

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA CİSPLATİNİN TETİKLEDİĞİ AKUT NEFROTOKSİSİTE
HASARI ÜZERİNE *Rosa canina* L. (KUŞBURNU) EKSTRAKTININ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS

Sema Duygu ÇİFTÇİ

TEMMUZ-2023
GÜMÜŞHANE



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA CİSPLATİNİN TETİKLEDİĞİ AKUT NEFROTOKSİSİTE
HASARI ÜZERİNE *Rosa canina L.* (KUŞBURNU) EKSTRAKTININ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF *Rosa canina L.* (ROSEHIP) EXTRACT
ON CISPLATIN-INDUCED ACUTE NEPHROTOXICITY DAMAGE IN RATS

YÜKSEK LİSANS

Sema Duygu ÇİFTÇİ

TEMMUZ-2023

GÜMÜŞHANE



T.C.

GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

RATLARDA CİSPLATİNİN TETİKLEDİĞİ AKUT NEFROTOKSİSİTE
HASARI ÜZERİNE *Rosa canina L.* (KUŞBURNU) EKSTRAKTININ ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF *Rosa canina L.* (ROSEHIP) EXTRACT
ON CISPLATIN-INDUCED ACUTE NEPHROTOXICITY DAMAGE IN RATS

YÜKSEK LİSANS

Sema Duygu ÇİFTÇİ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ

TEMMUZ2023

GÜMÜŞHANE

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Ratlarda Cisplatinin Tetiklediği Akut Nefrotoksisite Hasarı Üzerine *Rosa canina L.* (Kuşburnu) Ekstraktının Etkisinin İncelenmesi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

03/07/2023

.....
Sema Duygu ÇİFTÇİ

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Tüm tez çalışmalarım sırasında bilgilerinden faydalandığım ve yardımını esirgemeyen danışmanım olan Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ'a, Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyokimya laboratuvarı uygulamalarındaki desteklerinden dolayı Arş. Gör. Dr. Elif ŞAHİN'e, Araş. Gör. Neslihan SAĞIR'a, cerrahi işlemlerde katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Arif Burak ÇEKİÇ'e, histopatolojik desteklerinden dolayı Prof. Dr. Engin YENİLMEZ ve Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN'a, lisansüstü eğitimim boyunca dersleri, deneyleri beraber ilerlettiğim arkadaşım İnci AYDOĞDU'ya, tez çalışmalarım sırasındaki desteğinden dolayı nişanlım Hilmi KAYA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca hayatımın tüm dönemlerinde beni gönülden destekleyen, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen başta annem Feride ÇİFTÇİ, babam Mehmet ÇİFTÇİ, abim Hasan ÇİFTÇİ ve eşi Salime ÇİFTÇİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Sema Duygu ÇİFTÇİ
GÜMÜŞHANE-2023

ÖZET

Sisplatin, antineoplastik bir kanser ilacıdır. Nefrotoksisite, hepatotoksisite ve ototoksisite başlıca yan etkileridir. Yan etkilerin görülme sebebi oksidan ve antioksidan dengenin bozulmasıdır. Yaptığımız çalışmada zengin polifenolik içeriğe ve antioksidan, antiinflamatuvar özelliğe sahip kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvesinden elde edilen etanolik ekstraktın sisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Her bir deney grubunda 7'şer rat ile 5 deney grubu (kontrol, sisplatin, yüksek doz (400 mg/kg) kuşburnu, Cis+yüksek doz (400 mg/kg) kuşburnu ve Cis+düşük doz kuşburnu (200 mg/kg) grubu) oluşturuldu.

11 günlük besleme sürecinde kontrol grubuna SF, sisplatin grubuna deneyin 5. günü i.p tek doz Sisplatin (7,5 mg/kg), kuşburnu grubuna deney süresince kuşburnu ekstraktı, tedavi gruplarında ise sisplatin (5. Gün tek doz) ve kuşburnu ekstraktı oral yolla verildi. 12. gün gruplar sakrifiye edildi. Kanda BUN, CREA, TAS, TOS ve böbrek doku homojenizatlarında MDA, SOD, CAT, IL6, TNF- α , TAS ve TOS parametreleri ölçüldü. Gruplar arasında TOS doku, TAS serum dışında anlamlı farklılıklar gözlemlendi. BUN, doku TAS, serum TOS, MDA, SOD, TNF- α , IL-6 değerlerinin sisplatin grubu ile özellikle yüksek doz kuşburnu grubu arasında anlamlı derecede ($p<0.05$) farklılık gösterdiği tespit edildi. Sisplatinin böbrekte hasarı ve kuşburnunun önleyici etkisi histopatolojik analizlerle olarak teyit edildi. Özellikle yüksek doz kuşburnu uygulanan grupta düşük doz kuşburnu grubuna göre histopatolojik olarak belirgin iyileşme ve koruma tespit edildi.

