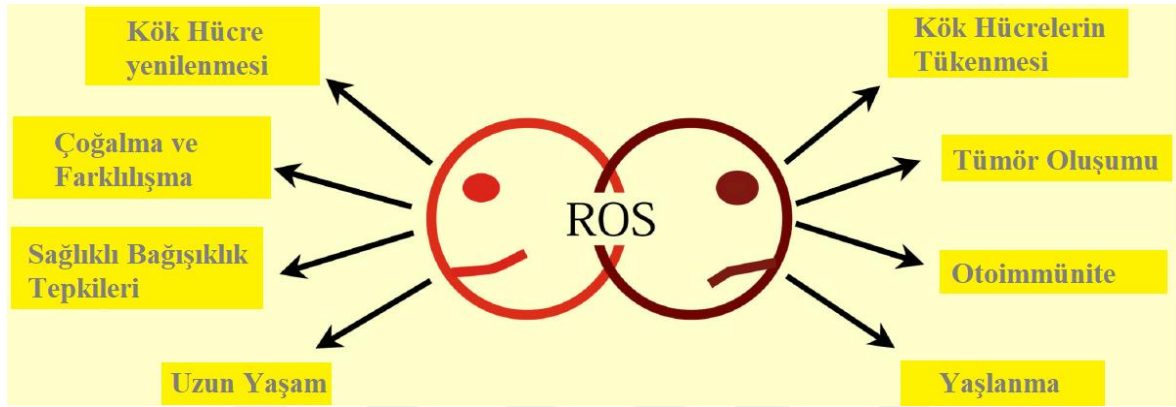
Sinyalle ilişkili ROS'lar iki ana kaynaktan üretilmektedir. Bunlar, mitokondri ve membrana bağlı NADPH oksidazlar (NOXs) dır (Reczeck ve Chandel, 2017). Şekil 1.4'de ROS'ların üretimi gösterilmektedir.



Şekil 1.4. Reaktif oksijen türlerinin üretilmesi ve düzenlenmesi (Reczek ve Chandel 2017).

Mitokondri ve NOXs, ROS üretiminin iki ana kaynağıdır. Sitolitik süperoksit dismutaz 1 (SOD 1), NOX ve mitokondriden türetilmiş süperoksidi (O_2^-) hidrojen perokside (H_2O_2) dönüştürür. Mitokondriyal elektron taşıma sistemi (ETS) tarafından üretilen O_2^- ise mitokondriyal matrikse ve sitozole salınabilir. Mitokondriyal matrikse salınan O_2^- , süperoksit dismutaz 2 (SOD 2) ile H_2O_2 'e dönüşebilir. H_2O_2 , mitokondriyal membranlar boyunca serbest yayılabilir ya da peroksiredoksin (PRX) ve glutatyon peroksidaz (GPX) ile mitokondri içindeki suya (H_2O) detoksifiye edilebilir. Sitolizde bulunan H_2O_2 , DNA'ya, lipitlere ve proteinlere zarar verebilen hidroksil (OH^*) radikalini üretmek için metal katyonları ile reaksiyona girebilir, peroksiredoksin-s (PRXs) ve katalaz (CAT) tarafından H_2O detoksifiye edilebilir ya da hücreye protein tiyol oksidasyonu ile sinyal gönderebilir. H_2O_2 seviyeleri çok düşük olması hücrel sinyallemeyi bozulabilir ve bu da homeostaz kaybına neden olurken H_2O_2 'in çok yüksek seviyesi ise anormal hücre sinyali oluşturabilir

ve bu da kanser gibi patolojileri indükleyebilir. H_2O_2 'nin yüksek seviyeleri oksidatif strese ve hücre ölümüne neden olabilir. Bu nedenle, hücresel homeostaz için optimal bir H_2O_2 seviyesi gereklidir (Reczeck ve Chandel, 2017). Bazı bileşiklerin düşük konsantrasyonlar da kimyasalların zararlı etkilerini engelleyici, yüksek konsantrasyonlarda ise mutajenik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bileşikler "Janus bileşiği" olarak adlandırılmaktadır (Turan, 2011; Burdock, 1998; Das vd., 2005). Şekil 1.5'de ROS'ların bir Janus bileşiği olarak gösterimi vardır.



Şekil 1. 5. ROS Janusu: Terapötik bir bilmece (Schieber ve Chandel, 2014).

1.5.2. Serbest Radikal Türleri

1.5.2.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit (O_2^-) radikali neredeyse tüm aerobik hücrelerde oksijenin (O_2) bir elektron alıp indirgenmesi sonucu oluşmaktadır. Redükte elektron taşıyıcılarının otooksidasyonu ile üretilen O_2^- radikalinin oluşumu, elektron taşıyıcılarının ortamda bulunan oksijen derişimine ve redoks dumuna bağlıdır. Lipofilik özellik gösteren ve uzun bir yarı ömre sahip olan O_2^- radikali bu özelliklerinden ötürü oluştuğu yerden uzak bölgelere difüzyonla yayılma özelliği göstermektedir. O_2^- radikali zayıf bir oksidan olduğu için tek başına büyük hücre hasarına yol açabilmesi mümkün görünmemektedir. Fakat bu radikal oksidatif stresin oluşumuna neden olabilen bir dizi reaksiyonun (Haber-Weiss gb.) başlamasına neden olabilmektedir. Bu reaksiyon Fe^{+2} 'nin varlığında H_2O_2 ve O_2^- 'nin etkileşime girmesi ile oldukça reaktif bir radikal olan hidroksil radikalinin (OH^-) oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan bu radikal DNA gibi biyomoleküller ile etkileşime girerek önemli hasarlara neden olmaktadır (Demir, 2010; Turan, 2011).

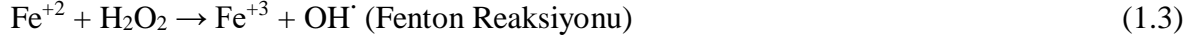


1.5.2.2. Hidroksil Radikali

Biyolojik sistemlerde en güçlü ROS olarak kabul edilen hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksidin (H_2O_2) demir (Fe^{+2}) ya da bakır (Cu^{+2}) ile reaksiyona girmesi sonucu oluşmaktadır. OH^- radikali, H_2O_2 toksisitesinin büyük bölümünün temelinde yer aldığı belirtilmektedir. Fenton reaksiyonu olarak adlandırılan bu reaksiyon ilk kez 1894'te Fenton tarafından gözlemlenmiştir. OH^- radikallerinin eşlenmemiş elektronları varlığı nedeniyle nükleik asitlerle (RNA ve DNA), proteinlerle ve lipidlerle aynı zamanda neredeyse bütün hücrel moleküllerle reaksiyona girebilmektedir. DNA'da bulunan deoksiriboz molekülü ile OH^- radikallerinin etkileşebileceği ve bu etkileşim sonucunda farklı ürünlerin oluşturduğu bildirilmektedir. Oluşan ürünlerden bazılarının mutajenik özellik gösterdiği belirtilmektedir. Aynı zamanda OH^- radikallerinin aromatik halkaya katılabilme özelliğinin olmasından dolayı RNA ve DNA'da var olan pirimidin ve pürin bazlarına katılabilme özelliği gösterebilmekte ve sonucunda radikal oluşumu gözlemlenmektedir. DNA'da bulunan şeker ve baz yapılarında hasarlar meydana getiren OH^- radikali DNA'da bulunan zincirler üzerinde kırıklara neden olmaktadır. Oluşan hasarların seviyelerinin yüksek olması hücrelerde bulunan hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilememektedir. Bunun sonucunda ise hücre ölümleri ve mutasyonlar gözlenebilmektedir (Demir, 2015; Karabulut ve Gülay, 2016a).

1.5.2.3. Hidrojen Peroksit

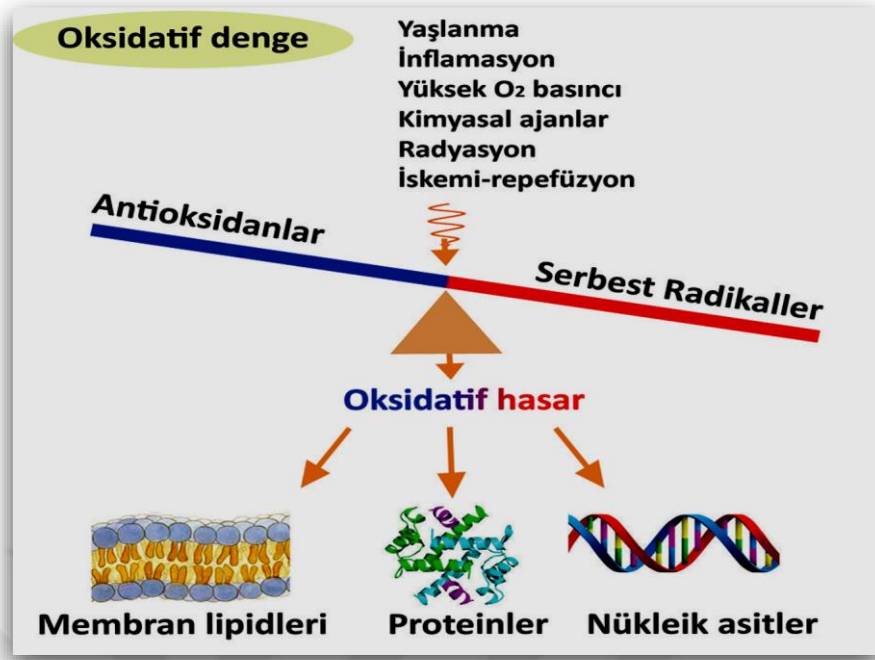
Hidrojen peroksidin (H_2O_2) eşlenmemiş elektronu bulunmadığı için bir radikal olarak görülmemektedir. Fakat serbest radikal gibi görülmemesine rağmen ROS bileşikleri arasında belirtilmektedir. Bunun nedeni O_2^- radikalinin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ve Fe^{+2} ya da diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu göstermesi ve sonucunda en reaktif ve biyomoleküllere zarar verici ROS'ların bir türü olan OH^- radikalini oluşturmasıdır. H_2O_2 radikalinin O_2^- radikalinden farkı yağda çözünür olması ve bu özelliğiyle hücrel membranların Fe^{+2} içeren kısımlarında ve olduğu yerden uzakta bulunan bölgelerde hasar oluşturabilmektedir (Özcan vd., 2015; Karabulut ve Gülay, 2016a).



Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ROS'ların büyüme faktörü sinyalini, proliferasyonu ve hipoksiye adaptasyonu da dahil olmak üzere çok sayıda fizyolojik ve biyolojik yanıtı düzenlemek için sinyal molekülleri olarak hizmet edebileceği bildirilmiştir. ROS'larda en iyi tanımlanmış sinyal molekülü mekanizması H_2O_2 'dir (Finkel 2011; Holmstrom ve Finkel 2014; Schieber ve Chandel 2014; Reczek ve Chandel 2015). H_2O_2 'nin sinyal iletimine aracılık ettiği anlaşılmış ve proteinlerin içindeki sistein kalıntılarını oksidasyona uğratarak işlevlerini değiştirmektedir (D'Autreaux ve Toledano 2007; Reczek ve Chandel 2015). H_2O_2 , süperoksit dismutazların (1, 2 ve 3) enzimatik aktivitesi ile $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin hızlı dismutasyonundan türetilmektedir. $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin, H_2O_2 'nin üretilmesini sağlamasının yanı sıra redoks sinyalleşmesinde ve hücre ölümünün başlamasında işlev gördüğü gösterilmiştir (Reczek ve Chandel 2017). H_2O_2 , demir ve bakır iyonları ile Fenton reaksiyonuna girdiğinde rastgele lipitlere, proteinlere ve DNA'ya zarar verebilmektedir. Ayrıca ROS molekülleri kanser gibi patolojik hastalıkları indükleyen toksik yapılar olarak bildirilmektedir.

1.6. Oksidatif Stres

Serbest radikaller ve antioksidanlar biyolojik sistemlerde bir denge içindedir. Serbest radikaller ve antioksidanların bir denge içinde olması durumunda organizmalar içinde barındırdıkları serbest radikallerden etkilenmemektedir. Fakat bu dengenin bozulması oksidatif stres olarak adlandırılan bir durumu ortaya çıkarmaktadır. Şekil 1.6'da oksidatif stres ve etkileri gösterilmektedir (Özen vd., 2015; Arslan, 2019).



Şekil 1. 6. Oksidatif stres ve etkileri (Özen vd., 2015).

Oksidatif stres organizmalardaki moleküllerde ve normal fonksiyon gösteren hücrelerde enzimatik olmayan oksidatif hasarın birikimi ile karakterize edilmekte ve insanlarda diyabet, Parkinson hastalığı, akut renal yetmezlik, böbrek yetmezliği, iskemi/reperfüzyon hasarı, Alzheimer hastalığı, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar ve kanser gibi birçok patolojik olayda rolü olduğu düşünülmektedir (Çakatay ve Kayalı, 2006; Çaylak, 2011).

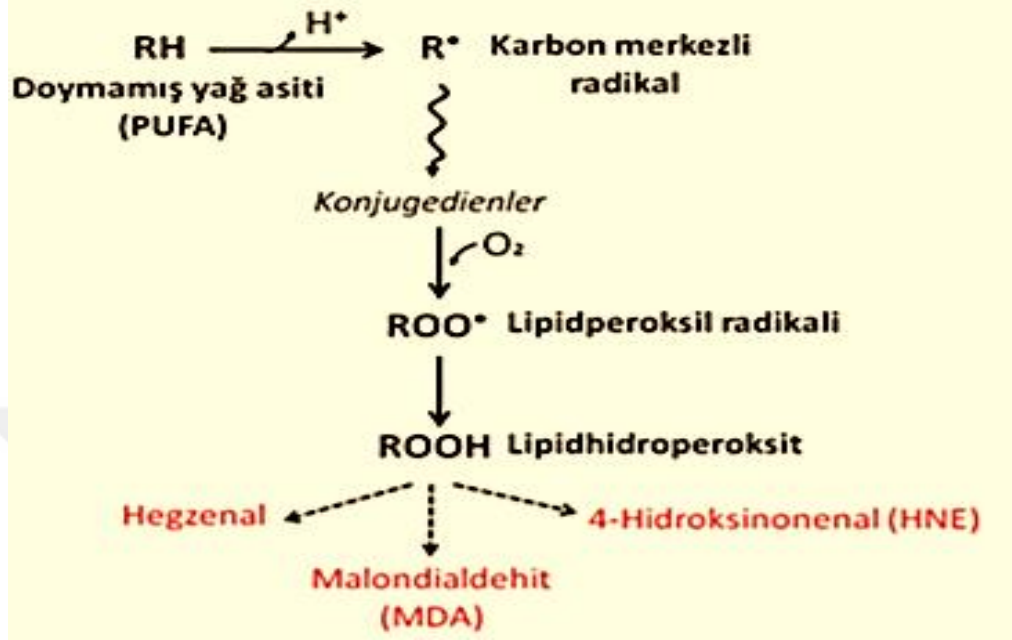
1.6.1. Oksidatif Stresin Biyomoleküllere Etkileri

ROS'ların, radyasyon, inflamasyon, azot dioksit, yaşlanma, ilaçlar ve kimyasal maddeler gibi uyarıların etkisiyle miktarları artmaktadır. Serbest radikallerin hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat, enzim ve DNA gibi biyomoleküllere zararlı etkilerinin varlığı vurgulanmaktadır.

1.6.1.1 Serbest Radikallerin Hücrelerin Membran Lipitlerine Etkileri

Serbest radikaller hücre membranlarında bulunan yağ asitlerine etki ederek lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu çoklu doymamış yağ asitlerinin radikallerle oksidasyonun gözlemlenmesiyle başlayan ve ardından oto katalitik bir zincir reaksiyon gibi devam eden bir reaksiyon sürecidir. Lipid peroksidasyonu sonucunda

aldehitler oluşmakta ve bu aldehitlerden en iyi bilineni MDA'dır. Şekil 1.7'de ROS'lara bağlı oluşan lipid reoksidasyon ürünleri gösterilmektedir (Özcan vd., 2015).



Şekil 1. 7. ROS'lara bağlı oluşan lipid peroksidasyon türleri (Özcan vd., 2015).

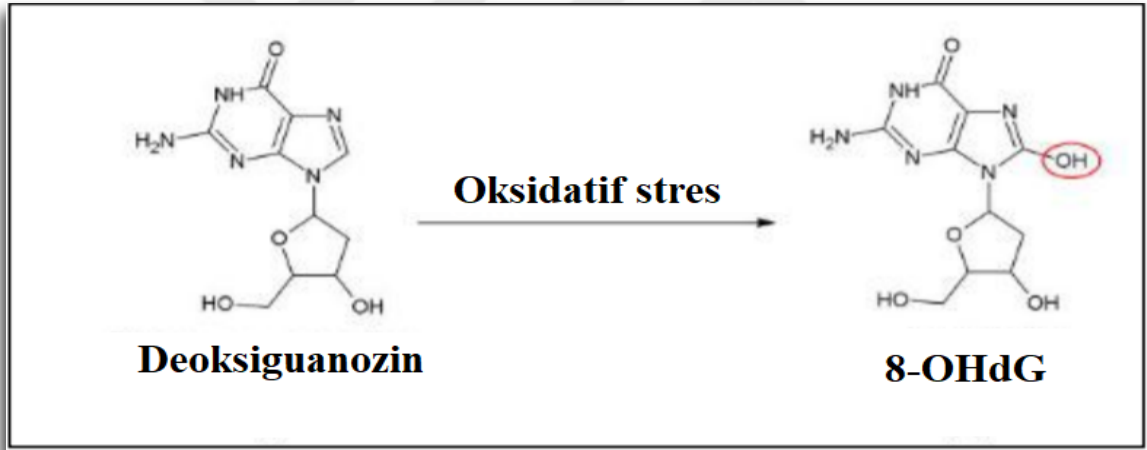
MDA, membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olarak, membrana bağlı enzimleri ve membran reseptörlerini etkisiz hale getirir ve sonucunda membranda bulunan proteinlere ciddi hasarlar verir. Lipid peroksidasyonu oto katalitik yayılım reaksiyonları ile devam edebilmekte ya da süpürücü antioksidanların etkisiyle sonlanabilmektedir (Davies ve Goldberg, 1987; Gutteridge, 1995; Süleyman vd., 2018).

1.6.1.2. Serbest Radikallerin Hücre Proteinlerine Etkileri

Proteinlerin yapıtaşları olan amino asitlerin içerdikleri bileşimler, serbest radikallerden etkilenme derecelerini belirlemektedir. Sülfür ve doymamış bağ içeren aminoasitlerde (tirozin, histidin, triptofan, sistein, fenilalanin gibi) oluşan proteinler serbest radikallerden daha hızlı etkilenmektedir. Radikaller ile proteinlerin reaksiyona girmesi sülfür radikallerini ve karbon merkezli radikalleri ortaya çıkarır (Süleyman vd., 2018).

1.6.1.3. Serbest Radikallerin DNA Üzerine Etkileri

Başta karsinogenez olmak üzere var olan birçok hastalığın patogeneğinde oksidatif DNA hasarının olduğu bildirilmektedir. ROS'ların reaktivite açısından en güçlüsü olarak kabul edilen OH[•] radikalleri protein ve lipidlerde olduğu gibi nükleik asitlerden biri olan DNA'nın yapısında bulunan bazların çift bağlarına H atomu ekler ya da timinin yapısında bulunan metil gruplarından ve 2-deoksiribozun C-H bağlarından H atomu çıkararak DNA ile reaksiyon göstermektedir. DNA'da oluşan baz mutasyonlarından en fazla bilineni 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) olarak belirtilmektedir. Bu mutasyonun OH[•] radikallerinin guaninin 8. pozisyonuna etki edip oksidasyona sebep olarak oluştuğu belirtilmektedir. Ayrıca bu mutasyon DNA'da oluşan hasarın miktar ölçümü için kullanılmaktadır (Özen vd., 2015). Şekil 1.8'de Deoksiguanozin ve 8-OHdG'nin yapısı ve deoksiguanozin modifikasyonu gösterilmektedir (Handayani vd., 2017).



Şekil 1.8. Deoksiguanozin ve 8-OHdG'nin yapısı ve deoksiguanozin modifikasyonu (Handayani vd., 2017).

1.6.2. Oksidatif Stres Kaynaklı Patolojik Durumlar

1.6.2.1. Oksidatif stres ve Kanser

Antioksidanlar ve oksidanlar arası dengenin bozulması, organizmalardaki tüm temel biyolojik bileşiklerin (DNA, membran lipidleri gibi) zarar görmesine ve hücrelerin ölümlerine sebebiyet verebilir. Sağlıklı hücrelerin kanser hücrelerinden daha az miktarda ROS ile karakterize olduğu belirtilmekte ve kanser fenotipinin korunmasında ROS türlerinin

sorumlu olduğu bildirilmektedir. Onkogenlerin uyarıcısı olarak tanımlanan ROS, hücrede bulunan lipid, membran proteinleri, DNA ve lipoproteinlere önemli derecede zarar vermektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın, DNA'nın yapısında bulunan bazlarla reaksiyona girmesi mutajenik etkiyi oluşturmaktadır. ROS türlerinden biri olan hidroksil radikali DNA bazlarının zincirlerinin kopmasına ya da oksidatif hasarına neden olur. Bu radikalın DNA ile etkileşimi kanser oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (Aslankoç vd., 2019).

1.6.2.2. Oksidatif Stres ve İnflamasyon

İnflamasyonun hücreSEL ve vasküler yanıtları, inflamatuvar uyaranlarla meydana gelen ve plazma hücrelerinden çıkan kimyasal faktörlerle oluşmaktadır. Ortaya çıkan kimyasal faktörler bir arada ya da tek başına inflamatuvar yanıtın oluşmasını etkilemektedir. İnflamasyonda en önemli sitokinler tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve interlökinler (IL) olup bu sitokinler pro-inflamatuvar sitokin olarak adlandırılmaktadır. İkiside lenfosit, aktive makrofajlar ve diğer hücre tipleri tarafından oluşmaktadır. Aşırı duyarlılık reaksiyonlarının sonucu artan reaktif inflamatuvar yanıt, inflamasyonun bir komplikasyonu olarak organ yetmezliğine ya da organların fonksiyonlarında bozulmaya hatta ani ölümlere sebep olabilmektedir (Kurulay ve Çavdar, 2006). Doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen ve inflamasyon ile karakterize edilen bir sitokin olan TNF- α 'nın CP kaynaklı nefrotoksisite de üretimi artmaktadır (Çayakar, 2018; Sierra vd., 2018). Böbrekte birçok sitokin ve kemokin aktivasyonunu koordine eden TNF- α , renal hasara katkıda bulunur, ROS üretimini artırır ve apoptozu indükler (Tüfekçi, 2009).

1.7. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrelerde serbest radikaller tarafından okside olabilecek biyomoleküllerin (protein, lipid ve DNA gibi) oksidasyonunu engelleyen ya da geciktiren maddeler antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar eşlenmemiş elektrona sahip olan serbest radikallere elektron vererek hücre düzeyindeki hasarları engelleyebilmektedir. Bu görevini dört farklı mekanizma ile gerçekleştirebilmektedir. Bu mekanizmalar baskılama etkisi, temizleme etkisi, zincir koparma etkisi ve onarma etkisidir (Aslankoç vd., 2019)

- Baskılama etkisi: Antioksidanlar hücrelerde bulunan oksidanlara bir H⁺ atomu vererek onların etkisiz hale gelmesini veya reaksiyon hızlarının ya da etkilerinin

azaltılmasını sağlamaktadır. Flavonoidler ve vitaminler etkilerini bu mekanizma ile göstermektedir.

- Temizleme etkisi: Bu mekanizma antioksidanların ROS'ları etkileyip oksidanları daha zayıf bir molekül yapısına dönüştürmesi ya da onların tutulmasını sağlaması ile gerçekleşmektedir. Mikromoleküller ve antioksidan enzimler etkilerini bu mekanizma ile göstermektedir.
- Zincir koparma etkisi: Bu mekanizmada rol oynayan antioksidanlar ROS'ları bağlayıp zincirlerini kırarak etkisini göstermektedir.
- Onarma etkisi: ROS'ların ya da RNS'lerin DNA, protein ya da lipitlerde oluşturdukları biyolojik hasarların engellenmesi ile etkisini göstermektedir. (Alarcon ve Denicola, 2013; Pisoschi ve Pop, 2015; Ighodaro ve Akinloye, 2017; Arslan, 2019; Aslankoç vd., 2019).

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere 2 farklı sınıfa ayrılmaktadır. Endojen kaynaklı antioksidanlar ise kendi arasında enzimatik ve nonenzimatik (enzimatik olmayan) olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlara süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz, glutatyon S-transferaz (GST), katalaz (CAT) ve mitokondriyal sitokrom oksidaz örnek verilebilir. Nonenzimatik bileşiklere ise melatonin, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, glutatyon (GSH), sistein, albümin ve bilirubin örnek verilebilir. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise vitaminler, karotenoidler ve fenolik bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler) olarak bilinmektedir (Aydemir ve Sarı, 2009; Bouayed ve Bohn, 2010; Sezer ve Keskin, 2014).

1.7.1. Endojen Antioksidanlar

1.7.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit (O_2^{\cdot}) radikaline ve ROS'lara karşı en önemli antioksidan sistemlerinden biri olarak kabul edilen süperoksit dismutaz (SOD), bir O_2^{\cdot} radikalinin O_2 molekülüne yükseltgenmesini ve diğer O_2^{\cdot} radikalinin ise daha az reaktif olan H_2O_2 'ye indirgenmesini katalize etmektedir.



Aktif bölgelerde bulunan fonksiyonel metal kofaktörlerine dayanarak SOD'un üç farklı izoformu bulunmaktadır. Bu izoformlar; SOD 1(Cu-Zn-SOD), SOD 2 (Mn-SOD) ve SOD 3 (Cu-SOD) olarak belirtilmektedir.

- SOD 1: Bakır ve çinkoya bağlı bir enzim olup lizozomlarda, sitoplazmada ve nükleer bölmelerde bulunmaktadır. SOD 1'in Down sendromunun, gen mutasyonlarının, Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) hastalıklarının patofizyolojisinde rol oynadığı belirtilmektedir.
- SOD 2: Mangana bağlı bir enzim olup aerobik hücrelerin mitokondrisinde bulunmakta ve tümörogenezisde, pulmoner toksisite ile uyarılan hipokside, hücre farklılaşmasında majör rol oynamaktadır.
- SOD 3: Bu enzim sinoviyal sıvıda, lenfte ve plazmada bulunmakta olup özellikle damar duvarlarında yüksek oranda tespit edilmiştir. SOD 3'ün büyük oranda vasküler düz kas hücrelerinden sentezlendiği gösterilmiştir (Ma vd., 2017; Aslankoç vd., 2019).

1.7.1.2. Katalaz (CAT)

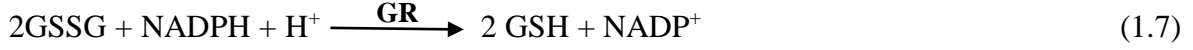
Katalaz enzimi dört polipeptit zincirinden oluşan bir tetramerdir ve yapısında NADPH ve hem grubunu bulundurmaktadır. CAT enzimi H₂O₂'nin su ve oksijene dönüşümünü iki aşama ile katalize eder ve büyük ölçüde H₂O₂ üreten enzimlerin çoğunu içeren peroksizomlardaki hücrelerin içinde bulunmaktadır (Young ve Woodside, 2001; Sen ve Chakraborty, 2011).



1.7.1.3. Glutatyon Redüktaz (GR)

Glutatyon redüktaz (GR), flavin adenin dinükleotid (FAD) içeren bir enzimdir. Bu enzim NADPH'da bulunan elektronunun birini okside glutatyonun disülfid bağlarına aktararak tekrardan GSH'a dönüşümünü sağlamaktadır. Bunun için NADPH, serbest radikal hasarının

engellemesi için gereklidir ve NADPH'nin en önemli kaynağı olarak pentoz fosfat (heksoz monofosfat) yolu olduğu belirtilmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016b).



1.7.1.4. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH), glutamin, sistein ve glisin gibi amino asitlerden oluşan suda çözünür bir tripeptittir. Tiyol grubu güçlü bir indirgeyici ajandır. Önemli bir antioksidan olan GSH, çeşitli elektrofilik bileşiklerin ve peroksitlerin glutasyon S-transferazları (GST) ve glutasyon peroksidazları (GPx) tarafından kataliz yoluyla detoksifikasyonunda rol aynar (Townsend vd., 2003). İki aşamada sentezlenen GSH, birinci aşamada glutamin-sistein ligaz (GCL)'in sistein ve glutamini bağlayarak γ -glutamilsisteini oluşturmaktadır. İkinci aşamada ise glutasyon sentetaz (GSS), γ -glutamilsisteinine glisin amino asidini bağlayarak GSH molekülünü oluşturmaktadır (Gülay ve Karabulut, 2016b).



1.7.1.5. Melatonin

Melatonin, N-asetil-5-metoksi triptamin olarakta bilinmekte ve pineal bezden salgılanmaktadır. Karanlık ortamlarda melatonin hormonunun salgısının arttığı bilinmektedir. Meletonin hormonu, güçlü antioksidan özellik göstermekle beraber, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, hücrelerin yenilenmesi, vücut ısısının düzenlenmesi ve uyku ritminin düzenlenmesinde görev almaktadır (Atasoy, 2019). Melatonin, O_2^{\cdot} ve OH^{\cdot} radikallerini tutarak antioksidan etkisini göstermektedir (Aydemir ve Sarı, 2009).

1.7.1.6. Seruloplazmin

Seruloplazmin ferro demirinin (Fe^{+2}) ferri demirine (Fe^{+3}) yükseltgemesi ile hidroksil radikalının ve fenton reaksiyonunun oluşumunu engellemektedir (Aydemir ve Sarı, 2009).

1.7.2. Eksojen Antioksidanlar

1.7.2.1. Vitaminler

A vitamini (β -karoten), E vitamini (α -Tokoferol), B9 vitamini (folik asit) ve C vitamini (askorbik asit) eksojen kaynaklı antioksidanlardır. Karotenoidlerin, yağda çözünen bir üyesi olarak kabul edilen β -karoten, aktif A vitaminine dönüştüğü için provitamin olarak bilinmektedir. Bu provitamin güçlü bir antioksidan aktivite göstermektedir. α -Tokoferol yağda çözünebilir yüksek antioksidan potansiyelli bir antioksidandır. Antioksidan olarak temel görevi lipit peroksidasyonuna karşı hücreleri korumaktır. Askorbik asit, suda çözünen bir vitamin olup hipokloröz asit, singlet oksijen, hidroperoksil, peroksinitrit, ozon, nitrojen dioksit ve süperoksit gibi ROS'ları ve RNS'leri kolaylıkla temizlemekte dolayısıyla oksidatif hasara karşı etkin bir rol oynamaktadır (Karabulut ve Gülay, 2016b).

1.7.2.2. Fenolik Bileşikler (Polifenoller)

Polifenoller olarak bilinen fenolik bileşikler bitkilerin normal gelişimleri sırasında sentezlenen sekonder (ikincil) metabolitlerdir. Çeşitli fonksiyonlara ve yapıya sahip olan bu bileşikler zayıf asidik yapıdadır. Fenolik bileşikler, aromatik halkaya bağlı bir ya da daha fazla OH' grubu içermektedir (Robards vd., 1999; Naczki ve Shahidi, 2004). Bitkilerde bulunan bu bileşikler flavonoidler ve fenolik asitler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Flavonoidler insanlar tarafından sentezlenmeyen çeşitli tıbbi bitki ve besinlerde bulunan sekonder metabolitlerin en yaygın gruplarından biridir. Bu grupta lignin, flavonoller, kumarinler, antosiyaninler, flavanoller ve tanninler gibi önemli maddeler yer almaktadır. Fenolik asitler ise bitkilerde bulunan en basit fenolik bileşen olarak bilinmekte ve bu grupta hidroksisüsamik asit ve hidroksibenzoik asit olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır. Polifenollerin yapısı, onların metal şelatlama özelliği ve radikal temizleme özelliklerinin oluşumunda önemli rol oynar. Polifenollerin antioksidan aktiviteleri, fonksiyonel gruplarına bağlı olan OH' gruplarının pozisyonuna ve sayısına bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Meral vd., 2012). Bu bileşikler kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların başlıca nedeni olan ROS'lara ve RNS'lere karşı güçlü antioksidan özellik göstermektedir (Andreasen vd., 2001; Kasnak ve Plamutoğlu, 2015). Fenolik bileşiklerin organizmalarda antioksidan olarak görev yapmaları, fenolik bileşik maddelerini içeren fonksiyonel gıda geliştirmesinde ve doğal bileşenlerin farklı ürün formülasyonlarına girmesinde büyük önem taşımaktadır (Meral vd., 2012).

1.8. Doğal Ürünler

Doğal ürünler, tarihsel olarak biyolojinin, kimyanın ve tıbbın paha biçilmez ilham kaynakları olarak kabul edilmektedir. Bu ürünler çeşitli kimyasal yapılara sahiptir ve mikroorganizmalar, hayvanlar ve bitkiler tarafından üretilmektedir (Li ve Lou, 2017). Doğal ürün üretilmesini sağlayan bitkilerin dünya genelinde tıbbi amaçlarla kullanımı eski zamanlara dayanmakta ve bitkilerin tedavide kullanılmasını belirten ilk yazılı belgenin Sümer ve Asur uygarlıklarına (M.Ö. 3000) ait olduğu bildirilmiştir. Günümüzde de bitkisel ilaçlar geleneksel tıbbın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. İnsanların geleneksel olarak kullandığı ilaçların %80'i bitkisel kaynaklıdır ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünya nüfusunun yaklaşık %65-80'inin bitkisel ürün kullandığını bildirmiştir. Tıbbi amaçla kullanılan bitkilerin tıbbi değerleri genellikle fitokimyasal içeriklerine bağlıdır. Bu fitokimyasalların en önemlileri tanenler, flavanoidler, alkaloidler ve fenolik bileşiklerdir (Arunkumar ve Muthuselvam, 2009; Padmavathi, 2013). Fenolik bileşikler, bitkilerin sekonder metabolitidir ve birçok tıbbi özellik (antioksidan, anti-enflamatuar, antikanser, kardiyoprotektif, antimikrobiyal, anti-aging vb.) gösterebilir. Bu nedenle, polifenoller ya da polifenol içeren doğal ürünler kardiyovasküler hastalıklar, yaşlanma, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi oksidatif strese bağlı hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için potansiyel ajanlar olarak kullanılmaktadır (Pandey ve Rivzi, 2009; Li vd., 2014). Son yıllarda yapılan araştırmalarda özellikle tıbbi değeri olan bitkilerden elde edilen özütlerin içerdiği metabolit ve minerallerin yanında özellikle antioksidan özelliği olan sekonder metabolitlerin de önemi vurgulanmıştır. Saflaştırılan bileşenleri ile yapılan potansiyel tedavi çalışmaları sayesinde çok sayıda tıbbi bitki türü önemli kaynaklar olarak bulunmuştur (Majid vd., 2014; Basbulbul vd., 2008). Ülkemiz, iklim özelliklerinin etkisiyle ve çeşitli topografik yapıları ile 3 floristik bölgeye sahiptir ve bu bölgeye sahip olması biyoçeşitlilik açısından zengin bir ülke olmasını sağlamaktadır (Eminağaoğlu vd., 2014; Yazıcı, 2018). Bu biyoçeşitlilik içinde ülkemizin Karadeniz Bölgesi'nde yer alan *Rhododendron luteum* cinsi de yer almaktadır.

1.8.1 *Rhododendron luteum*

Rhododendron luteum'un Ericaceae (fundagiller) familyasına dahil olduğu bilinmekte ve bu *Rhododendron* cinsinin 800' den daha fazla türü olduğu bildirilmektedir. *Rhododendron* cinsinin sistematigi Tablo 1.2'de verilmiştir.

Tablo 1. 2. *Rhododendron* cinsinin sistematığı (Aktaş, 2016).

Alem	Plantae
Bölüm	Spermatophyta
Alt bölüm	Angiospermae
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Dilleniidae
Takım	Ericales
Aille	Ericaceae
Cins	<i>Rhododendron L.</i>

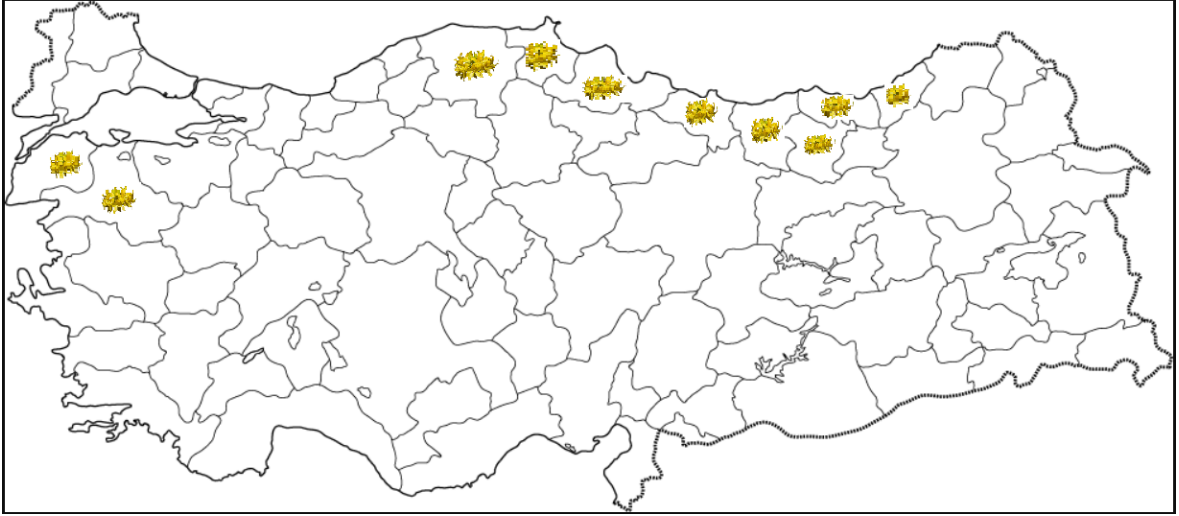
Rhododendron cinsinin bazı türlerinin yılın her mevsiminde herdem yeşil kalabilmesi ve çiçek boyutlarının büyük olması nedeniyle dünya da süs bitkisi olarak kullanılmaktadır. *Rhododendron* orman gülleri olarak bilinmekte olup genellikle Kuzey Yarım Küre'nin serin ve dağlık kısımlarında yayılış göstermektedir. Doğuda Himalaya ve Kafkas Dağlarında, Avrupada ise Alp Dağlarında geniş bir alana yayılış gösteren *Rhododendron*'un bazı türleri ülkemizde de bulunmaktadır. Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde bazı türlerinin oldukça yaygın olduğu belirtilen orman güllerinin adı halk arasında zifin ya da komar olarak bilinmektedir (Avcı, 2004; Şahin, 2019). Ülkemizin Karadeniz bölgesinin bol yağış alan dağlık kısımlarında bulunan *Rhododendron* türlerinin doğal olarak yetişen 5 türü tespit edilmiştir. Bunlar; mor çiçekli ormangülü (*Rhododendron ponticum*), kافkas ormangülü (*Rhododendron caucasicum*), pembe çiçekli ormangülü (*Rhododendron smirnowii*), beyaz çiçekli ormangülü (*Rhododendron ungerii*) ve sarı çiçekli ormangülü (*Rhododendron luteum*)'dür (Popescu ve Kopp, 2013; Sıralı ve Cınbırtoğlu, 2018).

Rhododendron luteum sarı çiçekli, boyu 4 metreye ulaşabilen ve yaprak döken çalı formundaki bir bitkidir. Halk arasında çifin, sarı ağu, eğriçiçeği ve zifin olarak adlandırılmaktadır. Sonbaharda yapraklarının kırmızı rengini alması ve çiçeklerinden ötürü *Rhododendron luteum* bahçelerde ve parklarda süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Şekil 1.9'da *Rhododendron luteum*'un gösterilmektedir (Şentürk, 2010; Sıralı ve Cınbırtoğlu, 2018).



Şekil 1. 9. *Rhododendron luteum* (Şentürk, 2010).

Ülkemizde *Rhododendron luteumun* Sinop, Çanakkale, Kastamonu, Balıkesir, Giresun, Samsun, Gümüşhane, Trabzon, Ordu ve Rize illerinde deniz seviyesinden 110 ile 2230 m yükseklikleri arasında doğal yayılış gösterdiği bildirilmiş olup bu alanlar Şekil 1.10’da Türkiye haritasında belirtilmiştir (URL-1, Mersev ve Yavuz, 2000;Şentürk, 2010; Popescu ve Kopp, 2013; Sıralı ve Cınırtoğlu, 2018).



Şekil 1. 10. *Rhododendron luteumun* Türkiye’deki yayılış bölgeleri

Ormangülü türleri geleneksel Türk tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır (Carballeira vd., 2008). *Rhododendron luteum* ağrı kesici, idrar söktürücü ve romatizma ağrılarını gidermek için kullanılmaktadır. Fakat *Rhododendron*’un bazı türlerinin grayanotoksin adı verilen zehirli bir madde taşıdığı tespit edilmiş ve zehirlenmelere sebep olmuştur. Grayanotoksin zehirlenmesi, *Rhododendron* zehirlenmesi veya deli bal

zehirlenmesi olarak adlandırılmıştır. Karadeniz Bölgesi'nde üretilen balların çoğunda grayanotoksin bulunmuştur ve grayanotoksin içeren bal "Deli Bal" olarak isimlendirilmiştir. Deli bal, halk arasında da mide ağrısı, bağırsak bozukluğu, yüksek tansiyon ve şeker hastalığı rahatsızlıklarına karşı olarak kullanılmaktadır (Popescu ve Kopp, 2013). Mahomoodally ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Rhododendron luteum*'un su, etil asetat ve metanol ekstraktları ile AChE (asetilkolinesteraz), BChE (bütürlkolinesteraz), alfa-glukozidaz ve tirozinaz gibi enzimler çalışılmış olup bu enzimlere karşı etil asetat ve metanol ekstraktlarının aktif olduğu belirtilmiştir. Ayrıca metanol ve su ekstraktlarının antioksidan içeriklerinin yüksek olduğu gözlemlenmiş olup özellikle su ekstraktının daha yüksek seviyede biyoaktif bileşiklerle ilişkili A549 hücrelerine karşı önemli antikanser etki sergilemiştir (Mahomoodally vd., 2020). Demir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Rhododendron luteum* çiçeklerinden elde edilen dimetil sülfoksitli ekstraktın normal insan fibroblast hücrelerine göre özellikle insan karaciğer ve kolon kanseri hücre serileri üzerinde seçici sitotoksik etki gösterdiğini ortaya konmuştur (Demir ve vd., 2016). Demir ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada ise *Rhododendron luteum* yapraklarının insan kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada ekstraktın kuvvetli antioksidan özelliklere sahip olduğu ve normal fibroblast hücrelerine kıyasla özellikle kolon ve karaciğer kanser hücrelerine karşı seçici sitotoksik etki sergilediği belirtilmiştir (Demir vd. 2018).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Giriş

2.1.1. Kullanılan Cihaz, Alet, Malzemeler

Gümüşhane Üniversitesi Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında bu çalışma için kullanılan cihazlar ve malzemeler Tablo 2.1’de, kullanılan kimyasal maddeler ise Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2. 1. Kullanılan cihaz, alet ve malzemeler

Kullanılan cihaz, alet ve malzemeler	Marka/Model
Buzdolabı	Beko
Etüv	Memmert
Çalkalayıcı İnkübatör	Shel Lab
Hassas Terazı	Shimadzu
Değirmen	IKA A10 Basic
Santrifüj	Allegra
Vorteks	X-30R Heidolph
Homejenizatör	IKA Ultra-Turrax T-25
Doku takibi cihazı	Thermo Scientific Excelsior
Doku gömme cihazı	Leica HistoCare Arcadia
Mikrotom	Leica RM 2255
Işık mikroskobu	Olympus BX-51; Olympus Co.
pH-metre	Hanna Instruments
Mikropleyt okuyucu	Versamax, Molecular, Devices
Manyetik Karıştırıcı	IKA RH Basic 2
96 kuyucuklu mikropleyt	Lp Italiana Spa
Çeşitli hacimlerde otomatik pipetler	Ependorf
15 mL ve 50 mL’lik steril falkon tüpleri	ISO Lab
Pleyt yıkayıcı	BioTek, Winooski USA

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Tablo 2. 2. Kullanılan kimyasal maddeler

Kullanılan Kimyasal Maddeler	Satın alınan firma
BCA Protein Kiti	Thermo Scientific Pierce
Cisplatin	Sigma Aldrich
H ₃ PO ₄	Sigma Aldrich
TBA	Sigma Aldrich
Asetik asit	Sigma Aldrich
1,1,3,3-tetrametoksipropan	Sigma Aldrich
HCl	Sigma Aldrich
H ₂ SO ₄	Sigma Aldrich
SOD ELISA kiti	USCN, Cat No: SES134Ra
CASP3 ELISA kiti	USCN, Cat No: SEA626Ra
TNF- α ELISA kiti	USCN, Cat No: SEA133Ra
8-OHdG ELISA kiti	USCN, Cat No: CEA660Ra
GSH ELISA kiti	USCN, Cat No: CEA294Ge
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma Alrich 41640
TOS -TAS Kiti	Rel Assay

2.2. Metod

2.2.1. *Rhododendron luteum* Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Rhododendron luteum'un yaprakları oda sıcaklığında 10 gün boyunca kurutuldu. Kuruyan yapraklar laboratuvar değirmeni yardımıyla toz haline getirildi. Elde edilen toz halindeki örnekler deney aşamasına kadar 50 ml'lik falkon tüplerinde -20 °C de saklandı.

Deney aşamasında toz halindeki örneklerden 5 farklı falkon tüpü için 1'er g alındı ve 20'şer mL DMSO ile karıştırıldı. Karışım iyice vortekslelendikten sonra 45 °C'de 150 rpm'de sürekli çalkalanarak 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımları filtre kağıdı ile süzüldü (Demir vd., 2016). Elde edilen süpernatant kısımlarından DMSO'yu uzaklaştırmak için liyofilizatör kullanıldı. Elde edilen ekstraktlar, deneysel uygulamalar yapılana kadar -20 °C sıcaklıkta

tutuldu (Mammadov vd., 2011; Rakhimzhanova vd.,2018). Deneysel aşamalarda ise ekstraktlar DMSO ile çözümlenip taze şekilde kullanıldı.

2.2.2. Deney Hayvanları Uygulamaları

Araştırmada kullanılan deney hayvanları 200-250 gram ağırlığında 8 haftalık dişi Wistar Albino cinsi olup KTÜ Cerrahi Araştırma Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Ratlar rastgele gruplara ayrılarak her grupta 6 adet rat olacak şekilde 5 ayrı kafese yerleştirildi. Tüm ratlar deney süresi boyunca optimum koşullarda (ışık periyodu;12 saat aydınlık 12 saat karanlık, uygun havalandırma sistemi, bağıl nem oranı; %40-60, ısı;21±1°C) ortamda sakrifiye edilinceye kadar KTÜ Deney Hayvanları laboratuvarında barındırıldı. Deney hayvanlarının beslenmesinde hazır pelet yem kullanıldı ve su *ad libitum* olarak verildi (Palipoch vd., 2013; Dhima vd., 2019). Ratlar rastgele seçim ile aşağıdaki gibi gruplandırıldı. KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'undan gerekli izin alınmış olup ek'te sunulmuştur.

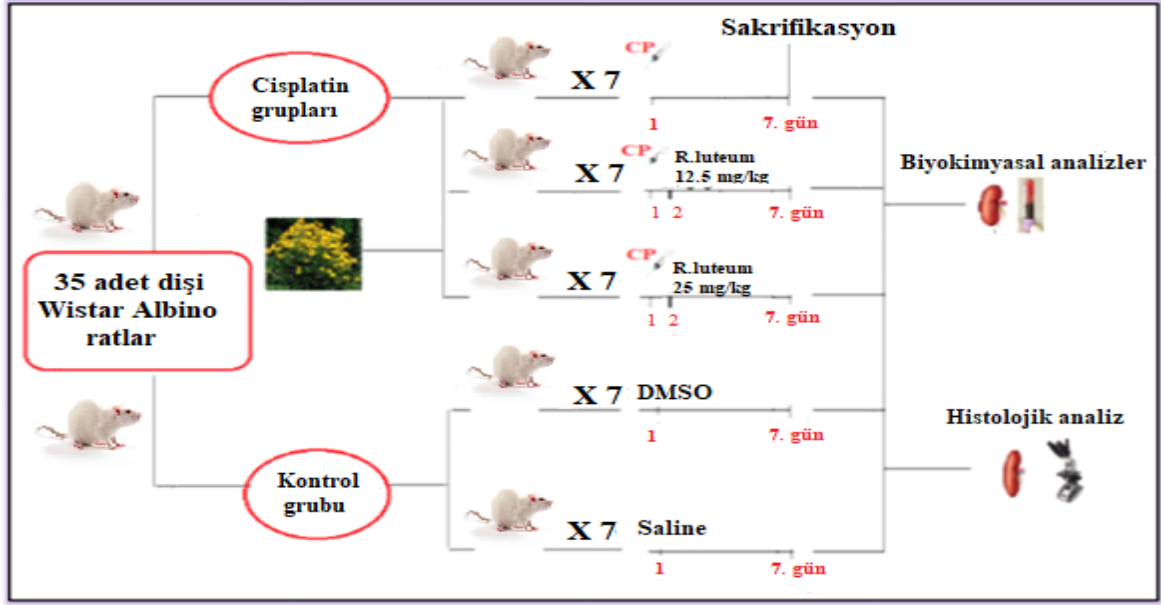
Deney Grupları

- 1) **Kontrol Grubu (n=6):** Bu grubun deney hayvanlarına 6 gün boyunca günde tek doz olmak üzere serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak verildi.
- 2) **Çözücü Kontrol Grubu (n=6):** Bu gruptaki hayvanlara 6 gün boyunca günde tek doz olmak üzere olan 0.5'er mL DMSO (*Rhododendron luteum* ve cisplatinin çözücüsü) i.p. yolla verildi.
- 3) **Cisplatin Grubu (n=6):** Bu gruptaki hayvanlara 1. gün tek doz olacak şekilde 7.5 mg/kg konsantrasyonda cisplatin ve 5 gün boyunca serum fizyolojik 0.5 mL enjeksiyon hacminde i.p. yolla verildi.
- 4) ***Rhododendron luteum* +Cisplatin Grubu (n=6):** Bu grubun deney hayvanlarına 1. gün tek doz olacak şekilde cisplatin 7.5 mg/kg konsantrasyonda 0.5 mL enjeksiyon hacminde i.p. olarak verildi. Diğer 5 gün boyunca günde tek doz olacak şekilde 0.5 mL enjeksiyon hacminde *Rhododendron luteum* ekstraktından 12,5 mg/kg konsantrasyonda i.p. olarak verildi.