Sonuç olarak kuşburnu ekstraktının sisplatinin oluşturduğu nefrotoksisite ve oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Cisplatin, Kanser, Nefrotoksisite, *Rosa canina*.

SUMMARY

Cisplatin is an antineoplastic cancer drug. Nephrotoxicity, hepatotoxicity and ototoxicity are main side effects. The reason for the side effects is the deterioration of the oxidant and antioxidant balance. In our study, it was aimed to investigate the effect of ethanolic extract obtained from rosehip (*Rosa canina*) fruit, which has rich polyphenolic content and antioxidant and anti-inflammatory properties, on cisplatin-induced-nephrotoxicity.

5 experimental groups (control, cisplatin, high-dose (400 mg/kg) rosehip, Cis+high-dose (400 mg/kg) rosehip and Cis+low-dose rosehip (200 mg/kg), that contain 7 rats in each group) was established.

During the 11-day feeding period, SF for the control group, i.p single dose Cisplatin (7.5 mg/kg) on the 5th day of the experiment, orally rosehip extract to the rosehip group throughout the experiment, and cisplatin (5th day single dose) and orally rosehip extract to the treatment groups were given. All groups were sacrificed on 12th day. BUN, CREA, TAS, TOS in blood and MDA, SOD, CAT, IL6, TNF- α , TAS and TOS parameters in kidney tissue homogenates were measured. Significant differences were observed between the groups except TOS tissue and TAS serum. BUN, tissue TAS, serum TOS, MDA, SOD, TNF- α , IL-6 values were found to differ significantly ($p<0.05$) between the cisplatin group and especially the high dose rosehip group. Kidney damage of cisplatin and preventive effect of rosehip were confirmed by histopathological analysis. Especially high cisplatin + high dose rosehip was found to be more effective histopathologically

As a result, it was concluded that rosehip extract has a protective effect against cisplatin-induced nephrototoxicity.

Keywords: Antioxidant, Cancer, Cisplatin, Nephrotoxicity, *Rosa canina* L.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLOLAR DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
EKLER DİZİNİ.....	XIV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XV
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Böbrek Anatomi ve Fizyolojisi	3
1.3. Kanser	5
1.4. Kemoterapi.....	6
1.5. Sisplatin.....	7
1.5.1. Sisplatinin Özellikleri	7
1.5.2. Sisplatinin Hücre İçine Alınışı.....	8
1.5.2.1. DNA-Platin Bağlarının Oluşumu ve Etki Mekanizması	9
1.6. Nefrotoksisite	10
1.6.1. Sisplatin Nefrotoksitesi	10
1.7. Böbrek Hücrelerinde Hasara Sebep Olan Hücre İçi Olaylar	11
1.8. Serbest Radikaller	12
1.8.1. Serbest Radikallerin İnsan Vücudunda Üretimi	12
1.8.2. Kanser Ve Oksidatif Stres	12
1.9. Antioksidanlar	12

1.10.Kuşburnu	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM	17
2.1. Kullanılan Cihazlar	17
2.2. Kullanılan Kimyasallar Malzemeler	18
2.3. Deney Hayvanları Gruplar ve Uygulamalar	19
2.3.1. Numunelerin Toplanması	20
2.3.2. Biyokimyasal Analizler	21
2.3.2.1. Serum Numune Analizleri	21
2.3.2.2. Doku Homojenizatları İçin Tampon Hazırlanması.....	21
2.3.2.3. Doku Homojenizatının Hazırlanması	22
2.3.2.4. Protein Miktar Tayini.....	23
2.3.2.5. SOD Aktivite Tayini	23
2.3.2.6. Katalaz Aktivite Tayini.....	24
2.3.2.7. MDA Analizi	25
2.3.2.8. IL-6 Analizi.....	27
2.3.2.9. TNF- α Analizi.....	28
2.3.2.10. Toplam Antioksidan (TAS) ve Toplam Oksidan (TOS) Kapasitesi.....	29
2.3.3. Histopatolojik Analizler.....	29
2.4. İstatistik.....	30
3. BULGULAR	31
3.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	31
3.1.1. BUN Düzeyleri	31
3.1.2. Kreatinin Düzeyleri	31
3.1.3. TAS-TOS Değerleri.....	32
3.1.4. Dokuda SOD Düzeyleri.....	35
3.1.5. Dokuda CAT Düzeyleri.....	35
3.1.6. Dokuda TNF- α Düzeyleri.....	36
3.1.7. Dokuda MDA Düzeyleri.....	37

3.1.8. Dokuda IL-6 Düzeyleri.....	38
3.2. Histopatolojik İnceleme	39
4. TARTIŞMA.....	47
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	54
KAYNAKÇA.....	55
EKLER.....	62
ETİK KURUL KARARI	63
ÖZGEÇMİŞ	66



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sisplatinin kimyasal özellikleri.....	8
Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları.....	17
Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları	18