5) ***Rhododendron luteum* +Cisplatin Grubu (n=6)**: Bu grubun deney hayvanlarına 1. gün tek doz olacak şekilde cisplatin 7.5 mg/kg konsantrasyonda 0.5 mL enjeksiyon hacminde i.p. olarak verildi. Diğer 5 gün boyunca günde tek doz olacak şekilde 0.5 mL enjeksiyon hacminde *Rhododendron luteum* ekstraktından 25 mg/kg konsantrasyonda i.p. olarak verildi (Jamshidzadeh vd., 2016; Alibakhshi vd., 2018). Şekil 2.1’ de ratlara intraperitoneal uygulama gösterilmiştir. Çalışmanın grafiksel özeti Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

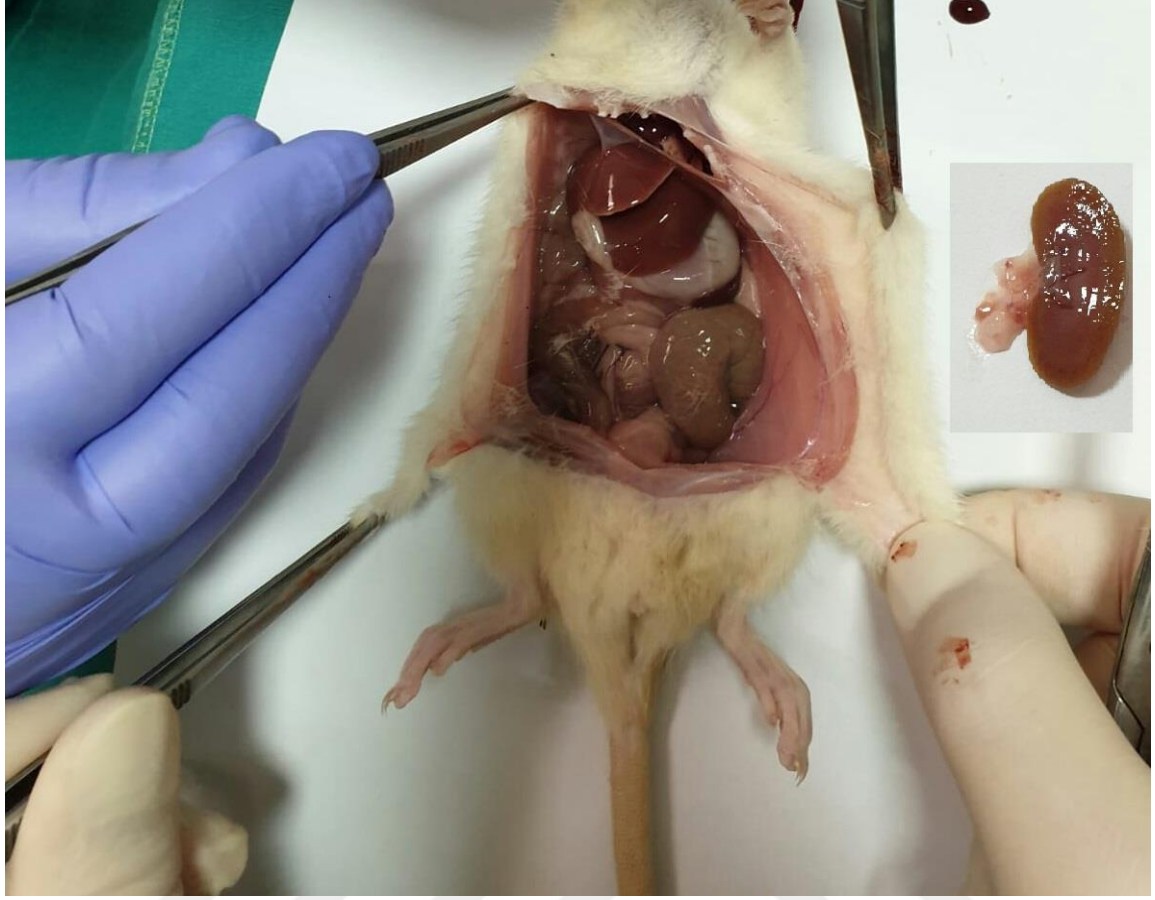


Şekil 2. 1. Ratlara i.p. uygulama



Şekil 2. 2. Deney hayvanları çalışmasının grafiksel özeti

Bütün hayvanlara genel anestezi için 5 mg/kg ksilazin ile 50 mg/kg ketamin hidroklorür kombinasyonu kullanıldı ve i.p. yolla tatbik edildi. Daha sonra anestezi altındaki hayvanlar dekapite edilerek böbrek dokusu ve kan örnekleri alındı. Şekil 2.3'te böbreğin ratlardan çıkarımı ve makroskobik görüntüsü verilmiştir.



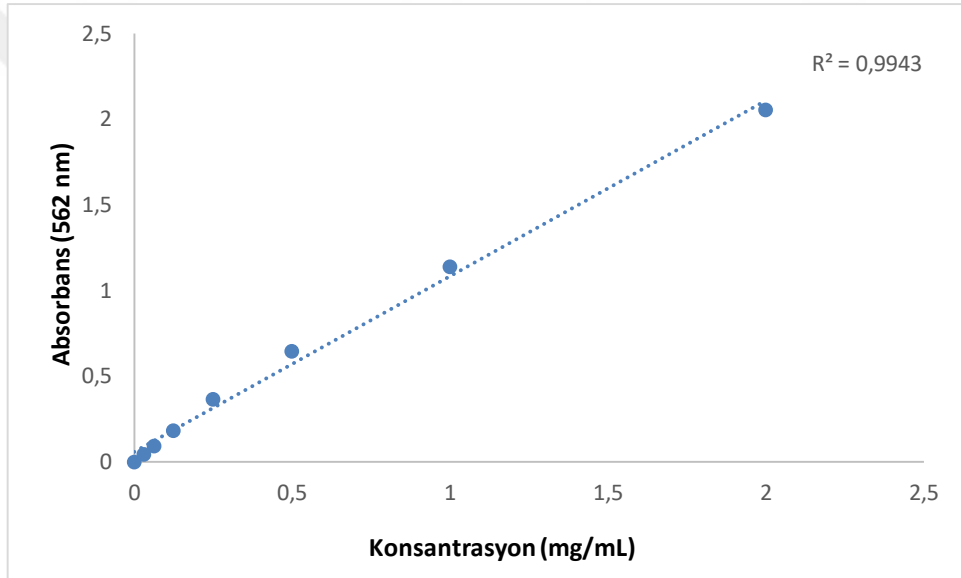
Şekil 2. 3. Böbreğin ratlardan çıkarımı ve makroskobik görünümü

Ratlardan alınan kan örnekleri seperatör jelli biyokimya tüpüne alındı ve oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Bu örneklerin pıhtılaşmalarının ardından tüpler 1800×g'de 10 dakika santrifüj edildi ve serum kısımları dikkatlice kapaklı mikro hacimli tüplere aktararak çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı. -80°C'de muhafaza edilen serum örnekleri çalışma günü oda sıcaklığına getirilerek çözünmeleri sağlandı ve çözülen örnekler vorteks yardımıyla homojen hale getirildi ve biyokimyasal parametrelerin ölçümü için hazır hale getirildi.

Ratlardan alınan her bir böbrek dokusu örneğinden yaklaşık olarak 100'er mg'lık kesimler yapılarak dokuların homejenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25, Staufen im Breisgau, Almanya) ile 2 mL fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) içerisinde 9500 rpm'de homojenize edildi ve homojenatlar 10 dakika 1800xg'de santrifüj edildi. Çalışma parametrelerinin ölçümü santrifüjden elde edilen süpernatantlarla gerçekleştirildi.

2.2.3. Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Böbrek doku örneklerinin protein miktarları üretici firmanın belirlemiş olduğu basamaklar izlenip ticari kit (Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit, Cat No: 23227, Rockford, IL, ABD) kullanılarak belirlendi ve elde edilen sonuçlar Şekil 2.4'te bulunan albümin standart grafiği kullanılarak mg/mL cinsinden hesaplanıp verildi. Dokular ile yapılan biyokimyasal parametrelerin (malondialdehit (MDA) ve ELISA kitleri kullanılarak) standardize olması için örneklerden elde edilen protein miktarlarına oranlanarak mg protein başına olacak şekilde verildi.



Şekil 2. 4. Doku protein ölçümünde kullanılan standart grafiği

2.2.4. Doku MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

MDA ölçümü, Mihara ve Uchiyama yönteminin modifiye edilmesi ile gerçekleştirildi ve metot asidik ortamda MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu molekülün renginin 532 nm'deki absorbansının ölçülmesi ile belirlenmektedir (Mihara ve Uchiyama, 1978).

Doku MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

1) Doku homojenizasyon tamponu (0.01 M fosfat tampon çözeltisi (PBS), pH: 7.4): PBS tabletleri (10 adet) bir beher içerisine alınarak üzerlerine yaklaşık 900 mL saf su eklendi ve

çözülmesi sağlandı. pH metrede yardımı ile çözeltinin pH'sı, 7.4'e ayarlanıp son hacim 1 L'ye tamamlandı.

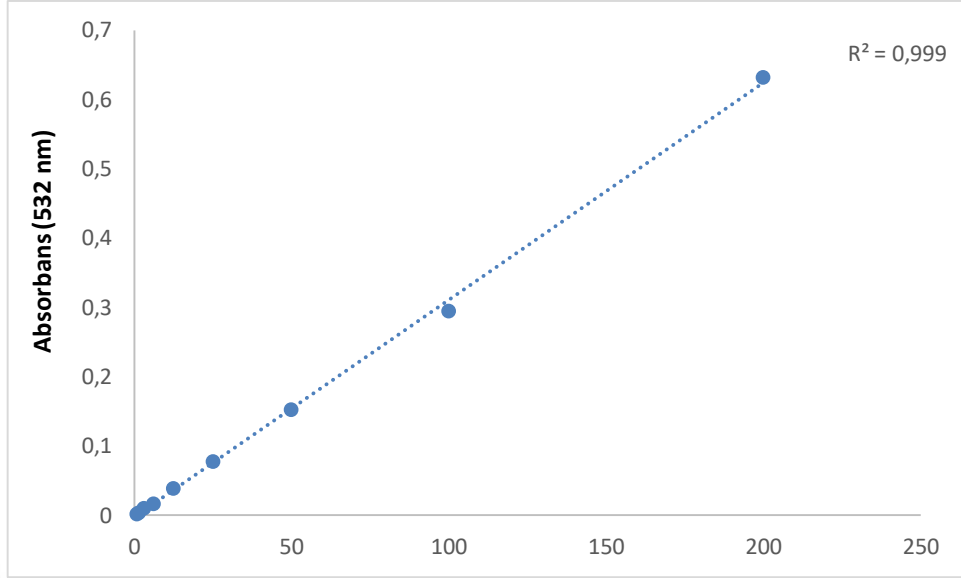
2) %1'lik H₃PO₄ çözeltisi: 250 mL'lik bir bolon jojenin içinde bulunan saf su üzerine 2.94 mL %85'lik H₃PO₄ pipetlendi ve son hacim saf su yardımıyla 250 mL'ye tamamlandı.

3) TBA çözeltisi: 0.67 g TBA tartılıp bir behare alındı ve üzerine 50 mL saf su ve 50 mL asetik asit eklenerek magnetik bar yardımıyla çözünmesi sağlandı.

4) Standart çözeltiler: 1,1,3,3 tetrametoksiopropan'dan 82.5 µL alınarak 0.01 M 50 mL HCl çözeltisine ilave edildi ve çözelti 1 saat 50°C'de inkübe edildi. Hazırlanan bu ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda seyreltmeler yapıldı ve standart çözeltiler (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625 ve 0.078 nmol/mL'lik) ve kör hazırlandı.

2.2.4.1. Doku MDA Ölçümü:

- Homojenatlardan cam tüplere 500 µL alındı ve örneklere %1'lik H₃PO₄'dan 3 mL eklenerek vortekslendi.
- Karışıma %0.672'lik TBA'dan 1 mL eklenip vortekslendikten sonra 60 dakika kaynar su banyosunda inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon süresi sonunda cam tüpler oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve ardından 10 dakika 1800xg'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonucunda elde edilen örnek ve standart süpernatantlarından 96 kuyucuklu pleyte 200'er µL alınıp yüklendi ve mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı. Konsantrasyona karşı elde edilen standartların absorbansları grafiğe geçirildi ve MDA standart grafiği çizildi (Şekil 2.5). Elde edilen grafikten ve dokulardaki protein miktarından yararlanılıp doku MDA düzeyleri nmol MDA/mg protein olarak hesaplandı.



Şekil 2. 5. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

2.2.5. Serum MDA Düzeylerinin Belirlenmesi

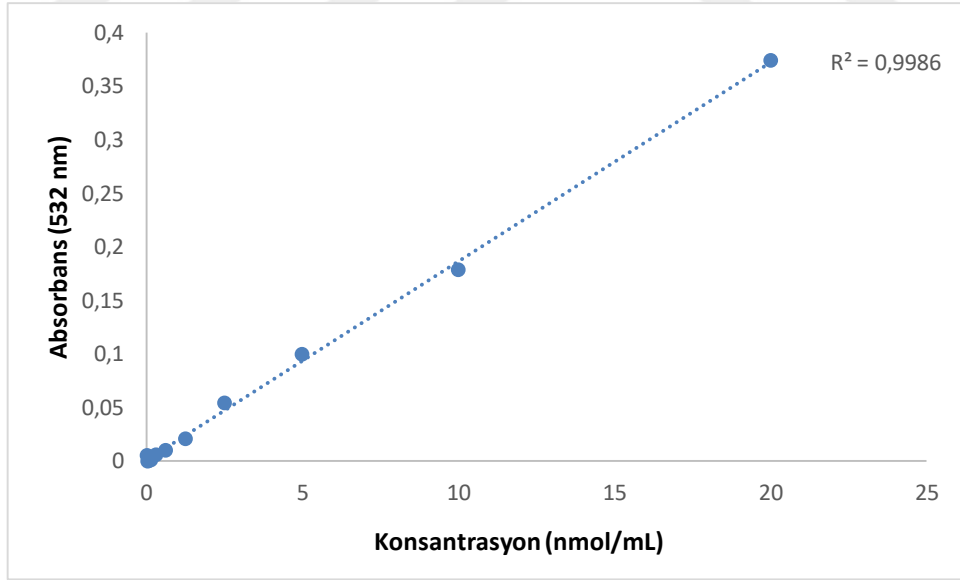
Yağı tarafından geliştirilen TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substance) metodu kullanılarak serum örneklerindeki MDA düzeyleri belirlendi (Yağı, 1984)

Serum MDA Ölçümünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması:

- 1) 0.084 N Sülfürik Asit (H_2SO_4):** %97'lik H_2SO_4 'den 577 μL alındı ve balon jojeye aktarıldı. Hacim deiyonize suyla 250 mL'ye tamamlandı.
- 2) %10'luk Fosfotungstik Asit ($H_3(W_3O_{10}) \cdot 4H_2O$):** Fosfotungstik asitten 5.55 g tartılıp 50 mL deiyonize suda çözüldü.
- 3) Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi:** TBA'dan 0.67 g tartıldı ve manyetik bar olan bir behere alındı. Üzerine 50 mL asetik asit ve 50 mL saf su eklenerek çözüldü.
- 4) Standart çözeltiler:** 1,1,3,3 tetrametoksipropandan 82.5 μL alındı ve 0.01 M 50 mL HCl çözeltisine ilave edildi. Elde edilen çözelti 1 saat boyunca 50°C'de inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu ana stok çözeltisinden çeşitli oranlarda seyreltmeler yapıldı ve standart çözeltiler (20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.3125, 0.156, 0.078, 0.039 ve 0.0195 nmol/mL'lik) ve kör hazırlandı.

2.2.5.1. Serum MDA Ölçümü

- Cam tüplerine serum örneklerinden 150'şer μL eklendi ve ardından 1200'er μL H_2SO_4 ve 150'şer μL fosfotungistik asit eklenip vortekslenildi ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.
- Çözelti 10 dakika süreyle 1500 g'de santrifüj edildi ve elde edilen üst fazlar atıldı.
- Cam tüplerde kalan çökelek kısımlarının üzerine 2'şer mL saf su eklenerek çözünmesi için vortekslenildi.
- Her bir numuneye 500'er μL TBA eklendi ve 1 saat 100°C 'de inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyonun sonrasında cam tüpler 10 dakika 1000 g'de santrifüjlendi.
- Üst tarafta elde edilen berrak kısımlardan 96 kuyucuklu pleyte 200'er μL alındı ve mikropleyt okuyucu spektrofotometre yardımıyla 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen standartların absorbansları konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi ve MDA standart grafiği çizildi (Şekil 2.6) serum MDA miktarı bu grafikten yararlanılarak nmol/mL olarak belirlendi.



Şekil 2. 6. Serum MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

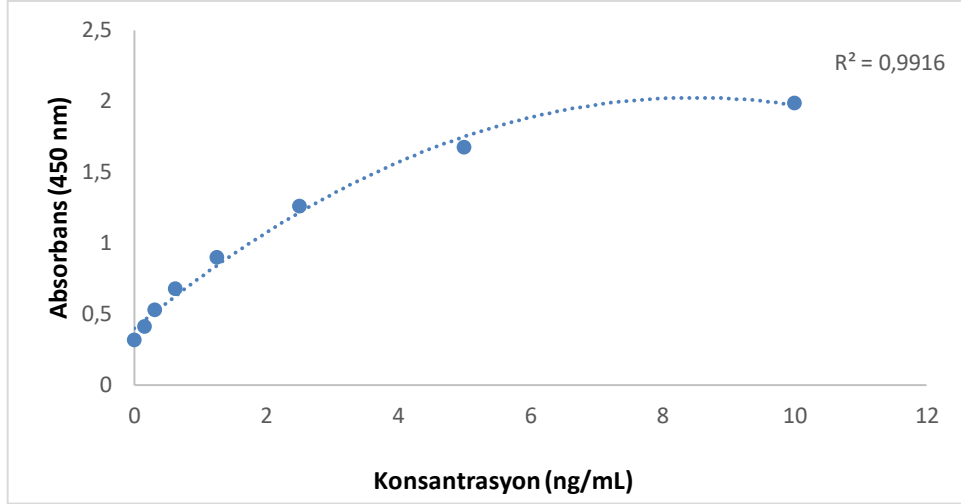
2.2.6. Doku ve Serum Örneklerindeki SOD Seviyelerinin Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerinin SOD seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyime-linked immunosorbent assay (ELISA) kit kullanılarak belirlendi. Bunun için Tablo 2.3.'de verilen işlemler sırasıyla 96'lık elisa pleyt içinde gerçekleştirildi:

Tablo 2.3. SOD aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler

Reaktifler	Numune	Standart
Numune	100 µL	-
Standart	-	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyon ardından pleytte bulunan sıvı kısımlar pleyt yıkayıcı yardımıyla aspirasyon ile uzaklaştırıldı.		
Biyotinle işaretli antikor çözeltisi	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 3 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
Streptavidin-HRP	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 5 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
TMB substrat çözeltisi	90 µL	90 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 15 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından referans dalga boyunda (620 nm) ölçüm yapıldı ve en yüksek standartdın optik yoğunluğu 0.9-0.95'e ulaşması beklendi.		
Stop çözeltisi	50 µL	50 µL
Pleyt 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.		

Elde edilen veriler doğrultusunda standart konsantrasyonlarına karşı absorpsiyon değerleri kullanıldı ve Şekil 2.7'de verilen standart eğri grafiği oluşturuldu. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki SOD seviyeleri hesaplandı. Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein birimiyle serum örneklerinin sonuçları ise ng/mL birimiyle verildi.



Şekil 2. 7. SOD ölçümünde kullanılan standart grafiği

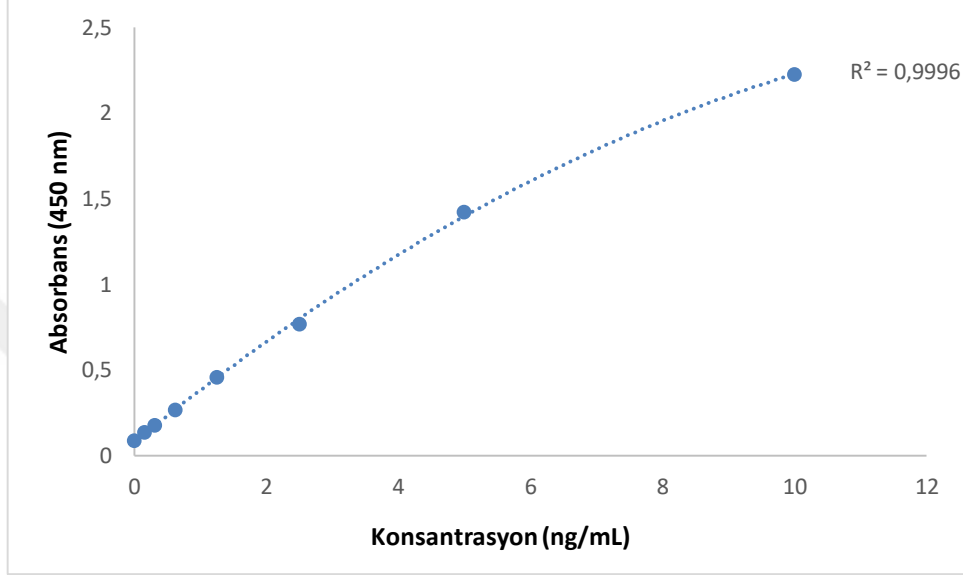
2.2.7. Doku ve Serum Örneklerindeki CASP3 Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin CASP3 seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit kullanılarak belirlendi. Bunun için Tablo 2.4.'de verilen işlemler sırasıyla 96'lık elisa pleyt içinde gerçekleştirildi:

Tablo 2. 4. CASP3 aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler

Reaktifler	Numune	Standart
Numune	100 µL	-
Standart	-	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyon ardından pleytte bulunan sıvı kısımlar pleyt yıkayıcı yardımıyla aspirasyon ile uzaklaştırıldı.		
Biyotinle işaretli antikor çözeltisi	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 3 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
Streptavidin-HRP	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 5 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
TMB substrat çözeltisi	90 µL	90 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 15 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından referans dalga boyunda (620 nm) ölçüm yapıldı ve en yüksek standartdın optik yoğunluğu 0.9-0.95'e ulaşması beklendi.		
Stop çözeltisi	50 µL	50 µL
Pleyt 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.		

Elde edilen veriler doğrultusunda standart konsantrasyonlarına karşı absorbens değerleri kullanıldı ve Şekil 2.8’de verilen standart eğri grafiği oluşturuldu. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki CASP3 seviyeleri hesaplandı. Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein birimiyle serum örneklerinin sonuçları ise ng/mL birimiyle verildi.



Şekil 2. 8. CASP3 ölçümünde kullanılan standart grafiği

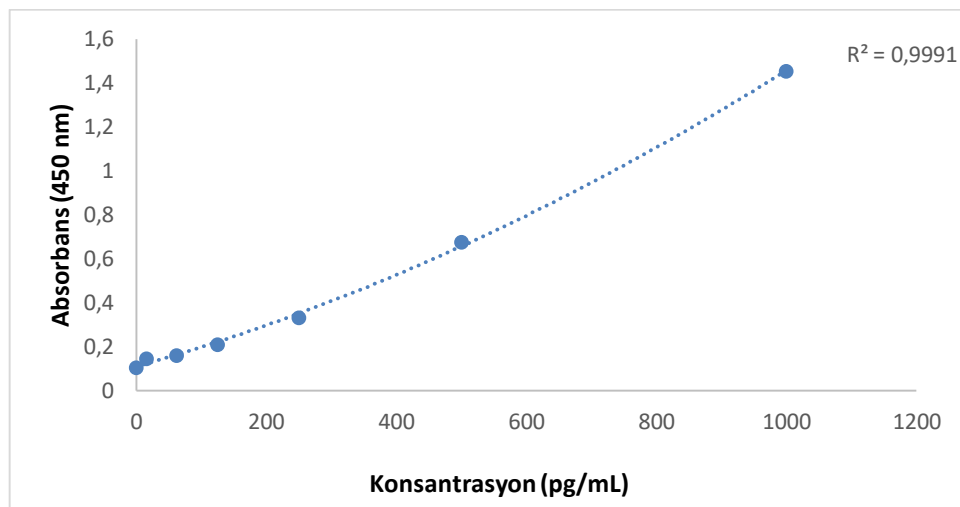
2.2.8. Doku ve Serum Örneklerindeki TNF- α Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin TNF- α seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit kullanılarak belirlendi. Bunun için Tablo 2.5.’de verilen işlemler sırasıyla 96’lık elisa pleyt içinde gerçekleştirildi:

Tablo 2. 5. TNF- α aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler

Reaktifler	Numune	Standart
Numune	100 μ L	-
Standart	-	100 μ L
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyon ardından pleytte bulunan sıvı kısımlar pleyt yıkayıcı yardımıyla aspirasyon ile uzaklaştırıldı.		
Biyotinle işaretli antikor çözeltisi	100 μ L	100 μ L
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 3 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
Streptavidin-HRP	100 μ L	100 μ L
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 5 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
TMB substrat çözeltisi	90 μ L	90 μ L
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 15 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından referans dalga boyunda (620 nm) ölçüm yapıldı ve en yüksek standartdın optik yoğunluğu 0.9-0.95'e ulaşması beklendi.		
Stop çözeltisi	50 μ L	50 μ L
Pleyt 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.		