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Böbreklerin vücuttaki konumu.	4
Şekil 2. Böbrek, adrenal bez ve renal pelvisin yakından görünümü	4
Şekil 3. Böbrek anatomisi	5
Şekil 4. Sisplatin moleküler yapısı.....	8
Şekil 5. Sisplatinin neden olduğu epitel hücre ölümü.....	9
Şekil 6. Sisplatinin DNA'daki pürin bazlarına bağlanması, etki mekanizması.....	10
Şekil 7. Sisplatin nefrotoksisitesi patogenez	11
Şekil 8. Sisplatinin neden olduğu başlıca akut tübüler hücre hasarındaki yollar	11
Şekil 9. Böbrek hasarında endojen kaynakların oksidatif stres ve antioksidan tepkimelerine yönelik genel bakış	14
Şekil 10. Kuşburnu yetiştirme bölgeleri	15
Şekil 11. Kuşburnu çiçeği ve meyveleri	15
Şekil 12. Kuşburnu genel özellikleri.....	16
Şekil 14. Kuşburnu ekstraktının gavaj ile uygulanması.....	20
Şekil 15. Ratlara sisplatin (i.p) uygulanması	20
Şekil 16. Sakrifikasyon sonrası organların çıkarılması.....	21
Şekil 17. Doku protein ölçümünde kullanılan standart grafiği	23
Şekil 18. Doku SOD tayininde kullanılan standart grafiği	24
Şekil 19. Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği	26
Şekil 20. Doku IL6 ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	28
Şekil 21. Doku TNF- α ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	29
Şekil 22. Serumda BUN değerleri.....	31
Şekil 23. Serumda kreatinin değerleri.....	32
Şekil 24. Doku örneklerinde TAS değerleri.....	32
Şekil 25. Doku örneklerinde TOS değerleri.....	33
Şekil 26. Serum örneklerinde TAS değerleri	34
Şekil 27. Serum örneklerinde TOS değerleri	34
Şekil 28. Doku örneklerinde SOD değerleri	35
Şekil 29. Doku örneklerinde CAT değerleri	36
Şekil 30. Doku örneklerinde TNF- α değerleri	37
Şekil 31. Doku örneklerinde MDA değerleri.....	37
Şekil 32. Doku örneklerinde IL6 değerleri	38

Şekil 33. Kontrol grubu (H&E (x400))	40
Şekil 34. Sisplatin Grubu (H&E (x400)).....	40
Şekil 35. Sisplatin + Yüksek Doz Kuşburnu Grubu (H&E (x400)).....	41
Şekil 36. Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu(H&E (x400))	41
Şekil 37. Yüksek Doz Kuşburnu Grubu (H&E (x400)).....	42
Şekil 38. Kontrol grubu (Masson Trikrom (x400)).....	42
Şekil 39. Sisplatin (Masson Trikrom (x400))	43
Şekil 40. Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu(Masson Trikrom (x400))	43
Şekil 41. Sisplatin+Yüksek Doz Kuşburnu Grubu (Masson Trikrom (x400))	44
Şekil 42. Kontrol grubu (PAS Boyama(x400)).....	44
Şekil 43. Sisplatin Grubu (PAS Boyama(x400))	45
Şekil 44. Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu (PAS Boyama(x400))	45
Şekil 45. Sisplatin + Yüksek Doz Kuşburnu Grubu (PAS Boyama(x400)).....	46
Şekil 46. Yüksek Doz Kuşburnu Grubu (PAS Boyama(x400)).....	46

EKLER DİZİNİ

EK 1. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası.....	62
--	----



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	:Yüzde
μ	:Mikro
μ l	:Mikrolitre
μ M	:Mikromolar
mM	:Milimolar
dL	:desilitre
BUGEM	:Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü
HCl	:Hidroklorik asit
L	:Litre
g	:Gram
cm	:Santimetre
KVH	: Kardiyovasküler hastalık
mL	:Mililitre
mg	:Miligram
NO [•]	:Nitrik Oksit Radikali
NO ₂ .	:Azot Dioksit
O ₂ -.	:Süperoksit Anyonu
QE	:Kuersetin eşdeğeri
R ²	:Korelasyon katsayısı
RNS	:Reaktif Azot Türleri
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
TNF- α	:Tümör Nekroz Faktör Alfa
IL-6	:İnterlökin 6
IL-1	:İnterlökin 1
IL-1 β	:İnterlökin 1 Beta
BUN	:Kan Üre Azotu
CREA	:Kreatinin
MDA	:Malondialdehit
SOD	:Süperoksit Dismutaz
CAT	:Katalaz
GPx	:Glutasyon Peroksidaz

GR	:Glutasyon Redüktaz
TAS	:Total Antioksidan Kapasite
TOS	:Total Oksidan Kapasite
NADPH	:Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
TBA	:Tiyobarbitürik Asit
BSA	:Bovine Serum Albumin
BCA	:Bisinkoninik asit
ROT	:Reaktif Oksijen Türleri
DNA	:Deoksiribonükleik Asit
Cis	:Sisplatin
YDK	:Yüksek Doz Kuşburnu
DDK	:Düşük Doz Kuşburnu
CTR1	:Copper Transporter 1
ATP	:Adenozin Trifosfat
GFR	:Glomerüler Filtrasyon Hızı
OCT2	:Organik Katyon Taşıyıcısı 2
eNOS	:Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ETS	:Elektron Taşıma Sistemi
PBS	:Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltilisi
KCl	:Potasyum Klorür
IV	:İntravenöz
IP	:İntraperitoneal
HRP	:Horseradish Peroxidase
TMB	:3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
SF	:Serum Fizyolojik

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Amaç

Kanser, hücrenin büyüme ve gelişimini sağlayan kontrol mekanizmalarının bozulması ile meydana gelen hücrelerin kontrolsüz büyümesi sonucu doku ve organlarda görülen bir hastalıktır (Akdeniz ve Yardımcı, 2016). Kanserlerde tedavi yöntemleri cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyoterapidir (Ada vd., 2021). Tedavide en çok tercih edilen yöntem kemoterapidir (Pekmezci vd., 2022). Kemoterapi, kanserin yayılımını önlemek, tümörün büyümesini yavaşlatmak, kanser hücrelerini yok etmek amacıyla uygulanan bir tedavidir (Karakoç vd., 2015). Antineoplastik ilaçlar yoğun olarak kemoterapi tedavisinde kullanılmaktadır. Antineoplastik ilaçlar vücutta çoğalmakta olan kanser hücrelerini öldürdüğü gibi, hızlı çoğalan sağlıklı hücreleri de öldürmektedir. Bu nedenle yan etkileri çoktur. Bunlar hepatotoksisite, nöropati, genel ağrı, bulantı, kusma, saç dökülmesi, artmış enfeksiyon riski, fonksiyon bozukluğu ve nefrotoksisite şeklindedir (Karakoç vd., 2015; Cherry vd., 2004). Böbrek hücrelerinin hızlı bölünme yeteneği olmamasına rağmen yüksek kan akışı ile karşılaşması, tübüler epitelde özel taşıyıcılara sahip olması ve medüller interstisyumda toksinleri konsantre etmesi nedeniyle toksik zedelenmeye karşı duyarlıdır (Erkurt vd., 2009). Antineoplastik ilaçlar arasında yaygın olarak kullanılan yüksek etkiye sahip ajanlardan biri sisplatindir (Çetintaş ve Eroğlu, 2013).

Sisplatin (Cis-diamindikloroplatin II), serviks, testis, over, küçük hücreli dışı akciğer, lenfoma, baş ve boyun gibi birçok kanser tedavisinde kullanılan klinik olarak gelişmiş ve oldukça etkili bir antikanser ilacıdır (Çetintaş ve Eroğlu, 2013). 1960'larda sitotoksik özelliklere sahip olduğu keşfedilip, 1970'lerin sonunda germ hücreli kanserlerin sistemik tedavisinde anahtar bileşen olarak bir yer edinmiştir. 1978'de kanser tedavisi için FDA onaylı ilk platin bileşiği olmuştur. Sisplatinin klinik açıdan en önemli başlıca yan etkileri nefrotoksisite, hepatotoksisite, ototoksisite ve kardiyomiyopati olarak bilinmektedir (Fang vd., 2021). Sisplatinin klinik kullanımını sınırlandıran en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir (Eren vd., 2012). Sisplatin tedavisi alan kanserli hastaların %20-35'inde ilaca bağlı nefrotoksisite riski olduğu ifade edilmektedir (Marchandise vd., 2017). Yapılan çalışmalarda yaşlılarda, kadınlarda, hipoalbuminesi olan ve renal yetmezliği bulunan hastalarda nefrotoksisite riski daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Eren vd., 2012). Yine de, takip eden yıllar boyunca daha

az toksik ama eşit derecede etkili alternatifler bulmak için gösterilen yoğun çabalara rağmen, sisplatin yaygın olarak reçete edilmeye devam edilmektedir (Miller vd., 2010). Sisplatinin neden olduğu nefrotoksisitenin temel nedeni artan reaktif oksijen türlerinden kaynaklı oksidatif stres olduğu belirtilmiştir (Liu vd., 2017).