Elde edilen veriler doğrultusunda standart konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri kullanıldı ve Şekil 2.9'da verilen standart eğri grafiği oluşturuldu. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki TNF- α seviyeleri hesaplandı. Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein birimiyle serum örneklerinin sonuçları ise ng/mL birimiyle verildi.



Şekil 2. 9. TNF- α ölçümünde kullanılan standart grafiği

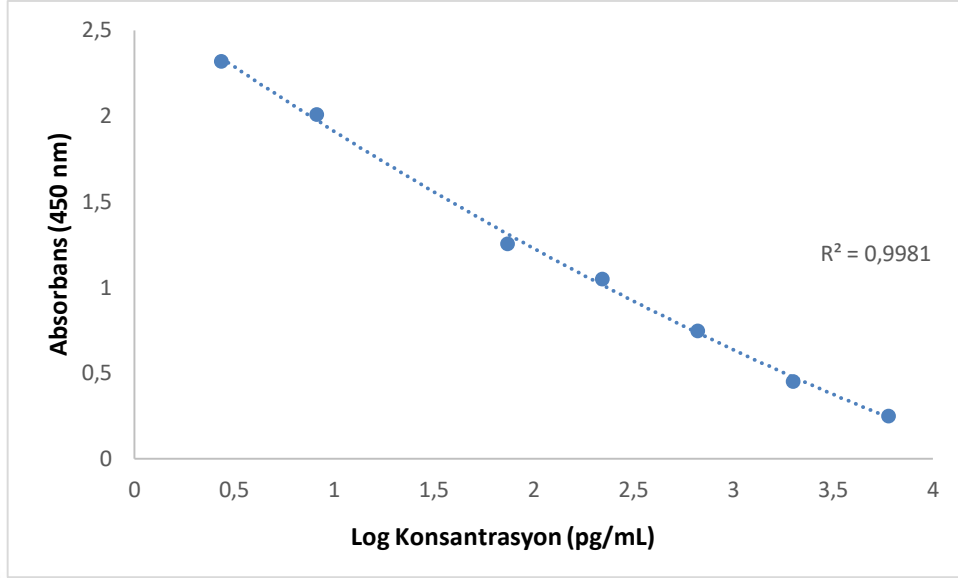
2.2.9. Doku ve Serum Örneklerindeki 8-OHdG Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin 8-OHdG seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit kullanılarak belirlendi. Bunun için Tablo 2.6.'da verilen işlemler sırasıyla 96'lık elisa pleyt içinde gerçekleştirildi:

Tablo 2. 6. 8-OHdG aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler

Reaktifler	Numune	Standart
Numune	50 µL	-
Standart	-	50 µL
Tespit reaktifi A	50 µL	50 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 3 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
Tespit reaktifi B	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 5 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
TMB substrat çözeltisi	90 µL	90 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 15 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından referans dalga boyunda (620 nm) ölçüm yapıldı ve en yüksek standartdın optik yoğunluğu 0.9-0.95'e ulaşması beklendi.		
Stop çözeltisi	50 µL	50 µL
Pleyt 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.		

Elde edilen veriler doğrultusunda standart konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri kullanıldı ve Şekil 2.10'da verilen standart eğri grafiği oluşturuldu. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki 8-OHdG seviyeleri hesaplandı. Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein birimiyle serum örneklerinin sonuçları ise ng/mL birimiyle verildi.



Şekil 2. 10. 8-OHdG ölçümünde kullanılan standart grafiği

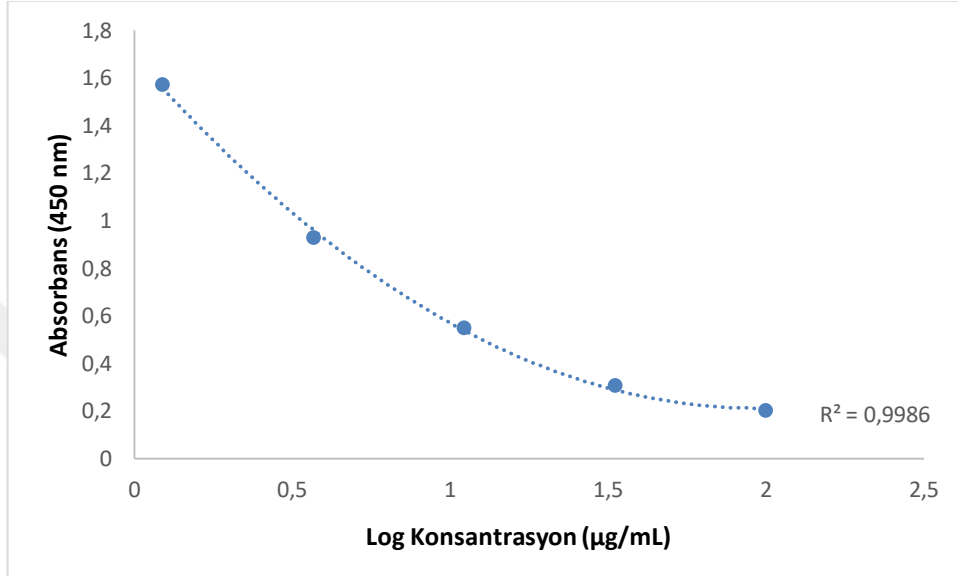
2.2.10. Doku ve Serum Örneklerindeki GSH Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin GSH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit kullanılarak belirlendi. Bunun için Tablo 2.7.'de verilen işlemler sırasıyla 96'lık elisa pleyt içinde gerçekleştirildi:

Tablo 2. 7. GSH aktivitesinin belirlenmesi için gerekli olan işlemler

Reaktifler	Numune	Standart
Numune	50 µL	-
Standart	-	50 µL
Tespit reaktifi A	50 µL	50 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 1 saat çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 3 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
Tespit reaktifi B	100 µL	100 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 30 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından yıkama tamponu ile pleyt 5 defa yıkandı ve kuyularda bulunan artık yıkama tamponu uzaklaştırıldı.		
TMB substrat çözeltisi	90 µL	90 µL
Pleyt folyo ile kapatılıp 37°C'de 15 dakika çalkalayıcıda inkübasyona bırakıldı.		
İnkübasyonun ardından referans dalga boyunda (620 nm) ölçüm yapıldı ve en yüksek standartdın optik yoğunluğu 0.9-0.95'e ulaşması beklendi.		
Stop çözeltisi	50 µL	50 µL
Pleyt 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.		

Elde edilen veriler doğrultusunda standart konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri kullanıldı ve Şekil 2.11’de verilen standart eğri grafiği oluşturuldu. Bu grafik kullanılarak numunelerdeki GSH seviyeleri hesaplandı. Doku örneklerinin sonuçları ng/mg protein birimiyle serum örneklerinin sonuçları ise ng/mL birimiyle verildi.



Şekil 2. 11. GSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

2.2.11. Toplam Oksidan Durumun (TOS) Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerinin TOS seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda kolorimetrik kit kullanılarak belirlendi ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L birimiyle verildi.

2.2.12. Toplam Antioksidan Durumun (TAS) Belirlenmesi

Serum ve doku örneklerinin TAS seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda kolorimetrik kit kullanılarak belirlendi ve sonuçlar mmol troloks eşdeğeri/L birimiyle verildi.

2.2.13. Oksidatif Stres İndekslerinin (OSI) Hesaplanması

Serum ve doku örneklerindeki OSI seviyeleri aşağıdaki denklem formülü kullanılarak hesaplandı (Yuluğ vd., 2014).

$$\text{OSI} = \left[\frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}}{\text{TAS, } \mu\text{mol troloks eşdeğeri/L}} \right] \times 100 \quad (2.1)$$

2.2.14. Histopatolojik İnceleme

Tüm gruptaki ratdan histopatolojik inceleme için alınan böbrek dokuları tespit amacıyla içinde % 10 luk formolin bulunan numaralandırılmış kavanozlara konuldu. Tespit işleminden sonra tüm dokular, otomatik doku takibi cihazında rutin histolojik doku takibine alındı. Doku takibinin ardından dokular, doku gömme cihazı yardımıyla parafin bloklar haline getirildi. Her bir parafin bloktan ile lam üzerine 5 µmlik seri kesitler alındı. Lam üzerindeki kesitler hematoxilen eozin (H&E) ile boyandı ve ışık mikroskopunda histopatolojik açıdan değerlendirilerek mikroskoba entegre kamera ile fotoğrafları çekildi. Her preparatta rastgele seçilen 5 farklı alan değerlendirilerek histopatolojik açıdan skorlandı. Bowman boşluğu ve/veya glomerüllerde dejenerasyon, proksimal, distal tubul dejenerasyonu ve/veya cast formasyonu oluşumu ve vasküler konjesyon ve/veya interstisyel ödem böbrek hasarının 3 gösterge kriteri olarak belirlendi. Her bir preparat, her bir kriter için 0 ile 3 arasında (0:hasar yok, 1:hafif hasar, 2:orta hasar, 3: ciddi hasar) değerler verilerek total skor 9 olmak üzere skorlandı (İşeri ve ark. 2007).

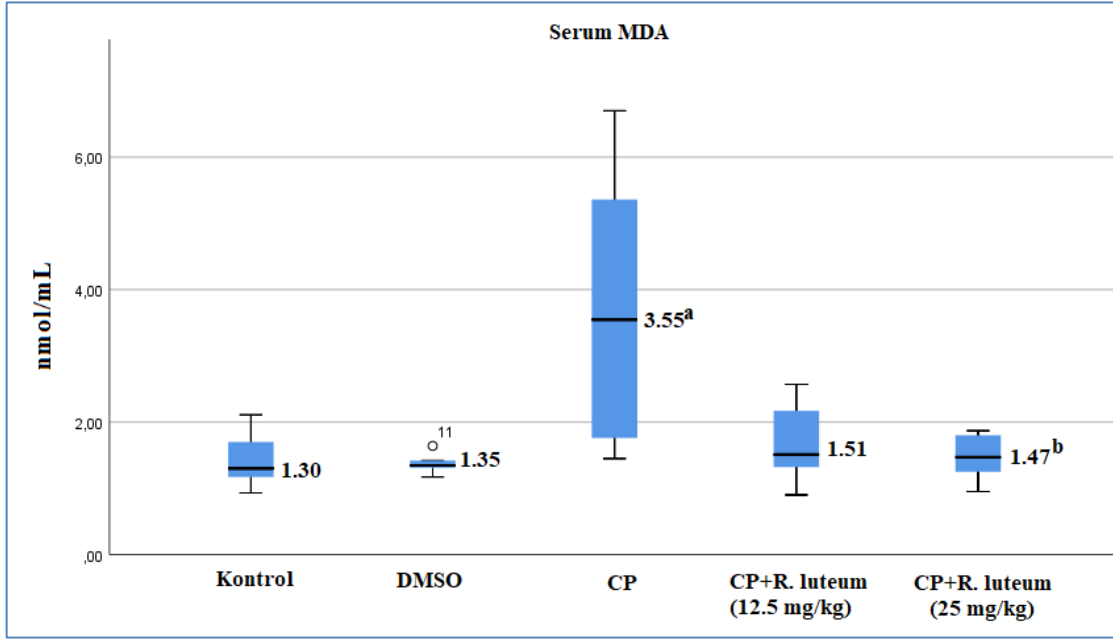
2.2.15. İstatiksel Analiz

Çalışmada 5 farklı deney grubu bulunmakta ve her grupta bulunan 6 deney hayvanına ait olan biyokimyasal parametrelerine ait sonuçlar SPSS 23.0 (SSPS Inc., Chicago, IL) paket programına yüklenerek istatistiksel analizler gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygunluk göstermediği belirlenen veriler önce Kruskal-Wallis varyans analizi ve ardından post-hoc Mann-Whitney-U testine tabi tutuldu. Veriler medyan (ortanca) ve %25-%75'lik çeyreklikler (Interquartile range (IQR); Çeyrekler açıklığı) şeklinde ifade edildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.BULGULAR

3.1. Malondialdehit (MDA) Seviyeleri

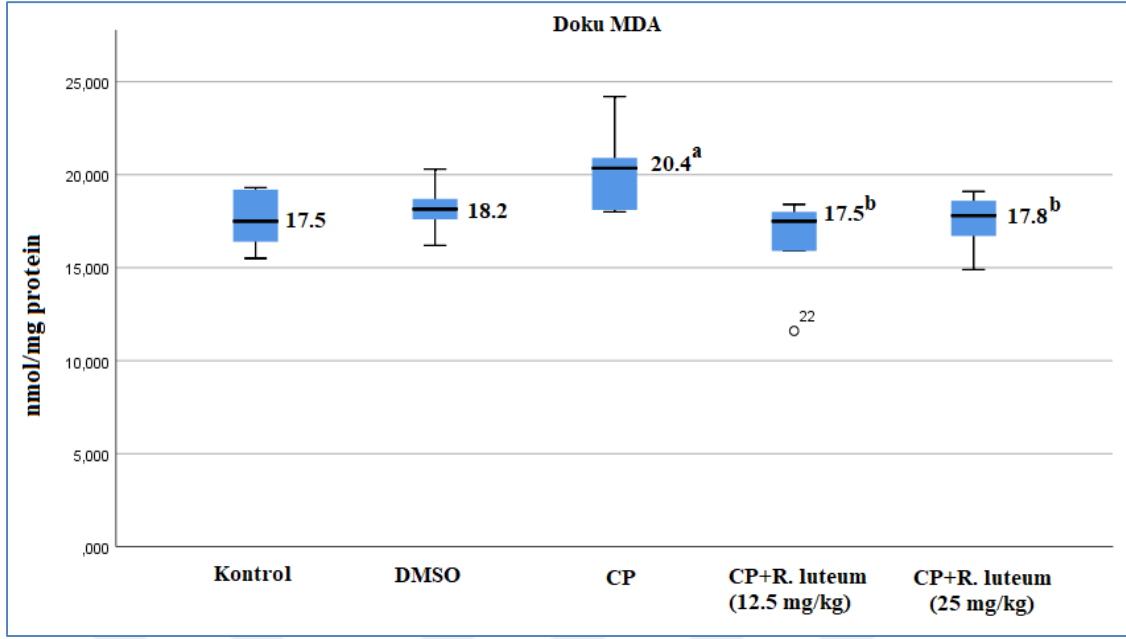
Deney gruplarından elde edilen doku ve serum örnekleri MDA yöntemi ile değerlendirilip Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de verildi.



Şekil 3. 1. Serum örneklerinin MDA değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Serum MDA: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.016$; CP grubu ile CP+R. luteum (25 mg/kg) $p = 0.037$



Şekil 3. 2. Doku örneklerinin MDA değerleri

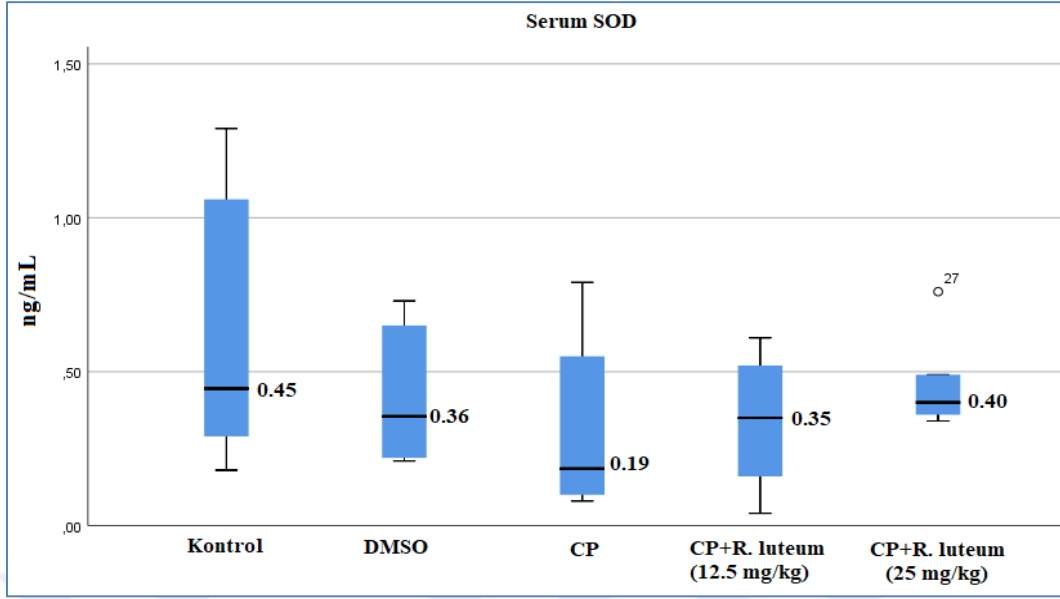
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku MDA: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.025$; CP grubu ile CP+R. luteum (12.5 mg/kg) $p = 0.013$, CP+R. luteum (25 mg/kg) $p = 0.039$

MDA değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Serum ve doku örneklerinde kontrol ve cisplatin grubu değerlendirildiğinde cisplatin grubunun serum ve doku örneklerinde MDA seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup, tedavi gruplarının cisplatin grubuna göre MDA seviyelerinin anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi.

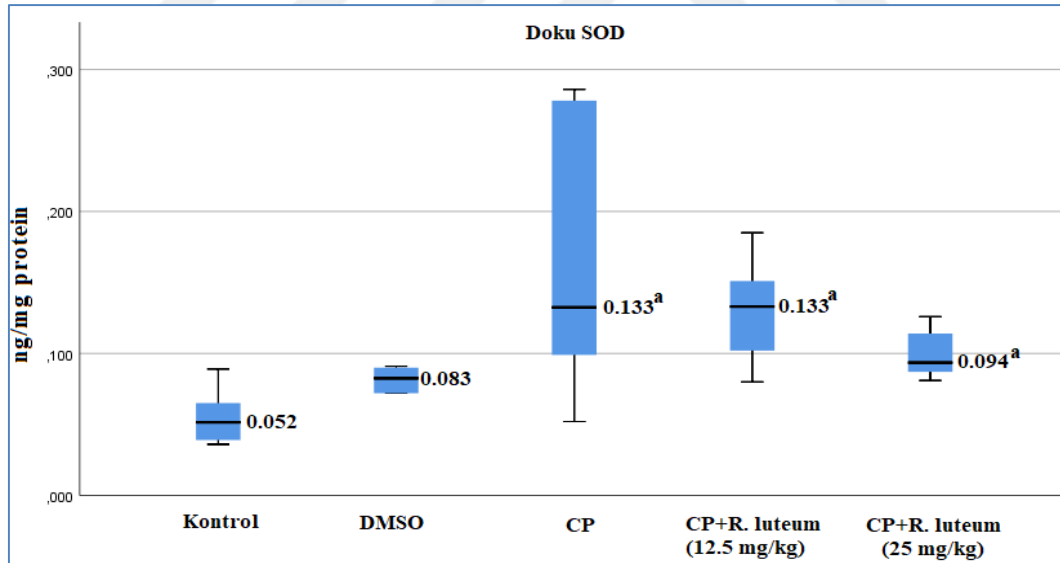
3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Seviyeleri

Deney gruplarından elde edilen serum ve doku örneklerinin SOD düzeylerinin buguları Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te verildi.



Şekil 3. 3. Serum örneklerinin SOD değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$) kabul edildi.



Şekil 3. 4. Doku örneklerinin SOD değerleri

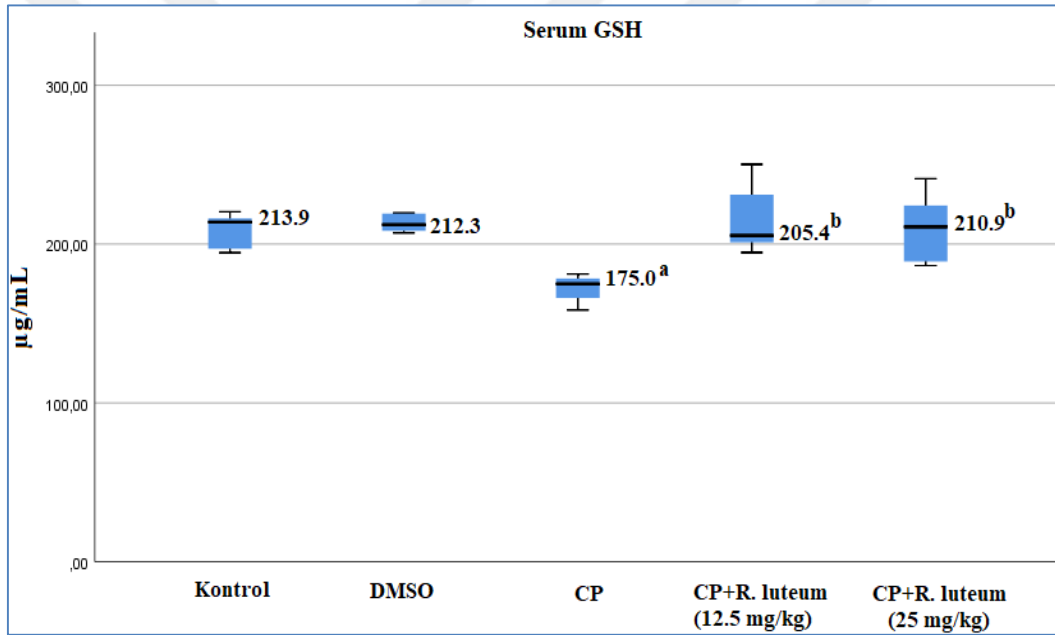
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$) kabul edildi.

Doku SOD: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.016$, CP+R. luteum (12.5 mg/kg) $p=0.006$, CP+R. luteum (25 mg/kg) $p=0.016$

SOD değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Kan rneklelerinin grup karşılaştırılmasında hiçbir anlamlı fark görülmedi. Doku rneklelerinin de ise kontrol grubu ile cisplatin grubu ve *R. luteum* grupları karşılaştırıldığında bu grupların SOD seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup *R. luteum* grubunun cisplatin grubuna göre SOD seviyeleri değerlendirildiğinde anlamlı bir fark görülmedi.

3.3.İndirgenmiş Glutatyon (GSH) Seviyeleri

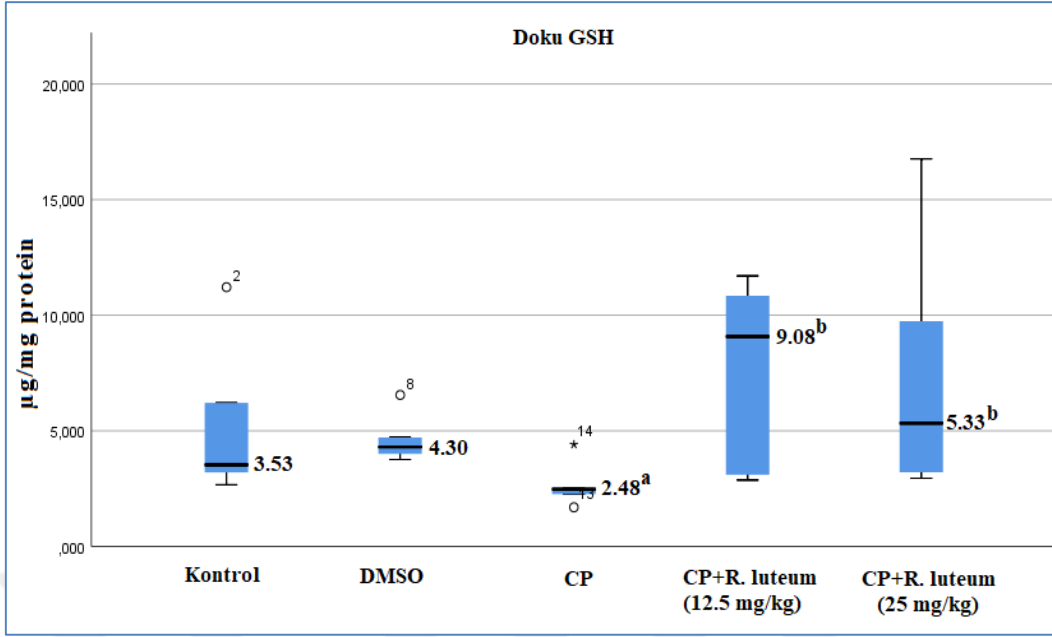
Deney gruplarından elde edilen doku ve serum rneklelerinin GSH düzeylerinin buguları şekil 3.5 ve şekil 3.6'da verildi.