Sisplatin nefrotoksisitesi, sisplatinin renal epitel hücrelerine taşınmasının, nükleer ve mitokondriyal DNA'nın hasarının, çoklu hücre ölümünün ve güçlü bir inflamatuvar yanıtın başlamasının bileşik sonucudur. Bunun da akut böbrek hasarı (ABH) sebebi ile ölümlere neden olduğu ifade edilmektedir. Sisplatin uygulaması böbrek nötrofil içeriğinde bir artışa neden olmaktadır (Miller vd., 2010). Bağlanmamış sisplatin, glomerülden serbestçe süzülmemekte ve esas olarak taşıma aracılı bir işlemle renal tübüler hücrelere alınmaktadır. İlaç, metabolizmada en azından kısmen toksik bileşiklere dönüşebilirler. Sisplatin, DNA'ya bağlanarak genleri düzenlemek, reaktif oksijen türleri ile doğrudan sitotoksositeye neden olmak, mitojenle aktive olan protein kinazları aktive etmek, apoptozu başlatmak, fibrojenezi ve inflamasyonu uyarmak dâhil olmak üzere birçok hücre içi etkiye sahiptir. Bu olaylar tübüler hasara ve magnezyum, sodyum ve potasyum kaybına sebep olur ve bu da tübüler disfonksiyona neden olmaktadır. Çoğu hastada glomerüler filtrasyonda geri dönüşümlü bir azalma vardır, ancak bazılarında glomerüler filtrasyonda geri dönüşümsüz bir azalma vardır (Yao vd., 2007).

Vücutta neredeyse tüm elektronlar çift halinde bulunmaktadır. Çift elektronlar arasındaki bağ koptuğunda elektronlar ya ayrılıp başka atomlara dönüşmekte ya da iki elektron birlikte kalıp bir atoma dönüşmektedir. Birlikte kalan atoma iyon denir. Ayrılan elektronlar ise serbest radikalleri oluşturur. Eşleşmemiş elektronlar yüksek enerjili olup, eşleşmemiş olan elektronları ayırıp fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Serbest radikaller, oksidatif reaksiyonlarla lipid, nükleik asit ve protein gibi vücuttaki bileşiklere zarar vermektedir. Bu durum birçok biyolojik soruna yol açmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikaller için elektron hedefleri oluşturmaktadır. Serbest radikallere uygun elektronun bağlanması sonucu stabil yapı oluşmaktadır (Aydemir ve Sarı, 2009).

Kuşburnu (*Rosa Canina L.*) bitkisi, meyve ve yaprakları geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan bir türdür. Kuşburnu boyu 1.5-3.5 m. uzunluğunda dalları geriye kıvrık, bazen tırmanıcı bazen dik çalı olan ve değişik şekilleri bulunan bir türdür. Çiçekler tekli bulunur ya da 2-15 tanesi bir arada bulunurlar. Mayıs-haziran ve temmuz ayları çiçeklenme zamanıdır. Kuşburnu 30- 2500 m. rakımlarında orman açıklarında ve kayalık yamaçlarda yaygın olarak yetişir. Türkiye'nin hemen hemen her yerinde Kuşburnu türü bulunmaktadır (Öz vd., 2018). Türkiye'de özellikle Gümüşhane, Sivas,

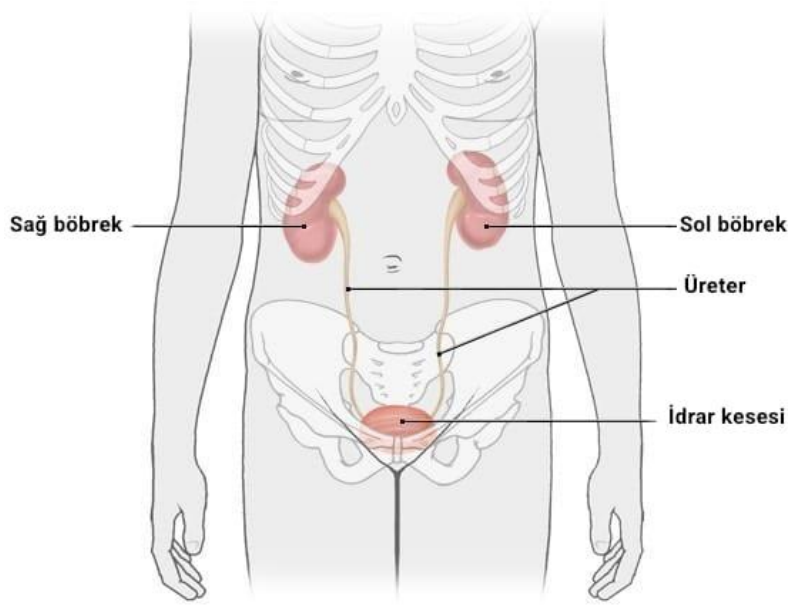
Tokat, Erzurum ve Erzincan'da yaygın olarak bulunur (Okçu vd., 2017). Kuşburnu bitkisinin gerek meyve gerek çekirdek gerekse yapraklarının geleneksel tıpta yaygın biçimde kullanıldığı görülmektedir. İnfluenza, gut hastalığı, mide barsak sendromları, safra yolu bozuklukları ve taş oluşumu, romatoid artrit, osteoartrit, diyabet, hipertansiyon gibi çeşitli hastalıkların tedavi ve etkilerinin azaltılmasında kullanılmaktadır (Sadeghi vd., 2021). Kuşburnu güçlü bir antioksidan ve anti-inflamatuar özelliğe sahiptir ve bunu yüksek C, E, B vitaminleri, fenolik asitler, karotenoidler, tokoferoller, proantosiyanidinler, pektin, tanenler, flavonoidler, doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri, fosfolipidler, mineraller, galaktolipidler sayesinde gerçekleştirmektedir. Sadeghi ve arkadaşları bir antibiyotik olan vankomisin akut böbrek hasarının giderilmesinde kuşburnunun hidroalkolik ekstraktının etkin olduğunu ortaya koymuşlardır (Sadeghi vd., 2021).