şekil 3. 5. Serum rneklelerinin GSH değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Serum GSH: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.004$; CP grubu ile CP+R. *luteum* (12.5 mg/kg) $p=0.004$, CP+R. *luteum* (25 mg/kg) $p=0.004$



Şekil 3. 6. Doku örneklerinin GSH değerleri

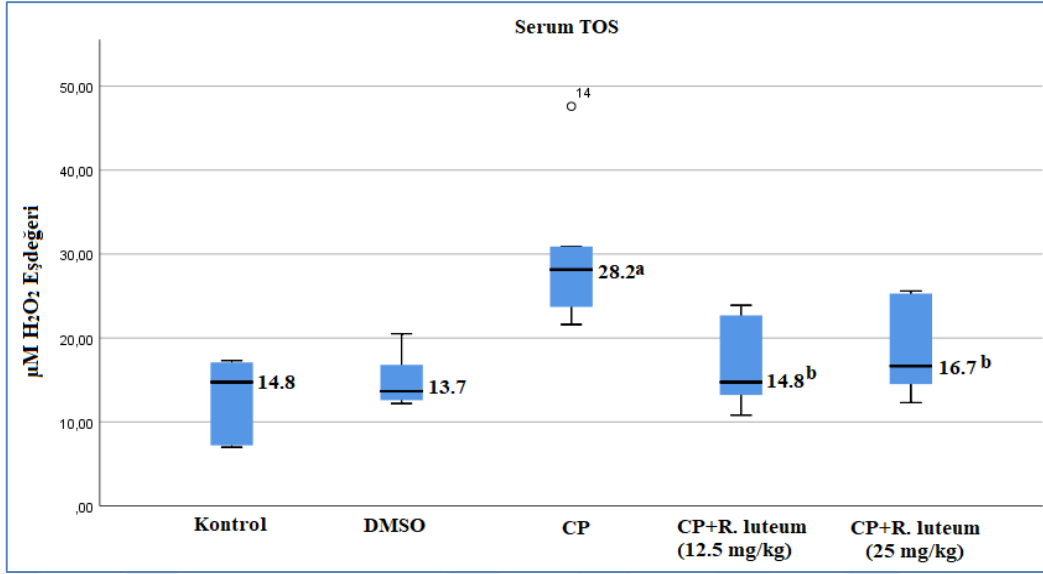
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku GSH: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.025$; CP grubu ile CP+R. *luteum* (12.5 mg/kg) $p = 0.01$, CP+R. *luteum* (25 mg/kg) $p = 0.016$

GSH değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Doku ve kan örneklerinde kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun GSH değerlerinin anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi. *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre GSH seviyelerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi.

3.4. TAS-TOS ve OSİ Seviyeleri

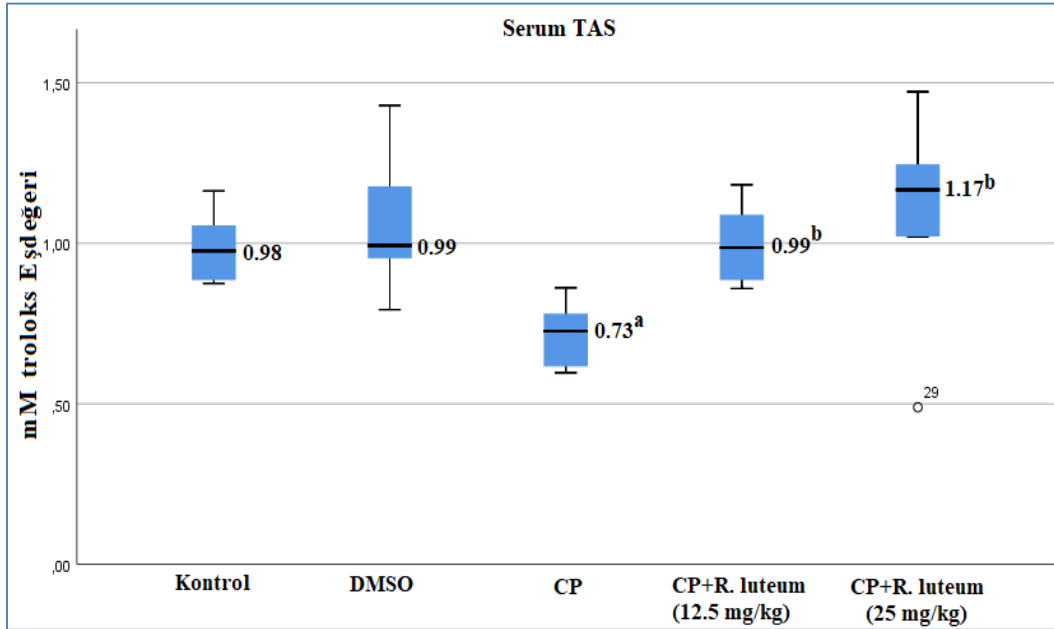
Deney gruplarından elde edilen serum örneklerinin TAS-TOS ve OSİ değerleri Şekil 3.7, 3.8 ve 3.9'da, doku örneklerinin TAS-TOS ve OSİ değerleri ise Şekil 3.10, 3.11 ve 3.12'de verildi.



Şekil 3. 7. Serum örneklerindeki TOS seviyeleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

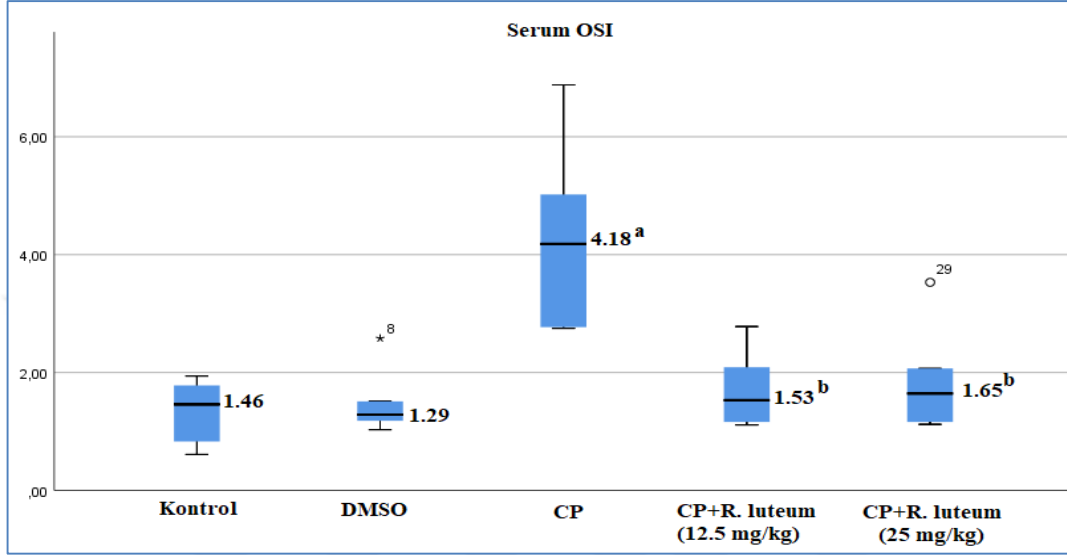
Serum TOS: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.004$; CP grubu ile CP+R. luteum (12.5 mg/kg) $p = 0.016$, CP+R. luteum (25 mg/kg) $p = 0.025$



Şekil 3. 8. Serum örneklerindeki TAS seviyeleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$) kabul edildi.

Serum TAS: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.004$; CP grubu ile CP+*R. luteum* (12.5 mg/kg) $p=0.006$, CP+*R. luteum* (25 mg/kg) $p=0.041$

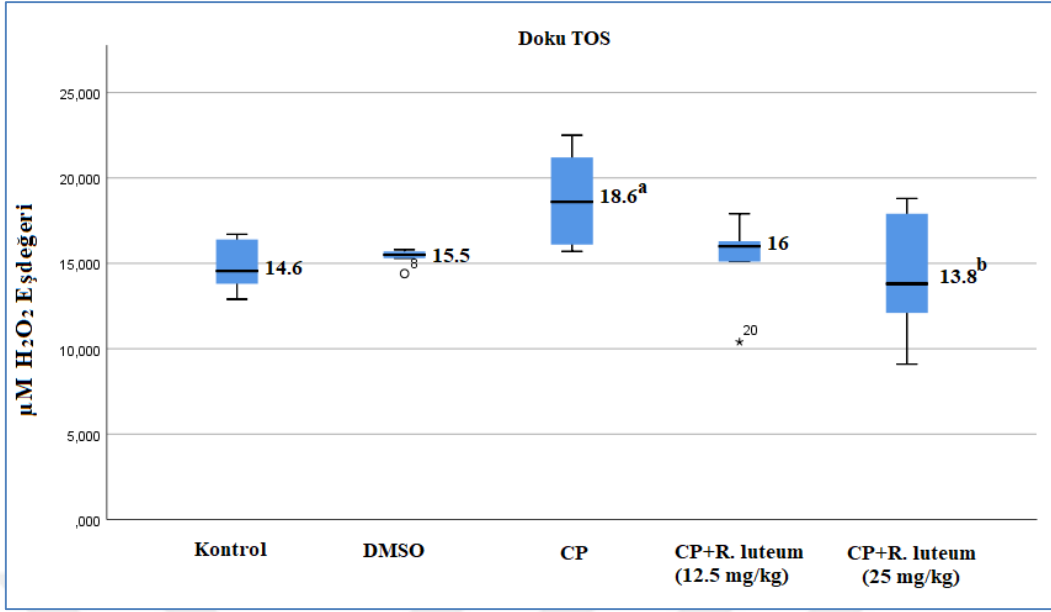


Şekil 3. 9. Serum örneklerindeki OSI seviyeleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$) kabul edildi.

Serum OSI: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.004$; CP grubu ile CP+*R. luteum* (12.5 mg/kg) $p=0.01$, CP+*R. luteum* (25 mg/kg) $p=0.01$

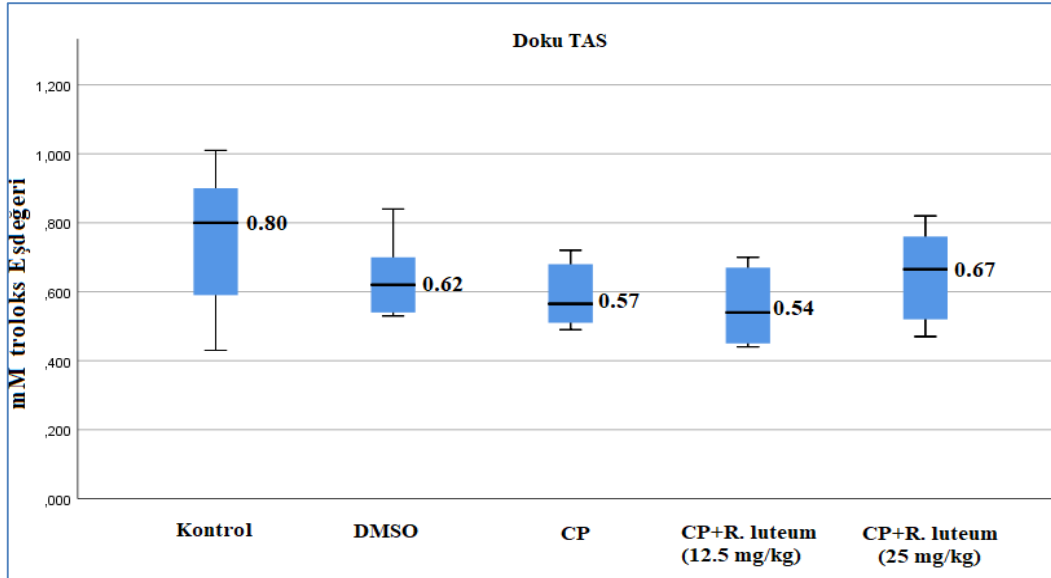
TAS-TOS ve OSI değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum örneklerinde anlamlı fark görülmedi. Serum örneklerindeki TOS değerleri kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. TAS değerleri kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiş olup *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi. TAS ve TOS sonuçlarından elde edilen serum örneklerinin OSI değerleri ise; kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi.



Şekil 3. 10. Doku örneklerinin TOS değerleri

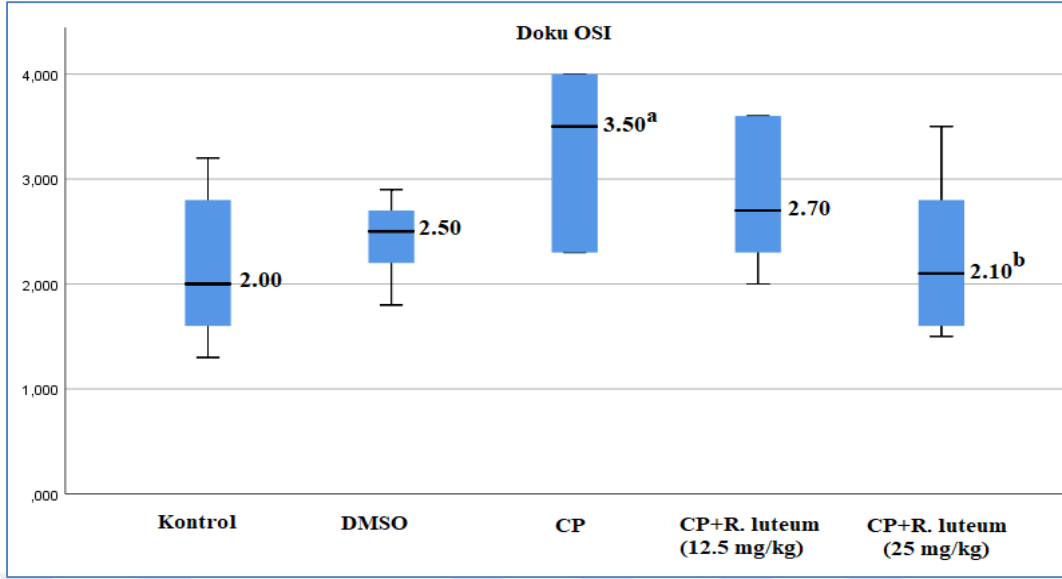
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku TOS: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.037$; CP grubu ile CP+R. luteum (25 mg/kg) $p = 0.042$



Şekil 3. 11. Doku örneklerinin TAS değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.



Şekil 3. 12. Doku örneklerinin OSI değerleri

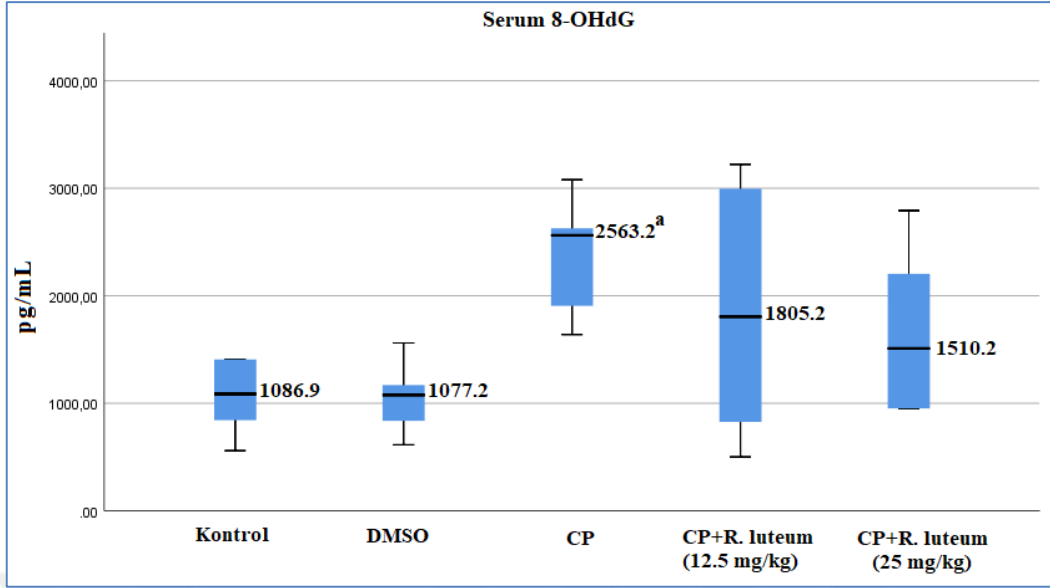
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Serum TOS: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.036$; CP grubu ile CP+R. luteum (25 mg/kg) $p = 0.041$

TAS-TOS ve OSI değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında doku örneklerinde anlamlı fark görülmedi. Doku örneklerindeki TOS değerlerinin kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup *R. Luteum*'un 25 mg/kg'lık grubunun cisplatin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi. TAS değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. TAS ve TOS sonuçlarından elde edilen OSI değerleri ise kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup *R. Luteum*'un 25 mg/kg'lık grubunun cisplatin grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi.

3.5. 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin (8-OHdG) Seviyeleri

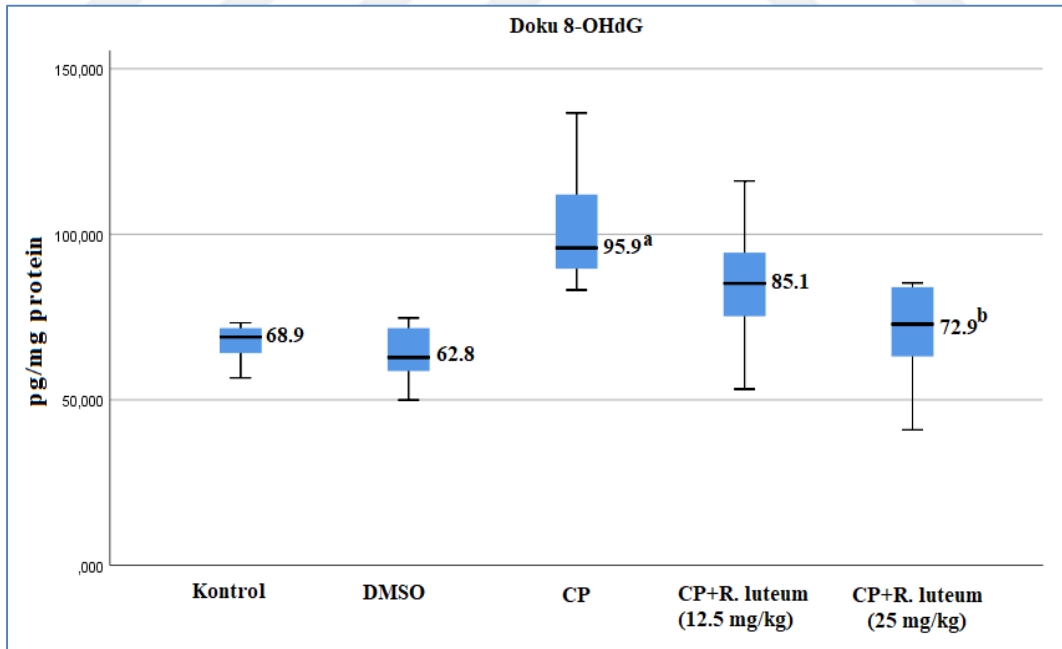
Deney gruplarından elde edilen doku ve serum örneklerinin 8-OHdG düzeylerinin buguları Şekil 3.13 ve Şekil 3.14'te verildi.



Şekil 3. 13. Serum örneklerinin 8-OHdG değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Serum 8-OHdG: Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.004$



Şekil 3. 14. Doku örneklerinin 8-OHdG değerleri

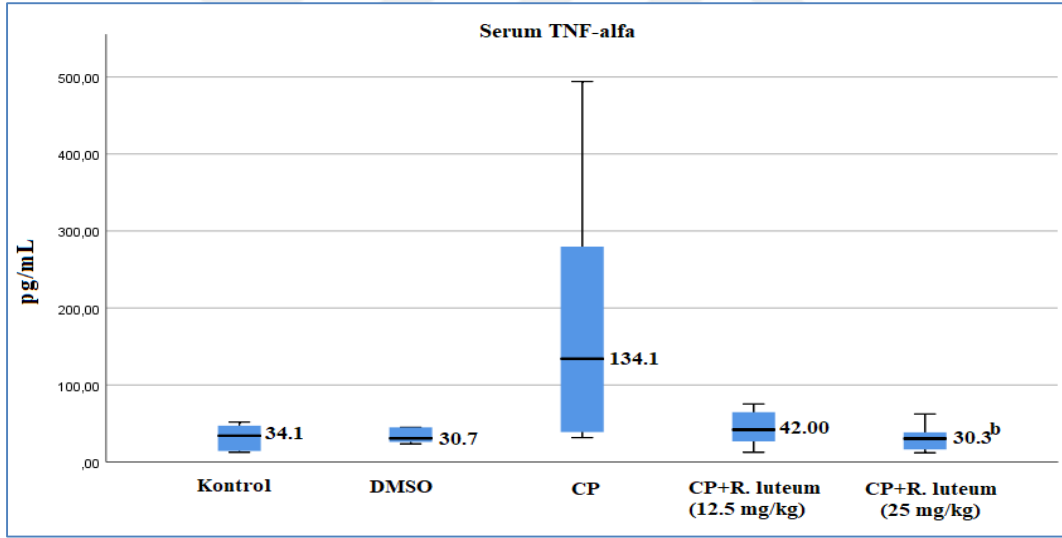
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku 8-OHdG: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.004$; CP grubu ile CP+*R. luteum* (25 mg/kg) $p=0.01$

8-OHdG değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Doku ve serum örneklerin kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında bu grupların 8-OHdG seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi. Serum örneklerindeki *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre 8-OHdG değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark görülmedi. Doku örneklerinde ise *R. Luteum*'un 25 mg/kg'lık grubunun cisplatin grubuna göre 8-OHdG değerlerinin anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi.

3.6. Tümör Nekroz Faktör-Alfa (TNF- α) Seviyeleri

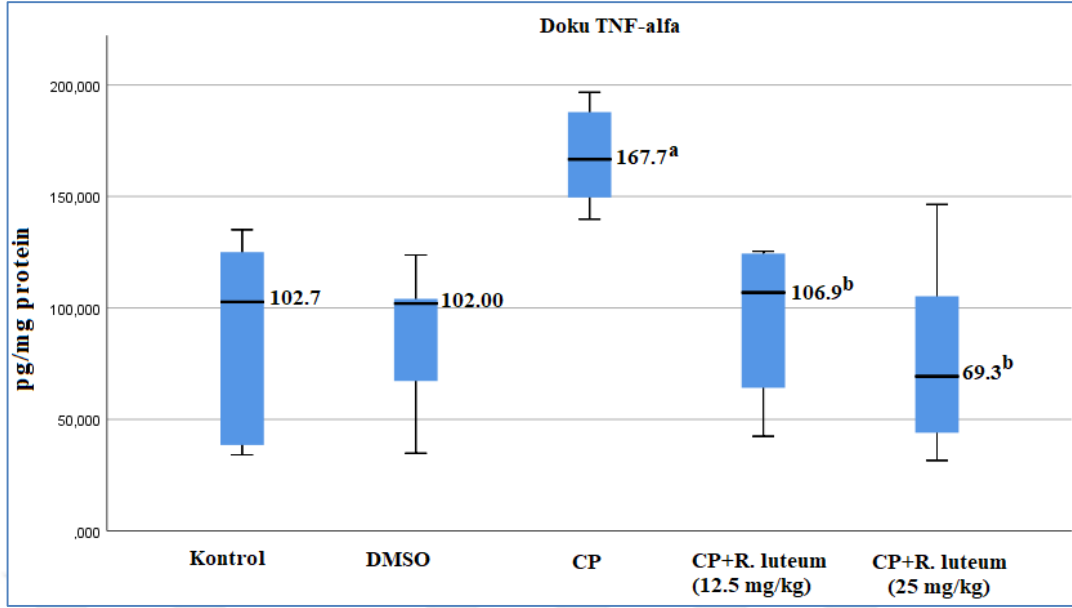
Deney gruplarından elde edilen doku ve serum örneklerinin TNF- α düzeylerinin buguları Şekil 3.15 ve Şekil 3.16'da verildi.



Şekil 3. 15. Serum örneklerinin TNF- α değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p<0.05$) kabul edildi.