Bu çalışmada kuşburnu meyvelerinin sahip olduğu yüksek antioksidan-anti-inflamatuar etkisi sayesinde sisplatin uygulamalarında oluşan oksidatif stresi azaltacağı, zayıflayan ve/veya bozulan antioksidan dengeyi yeniden sağlayabileceği ve dolayısı ile sisplatinin akut böbrek hasarını ve tedavinin kesilme riskini azaltabileceği değerlendirilmektedir.

1.2. Böbrek Anatomi ve Fizyolojisi

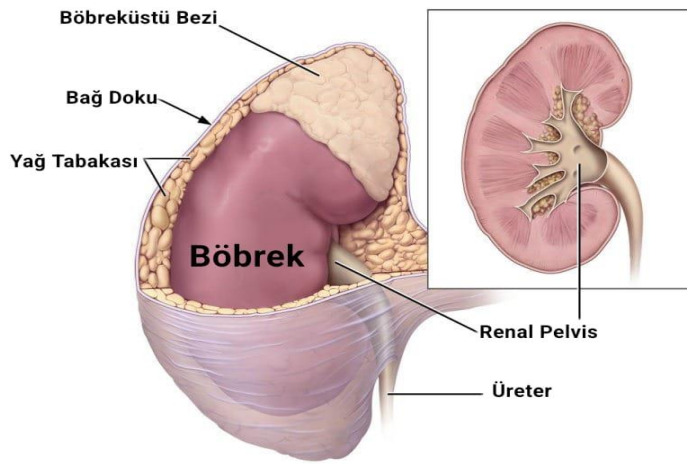
Böbrekler, erkeklerde 150 ila 200 g ve kadınlarda yaklaşık 120 ila 135 g ağırlığında, medial içbükey ve yanal dışbükey fasulye şeklindeki organlardır. Boyutları genellikle 10 ila 12 cm uzunluk, 5 ila 7 cm genişlik ve 3 ila 5 cm kalınlıktır. Her böbrek kapalı bir yumruk büyüklüğündedir (Soriano vd, 2023).

Renal sistem böbrek, üreterler ve üretradan oluşur. Sistemin genel işlevi böbrek kan akışından günde yaklaşık 200 litre sıvıyı filtreleyerek toksinlerin, metabolik atık ürünlerin ve fazla iyonun atılmasını sağlarken temel maddeleri kanda tutar. Böbrekler, vücuttaki su, çözünen maddeler ve elektrolitlerin dengesini düzenleyerek plazma ozmolaritesini kontrol eder. Uzun süreli asit-baz dengesini sağlar ve ayrıca kırmızı kan hücresi üretimini uyaran eritropoietin üretir. Ayrıca kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Renin üreterek kan basıncını düzenler ve D vitamininin aktif formuna dönüşümünü gerçekleştirir (Ogobuiro ve Tuma, 2023)



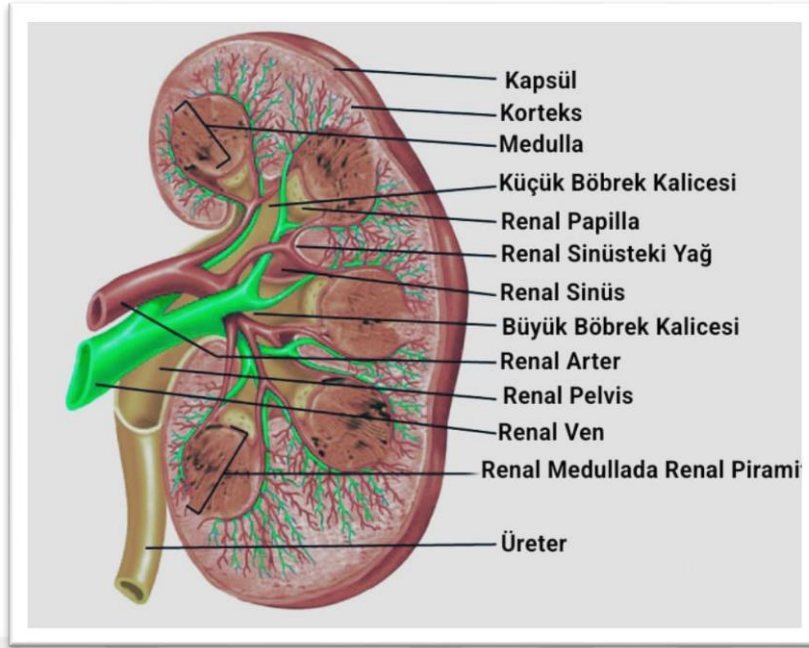
Şekil 1. Böbreklerin vücuttaki konumu (Leslie ve Sajjad, 2022).