Serum TNF- α : CP grubu ile CP+*R. luteum* (25 mg/kg) $p=0.025$



Şekil 3. 16. Doku örneklerinin TNF- α değerleri

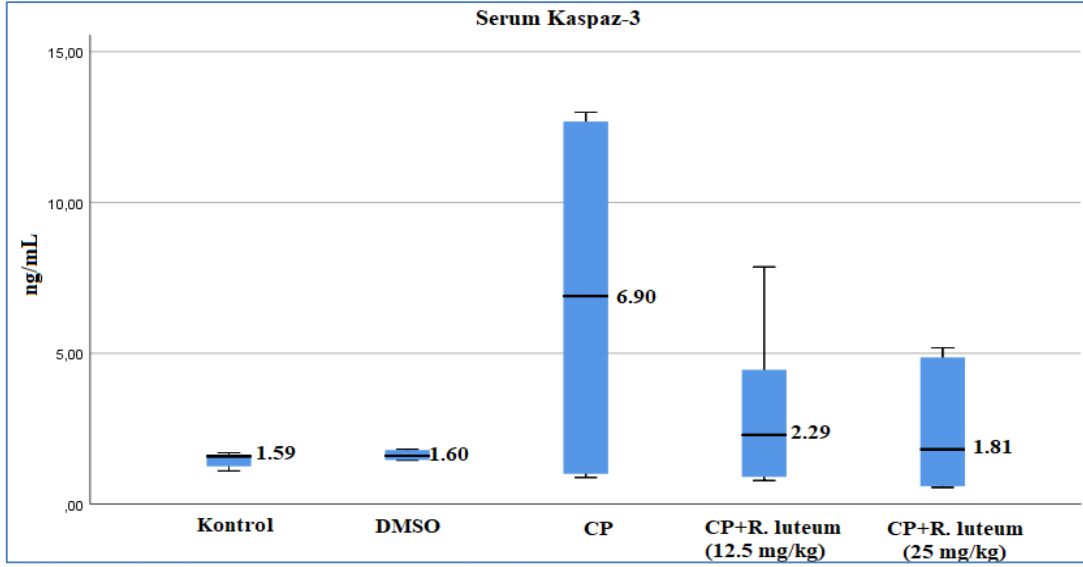
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku TNF- α : Kontrol grubu ile CP grubu $p = 0.004$; CP grubu ile CP+*R. luteum* (12.5 mg/kg) $p = 0.004$, CP+*R. luteum* (25 mg/kg) $p = 0.006$

TNF- α değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Doku örneklerinin kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında cisplatin grubunun anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenirken serum örneklerinde ise anlamlı bir fark gözlemlenilmedi. Doku ve serum örneklerinin *R. luteum* ve cisplatin grubu karşılaştığında ise doku örneklerinde *R. luteum* gruplarının anlamlı düzeyde azaldığı serum örneklerinde ise *R. luteum*'un 25 mg/kg'lık grubunun cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi.

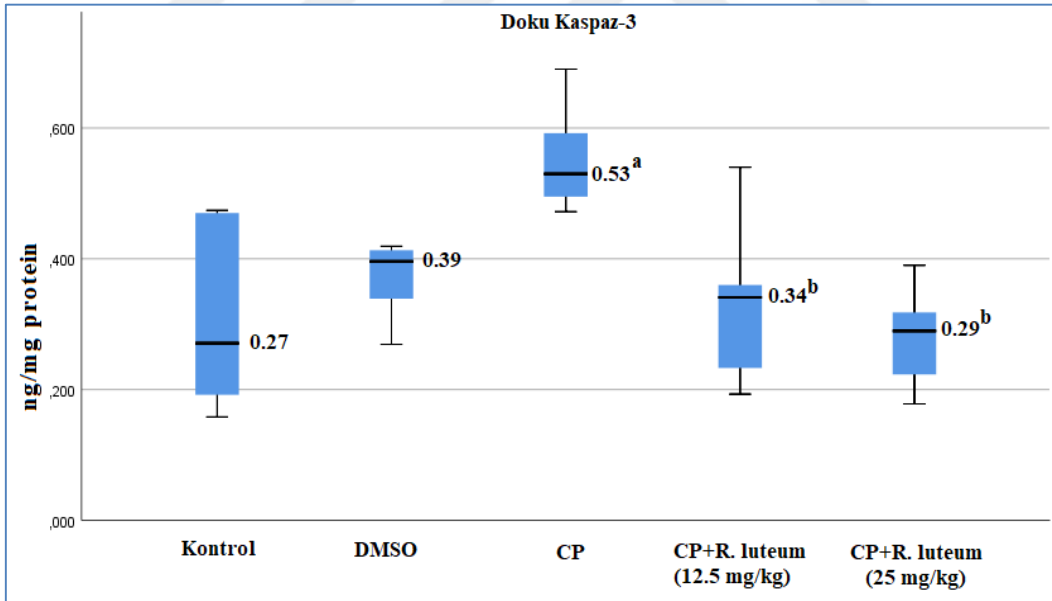
3.7. Kaspaz-3 (CASP3) Seviyeleri

Deney gruplarından elde edilen doku ve serum örneklerinin CASP3 düzeylerinin buguları Şekil 3.17 ve Şekil 3.18'de verildi.



Şekil 3. 17. Serum örneklerinin CASP3 değerleri

^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.



Şekil 3. 18. Doku örneklerinin CASP3 değerleri

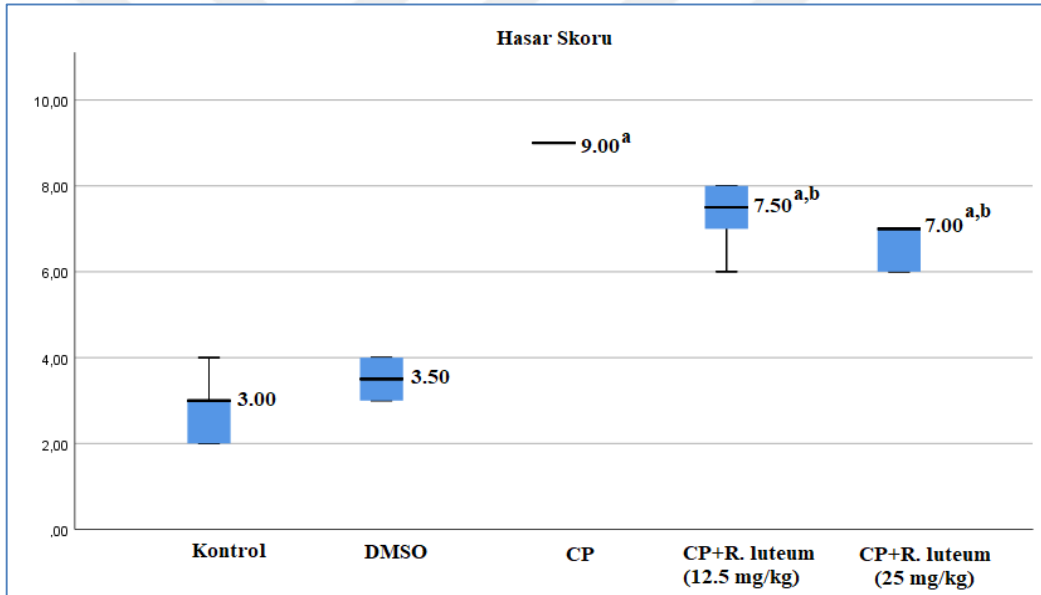
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku CAS3: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.006$; CP grubu ile CP+R. luteum (12.5 mg/kg) $p=0.016$, CP+R. luteum (25 mg/kg) $p=0.004$

CASP3 değerleri için deney grupları karşılaştırıldığında kontrol grupları ile DMSO grupları arasında serum ve doku örneğinde anlamlı fark görülmedi. Kan örneklerinin grup karşılaştırılmasında hiçbir anlamlı fark görülmedi. Doku örneklerinin de ise kontrol grubu ile cisplatin grubu karşılaştırıldığında CASP3 seviyesi cisplatin grubunda anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup bu örneklerin *R.luteum* ve cisplatin grubu karşılaştırıldığında ise *R.luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre CASP3 seviyesinin anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi.

3.8. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarından elde edilen böbrek doku örneklerinin histolojik düzeylerinin bulguları Şekil 3.19'da verildi.



Şekil 3. 19. Böbrek doku örneklerinin histolojik değerleri

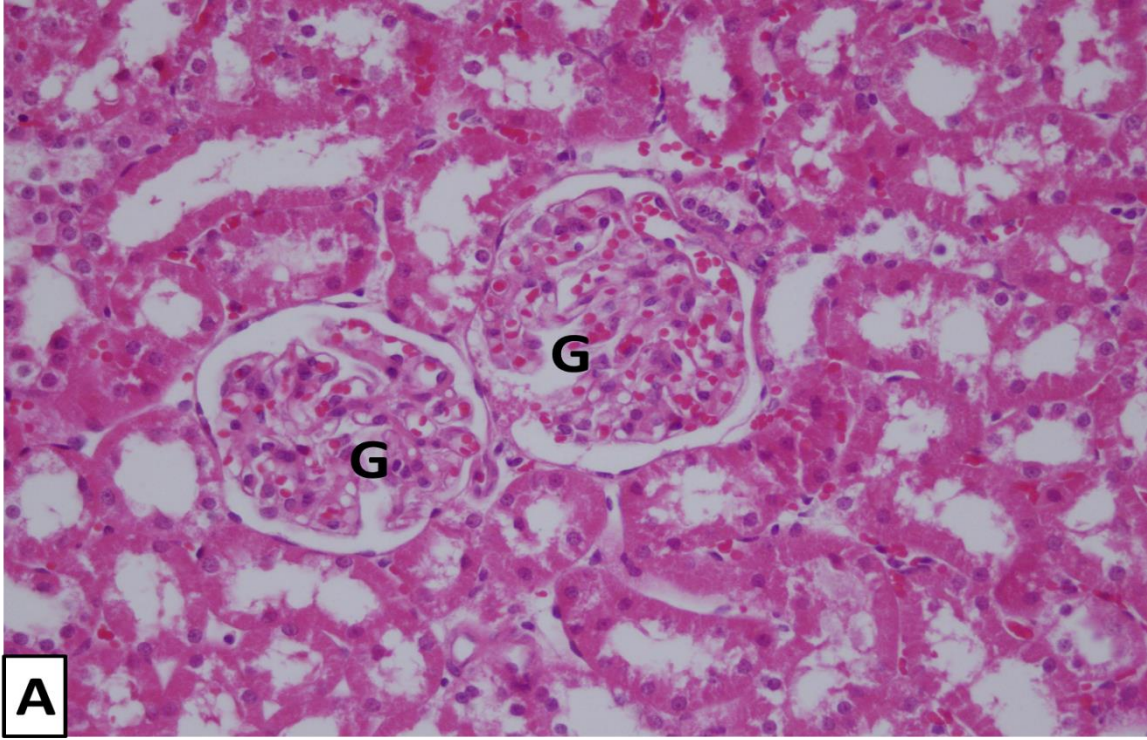
^aNegatif kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$), ^bCisplatin grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark ($p < 0.05$) kabul edildi.

Doku Hasar Skoru: Kontrol grubu ile CP grubu $p=0.002$, CP+R. *luteum* (12.5 mg/kg) $p=0.003$, CP+R. *luteum* (25 mg/kg) $p=0.003$; CP grubu ile CP+R. *luteum* (12.5 mg/kg) $p=0.002$, CP+R. *luteum* (25 mg/kg) $p=0.002$

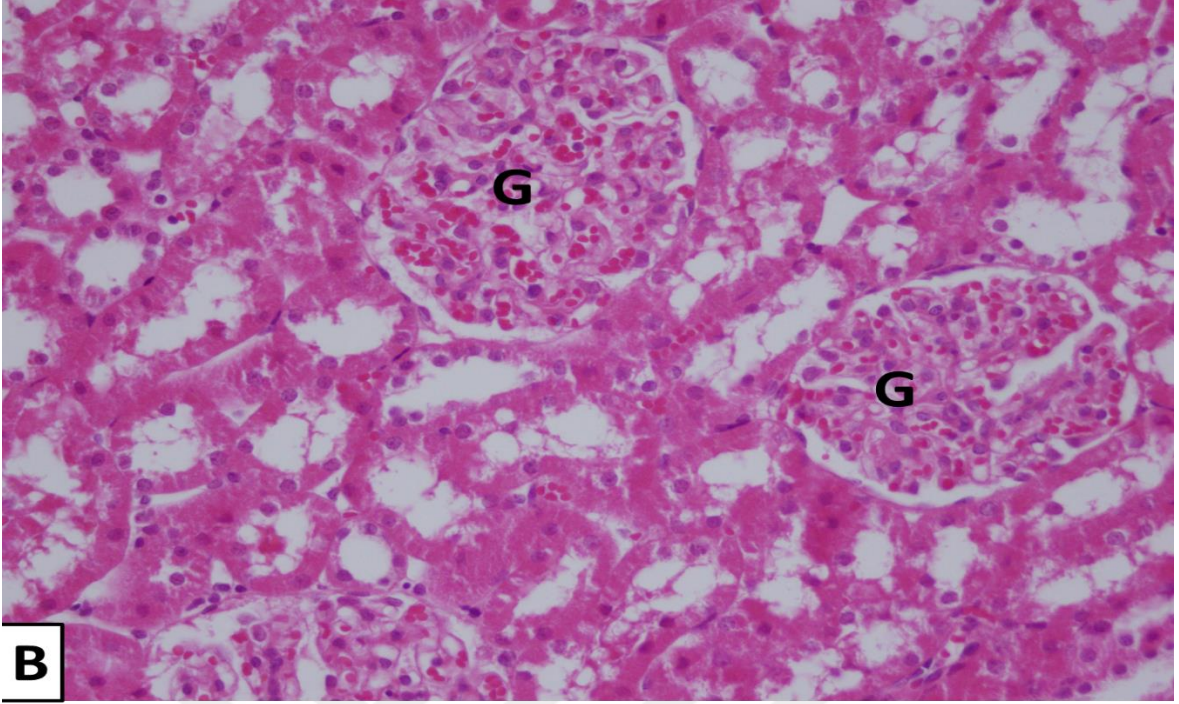
Doku örneklerinin kontrol grubu ile cisplatin grubu ve ekstrakt grupları karşılaştırıldığında cisplatin ve ekstrakt gruplarının kontrol grubuna göre hasar skorunun

anlamli düzeyde arttiğı gözlemlendi. *R. luteum* ve cisplatin grubu karşılaştığında ise *R. luteum* gruplarının cisplatin grubuna göre hasar skorunun anlamli düzeyde azaldığı gözlemlendi.

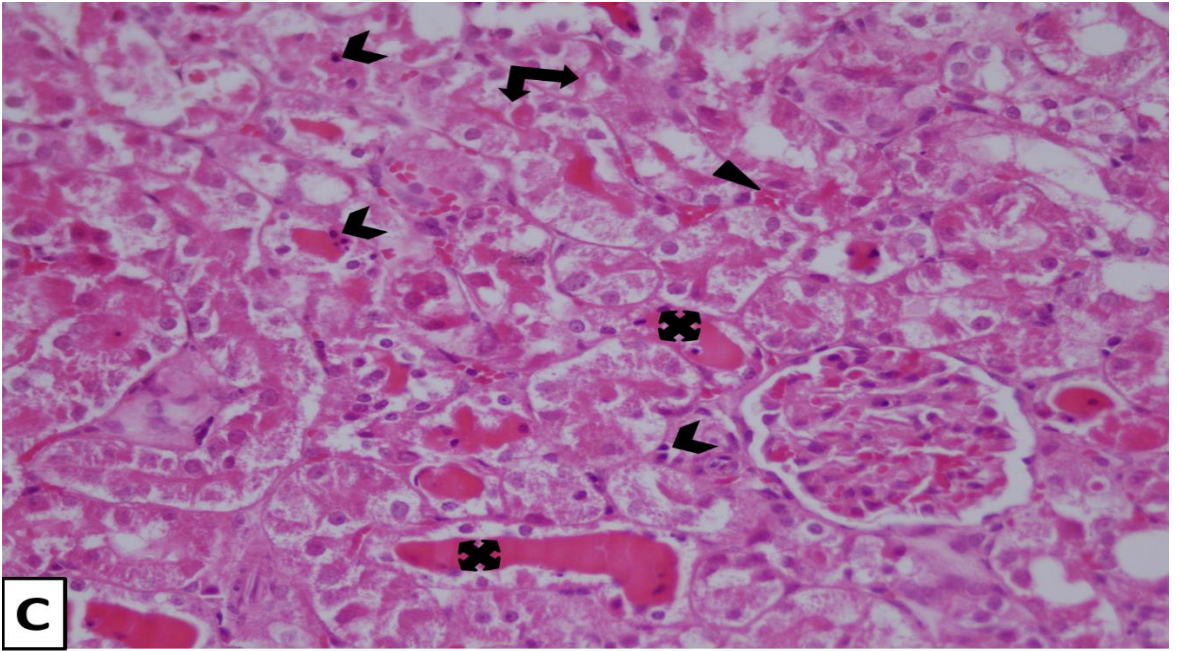
Hematoksilen–eosin boyalı böbrek kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesinde kontrol grubuna (Şekil 3.20) ve çözücü grubuna (Şekil 3.21) ait kesitlerde glomerül normal yapıda izlendi ve patolojik bir bulguya rastlanmadı. CP (Şekil 3.22) ve *Rhododendron luteum* (Şekil 3.23 (12.5 mg/kg) ve Şekil 3.24 (25 mg/kg)) gruplarının böbrek kesitlerinde ise tubullerde dejenerasyon (çift ok), tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), vasküler konjesyon (ok başı) (H&E X400) gözlemlendi.



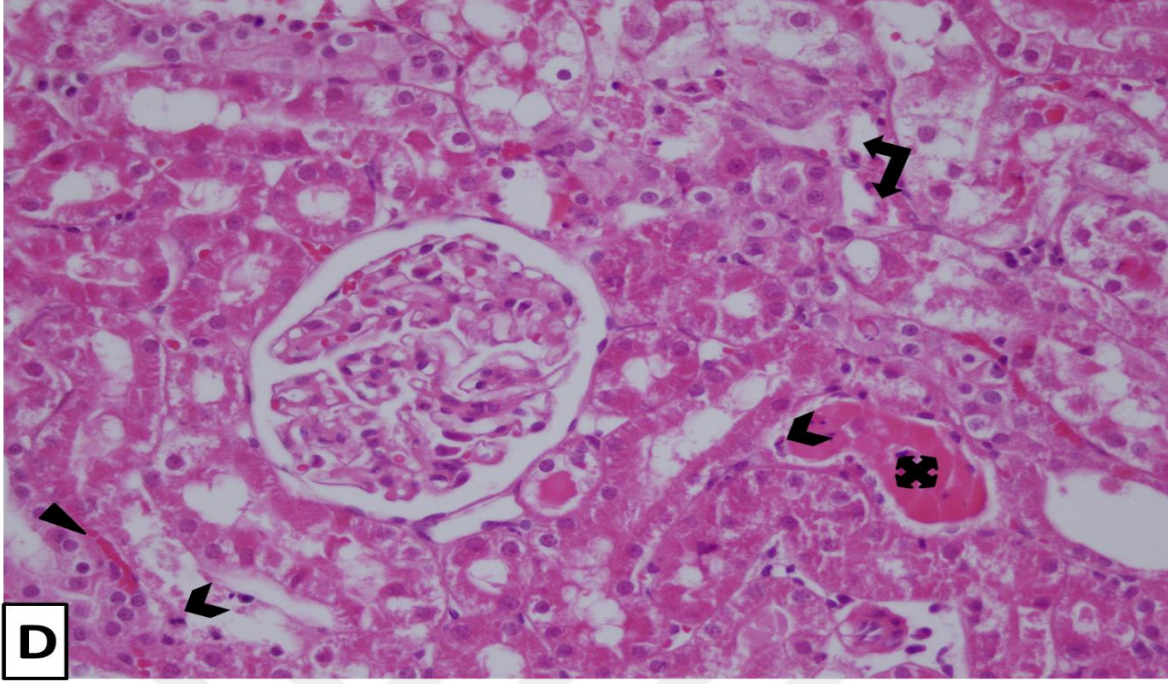
Şekil 3. 20. Kontrol grubu; Glomerül (G), (H&E X400).



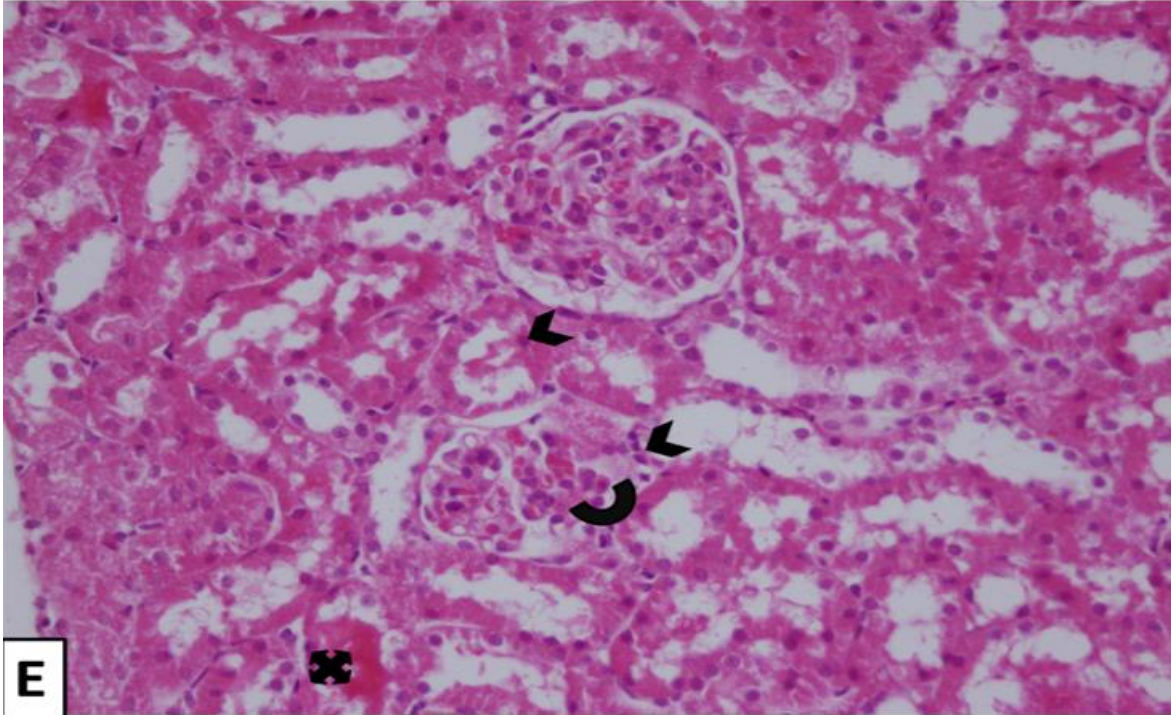
Şekil 3. 21. DMSO grubu; Glomerül (G), (H&E X400).



Şekil 3. 22. Cisplatin grubu; Tubullerde dejenerasyon (çift ok), tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), vasküler konjesyon (ok başı) (H&E X400).



Şekil 3. 23. *R. luteum* 12.5 mg/kg grubu; Tubullerde dejenerasyon (çift ok), tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), vasküler konjesyon (ok başı) (H&E X400).



Şekil 3. 24. Tubul lümeninde kast formasyonu (dörtlü ok), apoptotik hücre ve cisimler (köşeli çift ayraç), Bowman boşluğu ve glomerülde dejenerasyon (yay) (H&E X400)

4.TARTIŞMA

Dünya çapında en büyük halk sağlığı sorunlarından biri olan kanser, hücrelerin ölümleri ile bölünüp farklılaşmaları arasındaki dengenin bozulması ile meydana gelen patolojik bir olaydır (Demir, 2015; Iqbal vd., 2018). Kanser her yıl milyonlarca insanı etkilemekte ve bu hastalığın ölümlere sebebiyet vermesinden ötürü kanser ile ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda kanser türleri üzerinde etkinliği kanıtlanmış ve sık kullanılan bir ilaç olan CP kullanılmaktadır. CP'nin antitümör özelliğinin yanında hayvanlarda ve insanlarda nörotoksisite, hepatoksisite ve nefrotoksisite gibi yan etkiler gözlemlenmektedir (Sastry ve Kellie, 2005). Bu yan etkilerin arasında nefrotoksisite CP'nin en ciddi ve doz kısıtlayıcı yan etkisidir. CP kullanımı sonucu oluşan nefrotoksisite, ilacın antikanser etkinliğini azaltmakta ve klinik kullanımını kısıtlamaktadır (Barbaras vd., 2008). Ciddi yan etkilere sahip olmasına rağmen CP'nin tedavi edici etkinliğinin yüksek olmasından dolayı kemoterapi tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçlardan biridir (Faubel vd., 2007). Bu yan etkilerini azaltmak ya da ortadan kaldırmak için CP ile birlikte antioksidan özelliği yüksek olan doğal ürünlerin kullanıldığı çalışmalara rastlanılmaktadır (Silici vd., 2009; Kumar ve Pandey, 2013; Çiftçi vd., 2014; Tohamy vd., 2014). Doğal ürünler geleneksel olarak mikrobiyal hastalıklarda, diyabet, astım, romatizmal, bağışıklıklığın artırılmasında ve kanser hastalığında kullanılan ilaçlara destek olarak kullanılmaktadır. Fitoterapötiklerden özellikle primer ve sekonder metabolitler olarak bilinen flavonoid ve fenolikler bilimsel çalışmalara konu olmaktadır. Bu metabolitlerin oksidatif strese karşı, antioksidan potansiyellerinin yüksek olması sebebiyle vücutta oluşabilecek hasarları önleyici özellikleri olduğu belirtilmektedir (Gonçalves vd., 2013).

Bu çalışmada ülkemizin biyoçeşitliliği içinde yer alan güçlü antioksidan özelliğe sahip doğal ürünlerden biri olan *Rhododendron luteum* kullanılmıştır (Demir vd., 2016; Demir vd., 2018). Literatürde farklı çözücülerle elde edilen *Rhododendron luteum* ekstraktlarının içerik analizleri yapılarak fenolik bileşiklerin varlığı saptanmış olup bu bileşikler; (epi) kateşin ve türevleri, kafeoil kuinik asitler ve mirisetin ve kuersetin glikozitleri olarak belirtilmiştir (Mahomoodally vd., 2020).

Yaptığımız çalışmada ratlar üzerinde CP kaynaklı oluşan DNA hasarı, oksidatif stres artışı, apoptoz ve nefrotoksisite gibi hasarlara karşı *Rhododendron luteum*'un yaprak kısımları kullanılarak koruyucu etkisi incelenmiştir. Böbrek dokusunda ve kanda oluşan

oksidan stres belirteci olarak MDA, TOS antioksidan olarak ise TAS, GSH ve SOD düzeyleri, DNA hasarının belirlenmesi için 8-OHdG ölçümü, apoptozun belirlenmesinde kaspaz-3, inflamasyonun belirlenmesinde TNF- α düzeyleri ve nefrotoksisite için böbrek dokusunda histopatolojik inceleme yapılmıştır.

Yapılan literatür taraması sonucunda nefrotoksisite üzerine *Rhododendron* türlerinin etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Fakat *Rhododendron luteum* içerik analizinde belirlenen antioksidan maddelerle ve orman gülü (*Rhododendron*) balı olarak bilinen deli bal ile ilgili nefrotoksisite çalışmaları literatürde mevcuttur.

Rhododendron luteum da bulunan bileşikler ile yapılan nefrotoksite çalışmalarında incelenen antioksidan parametrelere bakıldığında, Devi ve Shyalama'nın yaptıkları çalışmada tek başına intraperitoneal CP uygulamasının böbrek dokularında SOD enzim aktivitesini azalttığı CP ile birlikte kuersetin uygulamasının ise SOD enzim aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Devi ve Shyalama, 1999). Behling ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada CP kaynaklı nefrotoksisiteye ve oksidatif hasara karşı kuersetinin koruyucu etkileri araştırılmış ve elde edilen verilerde MDA seviyesinin kuersetin uygulanan grupta azaldığı belirtilmiştir (Behling vd., 2006). Gonzales ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise kuersetinin cisplatin nefrotoksisitesi üzerine koruyucu etkisi bir sıçan tümör modelinde araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre kuersetin uygulanan gruplarda böbrek doku MDA seviyelerinin azaldığı, GSH seviyelerinin ise arttığı bildirilmiştir (Sanchez-Gonzalez vd., 2011). Hassan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise farelerde CP kaynaklı nefrotoksisiteye karşı mirisetinin koruyucu etkileri incelenmiş ve MDA seviyelerinin mirisetin uygulanan grupta azaldığı, GSH seviyelerinin ise arttığı belirtilmiştir (Hassan vd., 2017). Malkoç ve ark. ormangülü balı olarak bilinen deli balın antioksidan ve antienflamatuvar etkisini, ratlarda oluşturulan yaraların iyileşmesi modeli üzerinden incelemiştir. Elde edilen verilerde yara iyileşmesi için ormangülü balı kullanılan grubun MDA seviyelerinin anlamlı düzeyde düştüğü SOD seviyelerinin ise anlamlı düzeyde arttığı belirtilmiştir (Malkoç vd., 2019). Verma ve ark.'nın yaptığı çalışmada *Rhododendron arboreum* çiçeklerinin etil asetat fraksiyonunun karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkisi araştırılmış ve elde edilen verilerde *Rhododendron arboreum* uygulamasının MDA seviyelerini anlamlı düzeyde düşürdüğü GSH seviyelerini ise anlamlı düzeyde arttırdığı bildirilmiştir (Verma vd., 2011). Lopera ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise Ericaceae familyasına dahil olan *Vaccinium meridionale*'nin ratlarda iskemi-reperfüzyon oluşturarak kardiyoprotektif etkisini incelemişler ve elde edilen verilerde

Vaccinium meridionale uygulamasının MDA seviyelerini anlamlı düzeyde düşürdüğü GSH seviyelerinin ise koruduğu bildirilmiştir (Lopera vd., 2013). Pandir ve Özlem'in yaptığı çalışmada Ericaceae familyasına dahil olan *Vaccinium myrtillus*'un CP kaynaklı böbrek hasarına karşı koruyucu etkileri incelenmiş ve elde edilen verilerde *Vaccinium myrtillus* uygulamasının MDA seviyesini anlamlı düzeyde düşürdüğü SOD seviyelerini ise arttırdığı bildirilmiştir (Pandir ve Kara, 2013). Bu çalışmada ise CP grubunda doku ve kan örneklerindeki oksidan stres belirteçlerinden olan MDA ve TOS düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı, *R. luteum* gruplarında ise cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir. TOS seviyelerinin cisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulunması, cisplatin indüklü nefrotoksisiteye oksidatif hasarın katkı sağladığını düşündürmektedir. Grupların doku örneklerindeki antioksidan belirteçlerinden olan TAS düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durumun *R. luteum*'un intraperitoneal yolla verilmiş olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Kan örneklerindeki TAS düzeyleri karşılaştırıldığında ise *R. luteum* uygulanan gruplarda cisplatin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiştir. TAS ve TOS değerleri kullanılarak hesaplanan oksidatif stres indeksi (OSİ) değerlerinin ise doku ve kan örneklerinde tedavi gruplarının cisplatin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bu sonuçların literatür ile uyumlu olarak antioksidan potansiyeli yüksek *R. luteum* ekstraktının cisplatin ile oluşturulan oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir. SOD miktarları karşılaştırıldığında ise doku örneklerinde kontrol grubuna kıyasla cisplatin ve tedavi gruplarının anlamlı düzeyde arttığı gözlemlenmiş olup cisplatin grubundaki artışın antioksidan savunma mekanizmasının aktivasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Deney gruplarında bulunan GSH düzeyleri doku ve kan örneklerinde kıyaslandığında tedavi gruplarının cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların literatürde bulunan *R.luteum* içeriğindeki etken maddelerle uyumlu olduğu ve cisplatin ile verilen hasarın *Rhododendron luteum* yaprak ekstraktı ile azaltıldığı gözlemlenerek bu etkinin sekonder metabolitlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

DNA'da oluşan baz mutasyonlarından en fazla bilineni 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) olarak bilinmekte ve bu mutasyon DNA'da oluşan hasarın miktar ölçümü için kullanılmaktadır (Yokuş ve Çakır, 2002; Atmaca ve Aksoy, 2009; Kroese ve Scheffer, 2014; Özen vd., 2015). Akkoyun'nun yaptığı çalışmada karbontetraklorür kaynaklı böbrek doku hasarına karşı kuersetinin koruyucu etkileri araştırılmış ve elde edilen verilerde 8-OHdG

seviyesinin kuersetin uygulanan grupta anlamlı düzeyde azaldığı belirtilmiştir (Akkoyun, 2019). Özyurt ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada radyasyon kaynaklı DNA hasarı üzerine sıçan mesane ve böbrek dokularında kuersetinin koruyucu özelliği araştırılmış ve 8-OHdG seviyelerinin radyasyon grubunda arttığı fakat radyasyonla birlikte kuersetin uygulanan grupta ise azaldığı bildirilmiştir (Özyurt vd., 2014). Bu çalışmada DNA hasarının belirlenmesinde kan ve doku örneklerinde 8-OHdG düzeyleri ölçülmüş olup cisplatin grubunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde arttığı gözlemlendi. Serum örneklerinde cisplatin ve *R. luteum* gruplarının arasında anlamlı bir fark gözlemlenmezken doku örneklerinde ise 25 mg/kg'lık *R. luteum* uygulanan grubun cisplatin grubuna göre 8-OHdG düzeyinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Bu verilerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

CP'nin nefrotoksisite mekanizması genellikle ROS'lara atfedilmekte olup bir diğer teori ise artan inflamatuvar sitokinlerinin etkinliğidir. Yapılan çalışmalarda CP'nin ratlara uygulanmasıyla birlikte proinflamatuvar sitokinlerin arttığı ve inflamatuvar yanıt oluşturarak doku hasarına sebep olduğu belirtilmektedir (Ramesh ve Reeves, 2005; Sharma vd., 2017; Sharma vd., 2018; Dinç, 2019). Hassan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mirisetinin cisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerine koruyucu etkisinin araştırılmasında inflamasyon belirteçlerinden olan TNF- α düzeylerinin CP grubunda arttığı, CP ile birlikte kullanılan mirisetin grubunda ise azaldığı belirtilmektedir (Hassan vd., 2017). Malkoç ve ark. ise ormangülü balı olarak bilinen deli balın antiinflamatuvar etkisini ratlarda oluşturulan yaraların iyileşmesi modeli üzerinden incelemiştir. Elde edilen verilerde yara iyileşmesi için kullanılan ormangülü balının TNF- α seviyelerini anlamlı düzeyde azalttığı belirtilmiştir (Malkoç vd., 2019). Luye ve ark. yapmış olduğu çalışmada RAW264.7 hücre serisinde lipopolisakarit kaynaklı inflamasyon oluşturulmuş ve *Rhododendron molle* yaprak ekstraktının anti-inflamatuvar özelliği araştırılmıştır. TNF- α düzeylerinin *R. molle* uygulanan gruplarda anlamlı düzeyde azaldığı ve *R. molle*'nin güçlü bir anti-inflamatuvar aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Luye vd., 2020). Bu çalışmada ise cisplatin grubunun TNF- α seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla arttığı, tedavi gruplarının TNF- α seviyelerinin ise cisplatin grubuna kıyasla azaldığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bu sonucun literatür verilerini desteklediği gözlemlenmiş olup CP kullanımı ile oluşan inflamasyonun antioksidan özellik gösteren *R. luteum* ile azaldığı tespit edilmiştir.

CP nefrotoksisitesine intrinsik ve ekstrinsik apoptoz yollarının da etki ettiği bildirilmektedir (Pabla ve Dong, 2008). Bu apoptoz yollarının her ikisinde de kaspazlar rol oynamaktadır. İntrinsik apoptoz yolağında kaspaz-9 daha sonra kaspaz-3 aktiveştirerek

kaspaz bağımlı apoptoz başlamaktadır (Pabla ve Dong, 2008). Ekstrinsik ölüm reseptörü yolağında ise kaspaz-8, kaspaz-3'ü aktive etmekte ve sonucunda renal tübül hücre apoptozu gerçekleşmektedir (Tsuruya vd., 2003). Hassan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mirisetinin cisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerine koruyucu etkisinin araştırılmasında apoptoz belirteçlerinden olan kaspaz-3 seviyelerinin CP grubunda arttığı CP ile birlikte kullanılan mirisetin grubunda ise azaldığı belirtilmektedir (Hassan vd., 2017). Bu çalışmada kaspaz-3 seviyeleri karşılaştırıldığında cisplatin grubunda kontrol grubuna göre kaspaz-3 seviyelerinin arttığı gözlemlendi. Doku örneklerinin kaspaz-3 seviyelerinin, tedavi gruplarında cisplatin grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuç CP kullanımı ile artan apoptoz seviyelerinin *Rhododendron* ekstraktları ile azaltıldığını ortaya koymuştur.

Sanchez-Gonzalez ve ark.'nın yaptığı çalışmada kuersetinin CP nefrotoksisitesi üzerindeki koruyucu etkisi sıçan tümör modelinde in vivo olarak incelenmiş ve elde edilen sonucun histolojik incelemesinde kuersetin uygulanan gruplarda böbrek doku hasarının azaldığı bildirilmiştir (Sanchez-Gonzalez vd., 2011). Behling ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada CP kaynaklı nefrotoksisiteye ve oksidatif hasara karşı kuersetinin koruyucu etkileri araştırılmış ve elde edilen verilerin histolojik incelemesinde kuersetin uygulanan gruplarda böbrek doku hasarının azaldığı bildirilmiştir (Behling vd., 2006). Verma ve ark.'nın yaptığı çalışmada *Rhododendron arboreum* çiçeklerinin etil asetat fraksiyonunun karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksisiteye karşı koruyucu etkisi araştırılmış ve elde edilen verilerin histolojik incelemesinde *Rhododendron arboreum* uygulamasının karbon tetraklorür kaynaklı hepatotoksisiteyi azalttığı bildirilmiştir (Verma vd., 2011). Li ve ark.'nın yaptığı çalışmada *Rhododendron groenlandicum*'un diyetle bağlı obez fare modelinde böbrek bütünlüğü üzerine etkisi araştırılmış ve elde edilen verilerde *Rhododendron groenlandicum*'un böbrek bütünlüğünü iyileştirdiği bildirilmiştir (Li vd., 2016). Bu çalışmada ise CP uygulanan grubun böbrek dokularında yapılan mikroskopik incelemeler ve hasar skoru sonucunda hasar tespit edilmiş olup bu hasarın tedavi grupları ile anlamlı düzeyde azaltıldığı tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlara göre platin bazlı bir kemoterapi ilacı olan CP'nin ROS artışı ve antioksidan enzim savunmasını azaltarak böbrek dokusunda toksisite oluşturduğu ayrıca inflamasyon belirteçlerinden olan TNF- α , DNA hasarı belirteçlerinden olan 8-OHdG ve apoptoz belirteçlerinden olan Kaspaz-3 seviyelerini arttırdığı fakat CP sonrası uygulanan

Rhododendron ekstraktı'nın ise literatürde uyumlu olarak ratlarda oluşturulan bu hasarlar üzerine koruyucu etkisinin olduğu gözlemlenmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda CP verilerek oluşturulan DNA hasarı, oksidatif stres artışı, apoptoz, inflamasyon ve nefrotoksisite gibi hasarlara karşı *Rhododendron luteum* yaprak ekstraktının koruyucu etkisinin incelendiği bu çalışma sonucunda;

1. Kontrol grubu ile DMSO çözücü grubu arasında doku ve serum örneğinde ölçülen parametreler arasında anlamlı fark görülmemiş olması ekstrakt çözücüsünün deneye etkisinin olmadığını gösterdi.
2. *Rhododendron luteum* grupları ile cisplatin gruplarının antioksidan parametreleri karşılaştırıldığında;
 - a) Doku ve serum örneklerinde *R. luteum*'un gruplarının cisplatin gruplarına göre MDA ve TOS düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığı,
 - b) TAS seviyelerinin *R. luteum* gruplarının cisplatin gruplarına göre serum örneklerinde arttığı
 - c) GSH seviyelerinin serum ve doku örneklerinde cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı,
 - d) OSİ değerinin *R.luteum* gruplarında CP grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı,
 - e) SOD enzim miktarının ise CP ve *Rhododendron luteum* gruplarında arttığı gözlemlendi.
3. Kan örneklerinde 8-OHdG seviyeleri bakımından CP ve *R. luteum* grupları arasında anlamlı bir fark gözlemlenmezken doku örneklerinde ise 25 mg/kg'lık *R. luteum* uygulanan grubun 8-OHdG seviyelerinin cisplatin grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir.
4. İnflamasyon belirteçlerinden olan TNF- α seviyelerinin cisplatin grubuna kıyasla tedavi gruplarında azaldığı gözlemlenmiştir.
5. Apoptoz belirteçlerinden olan kaspaz-3 seviyelerinin doku örneklerinde cisplatin grubuna kıyasla tedavi grubunda anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi.

6. Histolojik analizden elde edilen hasar skoru değerlendirildiğinde tedavi gruplarında cisplatin grubuna göre böbrek hasarının anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlenmiştir.
7. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde CP ile beraber verilen *Rhododendron luteum*'un CP'nin oluşturduğu böbrek hasarını önlemede, antiinflamatuvar, antiapoptotik, antioksidan etki göstererek oluşan hasarı azaltabileceği kanısına varıldı. Bu sonuçlara göre;
 1. *Rhododendron luteum*'un klinikte kullanılması için ileri araştırmalarla desteklenmesi önerilir.
 2. *Rhododendron* türleri ile yapılan ilk nefrotoksisite çalışmasıdır ve diğer türlerinde çalışmalarının yapılabileceği düşünülmektedir.
 3. Aynı zamanda farklı dokular üzerindeki etkilerinin de araştırılması önerilir.

6. KAYNAKLAR

- Akkoyun, T.H., 2019. Karbontetraklorür'ün Neden Olduğu Sıçan Böbrek Dokusu Hasarlarına Karşı Kuersetin'in Koruyucu Etkisi, Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 9(2), 708-716.
- Akkuş, T., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 2. Baskı. Mimoza yayınları, Konya, 34-54s.
- Aktaş, T., 2016. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yyılış Gösteren Bazı Rhododendron L. (Ericaceae) Türleri Üzerinde Mikromorfolojik Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Ordu, 96s.
- Alarkon, L.C. ve Denicola, A., 2013. Evaluating the Antioxidant Capacity of Natural Products: A Review on Chemical and Cellular-Based Assays, Analytica Chimica Acta, 763, 1-10.
- Alibakhshi, T., Khodayar, M.J., Khorsandi, L., Rashno, M. ve Zeidoooni, L., 2018. Protective Effects of Zingerone on Oxidative Stress and İnflammation in Cisplatin-İnduced Rat Nephrotoxicity, Biomedicine & Pharmacotherapy, 105, 225-232.
- Arunkumar, S. ve Muthuselvam, M., 2009. Analysis of Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activities of Aloe Vera L. Against Clinical Pathogens, World J. Agric. Sci, 5,572-576.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş. ve Yılmaz, B., 2019. Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü-Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPx), Med J SDU, 26, 362-369.
- Atasoy, N., 2019. Melatonin ve Antioksidan Etkileri, Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9, 196-201.
- Atmaca, E. ve Aksoy, A., 2009. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi, YYU Veteriner Fakültesi Dergisi, 20, 79-83.
- Avcı, M., 2004. Ormangülleri (Rhododendron L.) ve Türkiye'deki Doğal Yayılışları, İstanbul Üniv. Edebiyat Fak. Coğrafya Dergisi, 12, 13-39.
- Aydemir, S. ve Sarı, E., 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi, Kocatepe Veteriner Dergisi, 2, 56-60.
- Barabas, K., Milner, R., Lurie, D. ve Adin, C., 2008. Cisplatin: A Review of Toxicities and Therapeutic Applications, Vet Comp Oncol., 6, 1-18.
- Basbulbul, G., Ozmen, A., Biyik, H.H. ve Sen, O., 2008. Antimitotic and Antibacterial Effects of the Primula veris L. Flower Extracts, Caryologia, 61, 88 -91.

- Behling, E.B., Sendão, M.C., Francescato, H.D.C., Antunes, L.M.G., Costa, R.S. ve Maria-de, L., 2006. Comparative Study of Multiple Dosage of Quercetin Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rat Kidneys, Pharmacological Reports, 58, 526-532.
- Bouayed, J. ve Bohn, T., 2010. Exogenous Antioxidants-Double-Edged Swords in Cellular Redox State, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 3, 228-237.
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F.J. J. ve Krause, K.H., 2012. Reactive Oxygen Species: From Health To Disease, Swiss Medical Weekly, 142, 136-159.
- Burdock, G.A., 1998. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis, Food and Chemical Toxicology, 36, 347-363.
- Cao, X., Nie, X., Xiong, S., Cao, L., Wu, Z., Moore, P. K. ve Bian, J.-S., 2018. Renal Protective Effect of Polysulfide in Cisplatin-Induced Nephrotoxicity, Redox Biology, 15, 513-521.
- Carballeira, N.M., Cartagena, M. ve Tasdemir, D., 2008. Fatty Acid Composition of Turkish Rhododendron Species, J Am Oil Chem Soc, 85, 605-611.
- Chabner, B.A. ve Roberts, T.G. 2005. Timeline: Chemotherapy and The War on Cancer, Nat Rev Cancer, 5, 65-72.
- Crom, W.R., Glynn-Barnhart, A.M., Rodman, J.H., Teresi, M.E., Kavanagh, R.E., Christensen, M.L., Reiling M.V. ve Evans W.E., 1987. Pharmacokinetics of Anticancer Drugs in Children, Clinical pharmacokinetics, 12, 168-213.
- Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R. L., Mccord, J.M. ve Harman, D., 1987. Oxygen Radicals and Human Disease, Ann. Intern. Med., 107, 526-45.
- Çakatay, U. ve Kayalı, R., 2006. Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 37, 162-167.
- Çayakar, A., 2018. Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa?, Türkiye Klinikleri J Intern Med., 3, 67-76.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar, Tıp Araştırmaları Dergisi, 9, 73-83.
- Çiftçi, O., Cetin, A., Aydın, M., Kaya, K. ve Oguz, F., 2014. Fish Oil, Contained in Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid, Attenuates Testicular and Spermatological Damage Induced by Cisplatin in Rats, Andrologia, 46, 1161-1168.
- Danial, N.N. ve Korsmeyer, S.J., 2004. Cell Death: Critical Control Points, Cell, 116(2), 205-219.

- D'autreaux, B. ve Toleno, B.M., 2007. ROS as Signalling Molecules: Mechanisms That Generate Specificity in ROS Homeostasis, Nature, 8, 813-824.
- Das, A., Hazra, T.K., Boldogh, I., Mitra, S. ve Bhakat, K.K., 2005. Induction of the Human Oxidized Base-Specific DNA Glycosylase NEIL1 by Reactive Oxygen Species, The Journal of Biological Chemistry, 280, 35272-35280.
- Dasari, S. ve Tchounwou, P.B., 2014. Cisplatin in Cancer Therapy: Molecular Mechanisms of Action, Eur J Pharmacol, 740, 364-378.
- Davies, K.J.A. ve Goldberg, A.L., 1987. Oxygen Radicals Stimulate Intracellular Proteolysis and Lipid-Peroxidation by Independent Mechanisms in Erythrocytes, Journal of Biological Chemistry, 262, 8220-8226.
- Demir, S., 2010. Propolis Ekstraktlarının Fibroblast Hücre Serilerinde H₂O₂ ile Uyarılmış DNA Hasarı (Genotoksisite) Üzerine Etkisinin Comet Assay Yöntemi ile Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 73s.
- Demir, S., 2015. Türk Propolisinin Akciğer Kanseri (A549) Hücre Serisi Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin İncelenmesi, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 114s.
- Demir, S., Turan, I. ve Aliyazicioglu, Y., 2016. Selective Cytotoxic Effect of Rhododendron Luteum Extract on Human Colon and Liver Cancer Cells, Journal of Balkan Union of Oncology, 21, 883-888.
- Demir, S., Turan, İ. ve Aliyazıcıoğlu, Y., 2018. Cytotoxic Effect of Rhododendron Luteum Leaf Extract on Human Cancer Cell Lines, KSÜ Tarım ve Doğa Derg., 21, 950-956.
- Devi, P.S. ve Shyalama, D.C.S., 1999. Protective Effect of Quercetin in Cisplatin-Induced Cell Injury in The Rat Kidney, Indian Journal of Pharmacology, 31, 422-426.
- Dhima, I., Zerikiotis, S., Lekkas, P., Simos, Y. V., Gkiouli, M., Vezyraki, P., Dounousi, E., Ragos, V., Giannakopoulos, X., Baltogiannis, D., Kalfakakou, V., Evangelou, A., Peschos, D. ve Karkabounas, S., 2019. Curcumin Acts as a Chemosensitizer for Leiomyosarcoma Cells In Vitro But Fails to Mediate Antioxidant Enzyme Activity in Cisplatin-Induced Experimental Nephrotoxicity in Rats, Integrative Cancer Therapies, 18, 1-11.
- Dinç, A., 2019. Alcea dissecta ve Ruscus aculeatus l. Bitkilerinin Sıçanlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Modelinde Koruyucu Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 89s.
- Elsherbiny, N.M., Eladl, M.A. ve Al-Gayyar, M.M., 2016. Renal Protective Effects of Arjunolic Acid in a Cisplatin-Induced Nephrotoxicity Model, Cytokine, 77, 26-34.

- Eminağaoğlu, Ö., Beğen, H. ve Aksu, G., 2014. Türkiye'nin Vejetasyon Yapısı.(Editör) Akkemik, Ü. Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları I. Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara. pp. 54-68.
- Faubel, S., Lewis, E.C., Reznikov, L., Ljubanovic, D., Hoke, T.S., Somerset, H., Oh D. , Lu L. , Klein C.L. , Dinarello C. A. ve Edelstein C.L. 2007. Cisplatin-Induced Acute Renal Failure Is Associated with an Increase in the Cytokines Interleukin (IL) -1, IL-18 , IL-6 , and Neutrophil Infiltration in the Kidney, J Pharmacol Exp Ther, 322 (1), 8–15.
- Finkel, T., 2011. Signal Transduction by Reactive Oxygen Species, The Journal of Cell Biology, 1, 7-15.
- Florea, A.M. ve Büsselberg, D., 2011. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects, Cancers, 3(1), 1351–1371.
- Fouad, A.Y. ve Aanei, C., 2017. Revisiting the Hallmarks of Cancer, Am J Cancer Res, 7(5), 1016-1036.
- Gutteridge, J.M.C., 1995. Lipid-Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue-Damage, Clinical Chemistry, 41, 1819-1828.
- Halliwell, B., 1987. Oxidants and human disease: Some new concepts, FASEB Journal, 1, 358-364.
- Hanahan, D. ve Weinberg, A.R., 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation, Cell, 144, 646-674.
- Handayani, S., Dani, I.C., Budivan, D. ve Pakuanisa D., 2017. Study of DNA Adduct 8 Hydroxy-2'-Deoxyguanosine (8-OHdg) Formation Through Fenton Reaction with Tertbutylhydroquinone (TBHQ) and Butyl Hydroxy Toluene (BHT), Journal of Physics, 835, 1-7.
- Hasanvand, A., Pirzadroozbahani, N., Ahmadizar, F., Kharazmkia, A., Mir, S., Baharvand, P.A., Goudarzi, M. ve Khorramabadi, R.M., 2018. Evaluation of The Antioxidant Effects of Zolpidem in The Rat Model of Cisplatin-Induced Nephrotoxicity, Journal of Renal Injury Prevention, 7, 235-239.
- Hassan, S.M., Khalaf, M.M., Sadek, A.S. ve Abo-Youssef, A.M., 2017. Protective Effects of Apigenin and Myricetin Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity In Mice, Pharmaceutical Biology, 55, 766-774.
- Holmstrom, K.M. ve Finkel, T., 2014. Cellular Mechanisms and Physiological Consequences of Redox-Dependent Signalling, Nat. Rev. Mol. Cell Biol, 15, 411–21.
- Ighodaro, O.M. ve Akinloye O.A., 2018. First Line Defence Antioxidantssuperoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid, Alexandria Journal of Medicine, 54, 287-293.