Her böbrek, böbrek kapsülü adı verilen, yağ veya bağ dokusundan yapılmış üç katmanla kaplıdır. Bu tabakalar böbreğe ekstra sabitlik verir, onu çevreleyen dokuya bağlamak için böbreğin çevresindeki tabakalar önemli bir role sahiptir.



Şekil 2. Böbrek, adrenal bez ve renal pelvisin yakından görünümü (Leslie ve Sajjad, 2022).

Böbrek, dıştan içe doğru iki ana bölümden oluşur. Dış tabaka renal korteks olarak adlandırılır. Renal korteks, böbreğin dışında yer alan ve tübüler yapıları içeren bölümdür. İdrarın üretildiği yaklaşık 1.2 milyon renal korpüsküller içerir. Renal medulla böbreğin içinde bulunur. Renal medulladan kan damarları ve dolambaçlı renal tübüller geçer. İdrar, böbreklerdeki tübüler yapılar boyunca geçerek renal pelvis olarak adlandırılan genişlemiş bir bölgeye ulaşır (Soriano vd, 2023).



Şekil 3. Böbrek anatomisi Leslie ve Sajjad, 2022'den adapte edilmiştir.

1.3. Kanser

Hücrelerin anormal bir şekilde kontrolsüz olarak çoğalması ile karakterize edilen kanser, yüksek oranda ölüme neden olması nedeniyle günümüzde en önemli kronik sağlık sorunlarından biridir. Dünya genelinde kanser sıklığı artmaktadır (Bağçivan vd., 2015). Kanser, dünya genelinde en ölümcül hastalıklar arasında yer almaktadır ve önümüzdeki yıllarda ölüm nedenleri arasında birinci sıraya yükselmesi beklenmektedir (Çevik ve Pirinçci, 2017).

Tüm kanserlerin, DNA dizisinde meydana gelen anormalliklerle oluştuğu bilinmektedir. Kanserin oluşumunda, kalıtsal olarak aktarılan genlerin katkısı %10-15 arasında yer alırken, geri kalan %85-90 oranındaki vakalar yaşam boyunca canlı hücrelerin DNA'sının mutajenlere maruz kalması, hafif progresif değişiklikler ve replikasyon hataları gibi etkiler sonucunda meydana gelir. Bu mutasyonlardan biri, hücre büyümesini teşvik ederek kanser klonlarının oluşmasına neden olabilir (Yokuş ve Çakır, 2012).

Kanser, birçok faktörün etkisiyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Bakterilerden virüslere, radyasyondan kalıtıma, çevresel faktörlere, beslenme alışkanlıklarına ve kimyasallara kadar pek çok etken, kanser oluşumunda rol oynamaktadır (Yokuş ve Çakır, 2012).

Kanser hücreleri ve normal hücreler birbirinden farklıdır:

- Artmış enerji ihtiyaçları söz konusudur. Yüksek telomeraz aktivitesi sayede ölümsüzdürler.
- Vaskülerizasyonu tetiklerler.
- Bazı durumlarda metastatik (yayılıcı) özellik gösterirler. Bulundukları ortama uyum sağlayabilirler.
- Hücre döngüsünde apoptotik sinyallerden kaçarak kontrolsüz çoğalmaya devam ederler ve bu süreçte kendilerine özgü sinyalleşme yaparlar.
- Hücre yüzeyinde reseptörler daha fazla sinyal alırlar (Baykara, 2016).

Kanserin en belirleyici özelliği, anormal bir şekilde büyüyerek, çevreleyen dokuyu veya organı bastırabilir. Bu durum, normal doku ve organların işlevini engelleyebilir veya bozabilir. (Nayak ve Pal, 2010). Kanser hücreleri, lenf veya kan dolaşımı yoluyla başka vücut bölgelerine geçerek farklı organlarda da tümör oluşumuna neden olabilir. Metastaz olarak adlandırılan bu tümörleri oluşturan hücreler Kanser hücreleri, zorlu koşullara karşı gösterdikleri direnç ve zamanla kendi lehlerine çevirdikleri bu koşullar sayesinde hayatta kalabilen zeki hücrelerdir. Az besin ve az oksijen gibi zorlu koşullara karşı gösterdikleri direnç, kanser hücrelerinin yaşama tutunmasını sağlar. Kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı olarak şekil değiştirebilirler. Kanser her türü aynı değildir ve birçok kanser türü başlangıçta belirti vermez. Genel belirtiler kanserin türüne göre değişebilir ve her kanser türünün kendine özgü belirtileri vardır (Baykara, 2016).