- Iqbal, P.F., Malik, M.A. ve Wani, W.A., 2018. Serendipity of Cisplatin, and The Emergence of Metallodrugs in Cancer Chemotherapy, World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 7, 654-664.
- Işeri, S., Ercan, F., Gedik, N., Yüksel, M. ve Alican, I., 2007. Simvastatin Attenuates Cisplatin-Induced Kidney and Liver Damage in Rats, Toxicology, 230, 256-264.
- Jacop, J.R.S. ve Lavakumar, S., 2016. Nephroprotective Effect of Ethanolic Extract of Abutilon Indicum Root in Gentamicin Induced Acute Renal Failure, International Journal of Basic ve Clinical Pharmacology, 5, 841-45.
- Jamshidzadeh, A., Heidar, R., Golzar, T. ve Derakhshanfar, A., 2016. Effect of Eisenia foetida Extract against Cisplatin-Induced Kidney Injury in Rats, Journal of Dietary Supplements, 13(5), 551–559.
- Jiang, M., Wei, Q., Wang, J., Du, Q., Yu, J., Zhang, L. ve Dong, Z., 2006. Regulation of PUMA- α by p53 in cisplatin-induced renal cell apoptosis, Oncogene, 25, 4056–66.
- Kahraman, H.A., 2019. Ratlarda Formaldehit Toksikasyonu İle İndüklenen nefrotoksisite Ve Hepatoksisiteye Bağlı Oluşturulan Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Koruyucu Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, 67s.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş., 2016a. Serbest Radikaller, MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg., 4, 50-59.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş., 2016b. Antioksidanlar, MAE Vet. Fak. Derg., 1, 65-76.
- Karakan, M. ve Nazlıkul, H., 2017. Oksidatif Stres ve Serbest Radikallerin Vücut Üzerindeki Etkisi, Bilimsel Tamamlayıcı Tıp, Regülasyon ve Nöralterapi Dergisi, 11, 7-11.
- Kasnak, C. ve Palamutoğlu, R., 2015. Doğal Antioksidanların Sınıflandırması ve İnsan Sağlığına Etkileri, Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3, 226-234.
- Kelland, L., 2007. The Resurgence of Platinum-Based Cancer Chemotherapy, Nature Reviews Cancer, 7, 573–584.
- Köken, E., 2018. Sıçanlarda Sisplatin ile Oluşturulmuş Akut Böbrek Hasarının Tedavisinde Eksojen Follistatinin Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İzmir, 179s.
- Kroese, L.J. ve Scheffer, P.G., 2014. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and Cardiovascular Disease: A Systematic Review, Current atherosclerosis reports, 16, 452.
- Kröning, R., Lichtenstein, A.K. ve Nagami, G.T., 2000. Sulfur-Containing Amino Acids Decrease Cisplatin Cytotoxicity And Uptake İn Renal Tubule Epithelial Cell Lines. Cancer Chemother Pharmacol, 45, 43-49.

- Kumar, S. ve Pandey, A.K., 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, The Scientific World Journal, 1-16.
- Li, A., Li, S., Zhang, Y., Xu, X., Chen, Y. ve Li, H., 2014. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols, Nutrients, 6, 6020-6047.
- Li, G. ve Lou, H., 2017. Strategies to Diversify Natural Products for Drug Discovery, Med Res Rev., 38, 1255–1294.
- Li, S., Brault, A., Villavincencio, S.M. ve Haddad S.P., 2016. Rhododendron groenlandicum (Labrador tea), an antidiabetic plant from the traditional pharmacopoeia of the Canadian Eastern James Bay Cree, improves renal integrity in the dietinduced obese mouse model, Pharmaceutical Biology, 54, 1998-2006.
- Lopera, Y.E., Fantinelli, J., Gonzalez, L.F., Rojano, B., Rios, J.L., Schinella, G. ve Mosca S., 2013. Antioxidant Activity and Cardioprotective Effect of a Nonalcoholic Extract of Vaccinium meridionale Swartz during Ischemia-Reperfusion in Rats, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-10.
- Luye, Z., Jin, Z., Liangfang, D., Jian, L., Yan, Y., Jiankun, X. ve Xiangdong, L., 2020. The anti-inflammatory properties of *Rhododendron molle* G. Don leaf extract in LPS-induced RAW 264.7, Chemistry and Biodiversity, 1-18.
- Mahomoodally, M.F., Sieniawska, E., Sinan, K.I., Picot-Allain, M.C.N., Yerlikaya, S., Baloğlu, M. C., Altunoglu, C.Y., Senkardes, I., Rengasamy, R.R.K. ve Zengin. G., 2020. Utilisation of Rhododendron luteum Sweet Bioactive Compounds As Valuable Source of Enzymes İnhibitors, Antioxidant, and Anticancer Agents, Food and Chemical Toxicology, 135, 1-9.
- Majid, A., Hassan, S., Hussain, W., Khan, A., Hassan, A., Khan, A., Hassan, A., Khan T., Ahmad, T., Rehman, U. M., 2014. In vitro Approaches of Primula vulgaris Leaves and Roots Extraction against Human Pathogenic Bacterial Strains, World Appl Sci J., 30, 575 -80.
- Malkoç, M., Yaman, S.Ö., Imamoğlu, Y., İnce, İ., Kural, B.V., Mungan, S., Livaoglu, M., Yıldız, O., Kolaylı, S. ve Orem, A. 2019. Anti-İnflammatory, Antioxidant and Wound-Healing Effects of Mad Honey in Streptozotocin-İnduced Diabetic Rats, Journal of Apicultural Research, 1-11.
- Mammadov, R., Ili, P. ve Vaizoğullar, E.H.. 2011. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Gagea fibrosa and Romulea ramiflora, Iran. J. Chem. Chem. Eng., 30, 57-62.
- Manohar, S. ve Leung, N., 2017. Cisplatin Nephrotoxicity: A Review of The Literature, Journal of Nephrology, 31(1), 15-25.
- Marnett, L.J., 2002. Oxygen Radicals, Lipid Peroxidation and DNA Damage, Toxicology, 181, 219-222.

- Meral, R., Doğan, İ.S. ve Kanberoğlu G.S., 2012. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Antioksidanlar, İğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der., 2, 45-50.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15, 91-96.
- Merev, N. ve Yavuz, H., 2000. Ecological Wood Anatomy of Turkish Rhododendron L. (Ericaceae) Intraspecific Variation, Turk J. Bot, 24, 227-237.
- Mihara, M. ve Uchiyama, M., 1978. Determination of Malonaldehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test, Anal Biochem, 86, 271-278.
- Nakamura, T., Yonezawa, A., Hashimoto, S., Katsura, T. ve Inui K.I., 2010. Disruption of Multidrug and Toxin Extrusion MATE1 Potentiates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity, Biochemical pharmacology, 80, 1762-1767.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. ve Yönden, Z., 2015. Oksidatif Stres Ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri, Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6, 331-336.
- Özyurt, H., Çevik, Ö., Özgen, Z., Özden, A.S., Çadırcı, S., Elmas, M.A. ve Şener, G., 2014. Quercetin Protects Radiation-Induced DNA Damage And Apoptosis İn Kidney And Bladder Tissues Of Rats. Free radical research, 48, 1247-1255.
- Padmavathi, M., 2013. Drug Delivery System in Nano Greens, Int. J. Herbal Med, 1, 56-60.
- Pabla, N. ve Dong, Z., 2008. Cisplatin Nephrotoxicity: Mechanisms and Renoprotective Strategies, Kidney Int., 73, 994-1007.
- Palipoch, S., Punsawad, C., Chinnapun, D. ve Suwannalert, P., 2013. Amelioration of Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats by Curcumin and α -Tocopherol, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 12, 973.
- Pandey, K.B. ve Rizvi, S.I., 2009. Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease, Oxid Med Cell Longev, 2, 270 -278.
- Pandır, D. ve Kara, Ö., 2013. Cisplatin-induced kidney damage and the protective effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.): an experimental study, Turkish Journal of Medical Sciences, 43, 951-956.
- Popescu, R. ve Kopp, B., 2013. The Genus Rhododendron: An Ethnopharmacological and Toxicological Review, Journal of Ethnopharmacology, 147, 42-62.
- Rakhimzhanova, A., Kılınçarslan, Ö. ve Mammadov, R., 2018. *Stellaria media* Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi ve Fenolik Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8, 165-173.
- Ramesh, G. ve Reeves WB. 2003. TNFR2-mediated Apoptosis and Necrosis in Cisplatin-induced Acute Renal Failure, Am J Physiol Renal Physiol, 285, 610-618.

- Reczek, R.C. ve Chandel S.N., 2015. ROS-dependent Signal Transduction, Curr Opin Cell Biol. Author manuscript, 33, 8-13.
- Reczek, R.C. ve Chandel S.N., 2017. The Two Faces of Reactive Oxygen Species in Cancer, Annu. Rev. Cancer Biol.,1,79-98.
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. ve Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer: How Are They Linked? Free Radical Biology and Medicine 49, 1603-1616.
- Rocha, C., Silva , M., Quinet, A., Cabral-Neto, J. ve Menck, C., 2018. DNA Repair Pathways and Cisplatin Resistance: An İntimate Relationship, Clinics, 73, 1-10.
- Rosenberg, B., Van Camp, L. ve Krıgas, T., 1965. Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode, Nature, 205, 698–699.
- Ruggiero, A., Trombatore, G., Triarico, S., Arena, R., Ferrara, P., Scalzone, M., Pierri, F. ve Riccardi R., 2013. Platinum Compounds in Children With Cancer: Toxicity and Clinical Management, Anti-cancer drugs, 24, 1007-1019.
- Sanchez-Gonzalez, P.D., Lopez-Hernandez, F.J., Perez-Barriocanal, F., Morales, A.I. ve Lopez-Novoa, J.M., 2011. Quercetin Reduces Cisplatin Nephrotoxicity in Rats without Compromising İts Anti-Tumour Activity, Nephrol Dial Transplant, 26, 3484–3495.
- Sastry, J. ve Kellie, S.J., 2005. Severe Neurotoxicity, Ototoxicity and Nephrotoxicity Following High-Dose Cisplatin and Amifostine, Pediatr Hematol Oncol, 22, 441-445.
- Schieber, M. ve Chandel, S.N., 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress, NIH Public Access, 24, 453-462.
- Sen, S. Ve Chakraborty, R., 2011. The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy, Chapter, 1, 1-37.
- Sezer, K. ve Keskin, M., 2014. Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü, F.Ü.Sağ.Bil.Veterinerlik Dergisi, 28, 49-56.
- Sheikh-Hamad, D., Cacini ,W., Buckley, A.R., Isaac, J., Truong, L.D., Tsao, C.C. ve Kishore, B.K., 2004. Cellular and Molecular Studies on Cisplatin-İnduced Apoptotic Cell Death in Rat Kidney, Arch Toxicol, 78, 147–155.
- Sıralı, R. ve Cımbırtoğlu, Ş., 2018. Ormangülü (*Rhododendron*) Türlerinin Bazı Özellikleri ve Arıcılık Açısından Önemi, Arıcılık Araştırma Dergisi, 10, 45-53.
- Siddik, Z., 2003. Cisplatin: Mode of Cytotoxic Action and Molecular Basis of Resistance, Oncogene, 22, 7265–7279.

- Sierra, G.T., Pérez, E.D., Chinchillas, S.A. ve Chaverri, P.J., 2018. Role of Food-Derived Antioxidants Against Cisplatin Induced-Nephrotoxicity, Food and Chemical Toxicology, 120, 230–242.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G. ve Demirtas, A., 2009. Antioxidative Effect of Royal Jelly in Cisplatin-Induced Testes Damage, Urology, 74, 545-551.
- Strasser, A., Connor, L.O. ve Dixit, V.M., 2000. Poptosis İgnaling, Annu Rev Biochem, 69, 217-245.
- Süleyman, H., Vahdet, G. ve Erhan, E., 2018. Oksidatif Stres ve Doku Hasarı, Erzincan Tıp Dergisi, 1, 1-4.
- Şahin, M., 2019. Düzce İlinde Mor Çiçekli Orman Güllerinin (Rhododendron ponticum L.) Sera Ortamında Köklendirilmesi ve Kültüre Alınması, Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Düzce, 62s.
- Şentürk, N., 2010. Rhododendron luteum Bitkisinin Çiçeklerindeki Uçucu Yağ Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Ekstrenin Antioksidan Aktivitesinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Tokat, 37s.
- Tohamy, A.A., Abdella, E. M., Ahmed, R.R. ve Ahmed, Y.K., 2014. Assessment of Anti-Mutagenic, Anti-Histopathologic and Antioxidant Capacities of Egyptian Bee Pollen and Propolis Extracts, Cytotechnology, 66, 283-297.
- Tsuruya, K., Ninomiya, T., Tokumoto, M., Hirakawa, M., Masutani, K., Masutani, K., Taniguchi, M., Fukuda, K., Kanai, H., Kishihara K., Hirakata, H. ve Lida, M., 2003. Direct İnvolvevement Of The Receptor-Mediated Apoptotic Pathways İn Cisplatin-İnduced Renal Tubular Cell Death, Kidney Int., 63, 72–82.
- Turan, İ., 2011. Türk Propolis Ekstraktlarının Fibroblast Hücre Serilerinde Genotoksisite Üzerine Etkisinin DNA Tamir Enzimleri Vasıtasıyla İncelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 83s.
- Türk, G., 2013. Kemoterapötiklerin Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Yan Etkileri ve Koruyucu Stratejiler, Marmara Pharmaceutical Journal, 17, 73-92.
- URL 1, http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=6183. 08 Temmuz 2020.
- Verma, N., Singh, A. P., Amresh G., Sahu P. K., ve Rao C.V., 2011. Protective effect of ethyl acetate fraction of Rhododendron arboreum flowers against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in experimental models, Indian Journal of Pharmacology, 43, 291-295.
- Wei, Q., Dong, G., Franklin, J. ve Dong, Z., 2007. The Pathological Role of Bax in Cisplatin Nephrotoxicity, Kidney Int., 72, 53–62.

- World Health Organization, 2018. Pricing of cancer Medicines and Its Impacts, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>, accessed 18 November 2019. Son erişim tarihi: 19 Kasım 2019.
- Yagi, K., 1984. Assay of Blood Plasma or Serum, Methods in Enzymology, 109, 328-331.
- Yang, C., Kaushal, V., Shah, S.V. ve Kaushal, G.P., 2007. Mcl-1 is Downregulated İncisplatin-İnduced Apoptosis, and Proteasome İnhibitors Restore Mcl-1 and Promote Survival in Renal Tubular Epithelial Cells, Am J Physiol Renal Physiol, 292, 1710-1717.
- Yapar, K., Cavoşoğlu, K., Oruç, E. ve Yalçın, E., 2009. Protective Effect of Royal Jelly and Green Tea Extracts Effect Against Cisplatin-İnduced Nephrotoxicity in Mice: A Comparative Study, J Med Food, 12,1136-1142.
- Yazıcı, Y.T., 2018. Farklı Tohum Ekim Yöntemlerinin Orman Gülü (Rhododendron ssp.) Tohumlarının Çıkış Sıklıkları ve Fide Gelişimi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Kırşehir Ahi Evran Üniveristesi Fenbilimleri Enstitüsü, Kırşehir, 47s.
- Yokuş, B. ve Çakır, D. Ü., 2002. İn vivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri;8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine, T Klin J Med Sci, 22, 535-543.
- Yuluğ, E., Türedi, S., Karagüzel, E., Kutlu, O., Mentese, A. ve Alver, A., 2014. The Short Term Effects of Resveratrol on İschemia-Reperfusion İnjury in Rat Testis, J Pediatr Surg, 49, 484-489.

7. EKLER



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
KTÜ HAYVAN DENEYLERİ
YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Sayı : 53488718 - 788
Konu: Onay Belgesi

19.12.2018

Sayın; Doç. Dr. İbrahim TURAN

“Ratlarda Cisplatinin Neden Olduğu DNA Hasarı, Nefrotoksisite ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine *Rhododendron Luteum* Ekstraktının Koruyucu Etkisinin Araştırılması” başlık ve 2018/44 protokol numaralı çalışma önerisi Kurulumuzca incelenmiş olup; yürürlükteki etik ilke ve kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Prof. Dr. Serdar TÜRKYILMAZ
Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkan V.

Ek: 1 adet onay belgesi

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 61080 /Trabzon
	TELEFON	0462- 3775853—0462-3775403
	FAKS, E- posta	0462- 3252270 – etikhd@ktu.edu.tr

BASVURU BİLGİLERİ	ETİK KURUL DOSYA NO:	2018 / 44
	ÇALIŞMANIN ADI	“Ratlarda Cisplatinin Neden Olduğu DNA Hasarı, Nefrotoksisite ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine <i>Rhododendron Luteum</i> Ekstraktının Koruyucu Etkisinin Araştırılması”
	SORUMLU ARAŞTIRMACI	ÜNVANI/ADI/SOYADI Doç. Dr. İbrahim TURAN
		UZMANLIK ALANI Genetik ve Biyomühendislik
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Yüksel ALİYAZICIOĞLU, Prof.Dr.Süleyman TÜREDİ, Doç.Dr.Selim DEMİR, Dr.Öğr.Üyesi Gökçen KERİMOĞLU,Yük.Lis.Öğr.Deniz CANPOLAT
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	TEZ <input type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input checked="" type="checkbox"/>

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 6	Tarih: 18.12.2018
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak KTÜ Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na incelenmiş; yapılan inceleme sonucunda araştırmanın KTÜ Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun bulunarak onaylanmasına ve araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.	
	ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYILARI	35 Adet Sıçan
	BASLANGIÇ Tarihi ve ETİK KURUL İZİN SÜRESİ:	

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma ile İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ahmet AYAR Başkan	Fizyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Prof.Dr.Serdar TÜRKYILMAZ Başkan V.	Genel Cerrahi	KTÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi ABD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Ali CANSU Üye	Pediyatri	KTÜ Tıp Fakültesi Pediyatri ABD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Prof. Dr. Engin YENİLMEZ Üye	Histoloji ve Embriyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr.Zerrin PULATHAN Üye	Kalp ve Damar Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ABD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Tamer TÜZÜNER Üye	Pedodonti	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti ABD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU Üye	Temel Eczacılık Bilimleri Biyokimya	KTÜ Eczacılık Fakültesi Temel Eczacılık Bilimleri ABD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof.Dr.Nadir BAŞÇINAR Üye	Balıkçılık Teknolojisi	KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Balıkçılık Teknolojisi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. İsmail ABİDİN Üye	Biyofizik	KTÜ Tıp Fakültesi Biyofizik ABD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Emel ÇAKIR Üye	Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji ABD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Sait AL Üye	Veteriner Hekim	KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm.Dr.Nuran AYDIN Üye	Nöroloji	Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Bölümü	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	KATILMADI
Ecz.Hazım ÖZTUNA Üye	Eczacı		E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

ÖZGEÇMİŞ

1994 tarihinde Adana'da doğdu. İlköğretimini Cumhuriyet İlköğretim Okulu'nda tamamladı. 2008-2012 yılları arasında Karataş İMKB Lisesi'nde eğitim gördükten sonra 2013-2017 yıllarında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğabilimleri Fakültesi Genetik Bölümünde üniversite de eğitim gördü. 2017 yılında Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans programına başladı. Orta düzeyde İngilizce bilmektedir.

Proje deneyimi

Ratlarda cisplatinin neden olduğu dna hasarı, nefrotoksisite ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine *Rhododendron luteum* ekstraktının koruyucu etkisinin araştırılması GÜBAP 2902 Proje No: 19.F5119.02.03 **Araştırmacı**

Gümüşhane ve Çevresinde Bulunan Endemik *Pimpinella anisetum* Bitki Türünün Antidiyabetik ve Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması TÜBİTAK 2209-A Proje No: 1919B011600541 **Yürütücü**

Gümüşhane ve Çevresinde Bulunan Bazı Endemik Bitki Türlerinin Fenolik İçeriklerinin Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması TÜBİTAK 2209-A Proje No: 1919B011403632 **Araştırmacı**

Uluslararası ve ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

Deniz Canbolat, Elif Bekçi, Beyza Nur Karaboyun, Batuhan Arafat Özdilek, İbrahim Turan, Osman Üçüncü “Artvin Şavşat yöresi propolisinin kolon kromatografisi ile fraksiyonlara ayrılması ve ayrılan fraksiyonların temel biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi” 2nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 28-29 June 2019, Ankara, Türkiye, **pp**

Deniz Canbolat, Zeliha Özdemir, Ezgi Eren, Çağlar Demir ve İbrahim Turan “Fonksiyonel gıda özelliği arttırılmış propolisli ayran” 2nd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 28-29 June 2019, Ankara, Türkiye, **ss**

Sevim PİLİÇ, Sedanur KILINÇ, Yunus Emre KÜPELİ, **Deniz CANBOLAT**, İbrahim TURAN “Artvin Şavşat Yöresi Propolisinin Farklı Sıcaklıklardaki PBS’li Ekstraktlarının Antioksidan Özelliklerinin ve eritrosit Hemoliz İnhibisyonu Üzerine Etkisinin

Araştırılması” Uluslararası 19 Mayıs Multidisipliner Çalışmalar Kongresi 17-19 Mayıs 2019, Samsun, Türkiye, ss

Seda KARABELA, Bünyamin YAŞAR, İsmail KAYAHAN, **Deniz CANBOLAT**, İbrahim TURAN “Artvin Şavşat Bölgesindeki Propolisin Farklı Ekstraksiyon yöntemleri ve Farklı Çözücüler ile antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması” Uluslararası 19 Mayıs Multidisipliner Çalışmalar Kongresi 17-19 Mayıs 2019, Samsun, Türkiye, ss ve **Tam metin**

İbrahim Turan, Selim Demir, **Deniz Canbolat** ve Yüksel Aliyazıcıoğlu “Dorycnium pentaphyllum yaprak ekstraktının insan kanser hücre serilerindeki sitotoksik etkisi” 2. Uluslararası Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Kongresi, 24-27 Nisan 2019, İstanbul, Türkiye.

Nesibe ARSLAN BURNAZ, **Deniz CANBOLAT**, Tuğçe GÜNGÖR, Ebrucan ALAN, Levent ÇOŞKUN, Melike SEFAOĞLU “Determination of Phenolic Acid Composition in Wild Persimmon Fruit Seeds by HPLC-UV-DAD” 3. International Conference on Agriculture, FOOD, Veterinary and Pharmacy Sciences 16-18 Nisan 2019, Trabzon, Türkiye.

Deniz CANBOLAT, Ayşe ARSLAN, İbrahim TURAN “Investigation of Artvin Şavşat Area of different Extract the Antioxidant Activity of Propolis” Zeugma II. Uluslararası Multidisipliner Çalışmalar Kongresi 18-20 Ocak 2019, Gaziantep, Türkiye, ss ve **tam metin** (Zeugma II. Multidisipliner Kongresi tam metin kitabı, cilt:2, s.1265-1272)

Oğuzhan KENGER, Elif İMRAL, **Deniz CANBOLAT**, İbrahim TURAN “Comparison of The Vitamin C Values and Antioxidant Characteristic of The Rosehips (*Rosa canina*) Grown Around Gumushane According to Altitude Difference ” Zeugma II. Uluslararası Multidisipliner Çalışmalar Kongresi 18-20 Ocak 2019, Gaziantep, Türkiye, ss ve **tam metin** (Zeugma II. Multidisipliner Kongresi tam metin kitabı, cilt:2, s.1380-1396)

Deniz CANBOLAT, Sümeyye ARSLAN, Hüseyin TERCAN, Mert MOLLAHALİLOĞLU, Bermal TEKEŞ, Ubeydullah DAĞDEVİREN, Oğuzhan KENGER, Elif İMRAL, Zeliha ÖZDEMİR, İbrahim TURAN “Doğu Karadeniz Bölgesinde Bulunan *Rhododendron smirnowii* Bitki Türünün Antidiyabetik ve Antioksidan Türlerinin Araştırılması” (07.06.2017-09.06.2017), Yayın Yeri: KTÜ TTO Düşünden gerçeğine Proje Pazarı, 2017, pp

Deniz CANBOLAT, Melike SEFAOĞLU, Bermal TEKEŞ, Hasan YETİK, Büşra YILMAZ ve İbrahim TURAN “Gümüşhane ve Çevresinde Bulunan Bazı Endemik Bitki Türlerinin Yaprak Kısımlarının Antioksidan Özelliklerinin Araştırılması” IV. Biyomühendislik Öğrenci Kongresi 7-8 Nisan 2016 Elazığ, Türkiye Bildiri Özetleri Kitabı Syf 9, pp

pp: poster sunumu ss: sözlü sunum