Tümörün bulunduğu bölgeyi hedefleyen yerel tedavi yöntemlerine (cerrahi, radyoterapi) ek olarak, sistemik tedavilerde (kemoterapi) sitotoksik ilaçlar kullanılmaktadır. Kemoterapi, kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engelleyen ya da öldüren toksik maddelerin kullanımını içeren bir tedavi yöntemidir. Bu toksik maddeler genellikle kanser hücrelerinin DNA'sına zarar verir ve bölünmelerini önleyerek öldürür. Ancak, kemoterapinin olumsuz yan etkileri nedeniyle, sadece kanserli hücreleri hedeflemek yerine vücudun sağlıklı hücrelerine de zarar verebilir. Ayrıca kemoterapi, hastanın bağışıklık sistemini baskılamakta ve hastanın diğer hastalıklara karşı direncini azaltmaktadır (Chen vd., 2009).

1.4. Kemoterapi

Kemoterapi, hızlı çoğalan hücreleri hedef alarak öldürmek için doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar veya hormonlar kullanılan bir tedavi yöntemidir. Kanser tedavisinde sıklıkla tercih edilir ve küratif etkileri nedeniyle hastalığın

ilerlemesini yavaşlatmak, geriletmek veya durdurmak için geniş çapta kullanılmaktadır (Ateş ve Olgun, 2013).

Kemoterapi uygulaması, kanser hücrelerinin kontrol altına alınması veya yok edilmesi amacıyla gerçekleştirilirken, sağlıklı hücrelerin de zarar görmesi nedeniyle birçok yan etki meydana gelebilir. Özellikle kemoterapinin en önemli yan etkilerinden biri kemik iliği baskılanmasıdır ve buna bağlı olarak gelişen lökopeni, trombositopeni ve anemi gibi durumlar, hastalar için rahatsız edici olabilir. Bunların yanı sıra, ağrı, yorgunluk, saç dökülmesi, bulantı, kusma, uyku problemleri, ağız içi yaralar, kabızlık, anksiyete ve depresyon gibi istenmeyen semptomlar da ortaya çıkabilir (Frye, 2009). Kemoterapi ilaçları genellikle i.v yolla verilirken, aynı zamanda deri altı, kas içi, arter içi, beyin-omurilik sıvısı içine, deriye sürme, karın zarı içine, göğüs boşluğuna, mesaneye ve beyin ventriküllerine de uygulanabilir (Altıntaş, 2019).

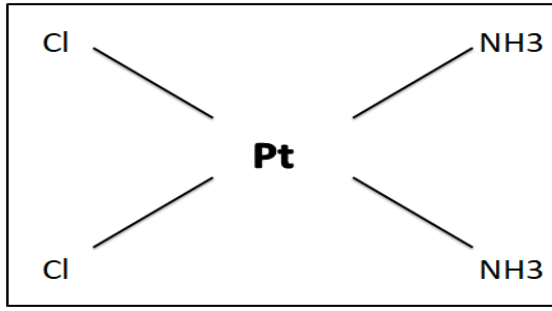
Antineoplastik kemoterapinin temel prensibi, tümör hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya mümkünse yok etmek için hastanın veya konakçının normal hücrelerine zarar vermeden çalışmaktır. Antineoplastik ilaçların kanser hücrelerine özgüllükleri sınırlıdır, çünkü kalitatif açıdan malign hücre ile normal hücreler arasında büyük bir fark yoktur. Kantitatif farklılıklar daha çoktur. Bu nedenle, antineoplastik ilaçlar kanser hücrelerini yok etmenin yanı sıra, hızla çoğalan normal hücreleri (testisin jerminatif epiteli, kemik iliğinin hematopoietik hücreleri, bağırsak ve ağız mukoza epiteli, kıl folikülü hücreleri, fetüs ve embriyo hücreleri) yok edebilirler (Arslankılıç vd., 2020).

Kemoterapide yaygın olarak kullanılan ilaçlar; alkilleyici ajanlar (Platinler, oksazofosforinler, azothardalı türevleri), antimetabolitler (Antifolatlar, primidin analogları), topoizomeraz inhibitörleri (Topoizomeraz1 inhibitörleri, topoizomeraz2 inhibitörleri), mitotik inhibitörler (taksanlar, vinca alkaloidler), antitümör antibiyotikler (bleomisin, antrasiklinler, mitoksantron) (Altıntaş, 2019).

1.5. Sisplatin

1.5.1. Sisplatinin Özellikleri

Sisplatin (cis-diaminokloroplatinum (II)) ortada platin atomu çevresinde amonyum ve klor atomları bulunan yatay düzlemde cis pozisyonda bir platin kompleksidir (Tüfekçi, 2009). İki izomere sahiptir. Cis ve trans'tır. Bu formlardan yalnızca cis sitotoksiktir (Uzunoğlu, 2009).



Şekil 4. Sisplatin moleküler yapısı (Tüfekçi, 2009).

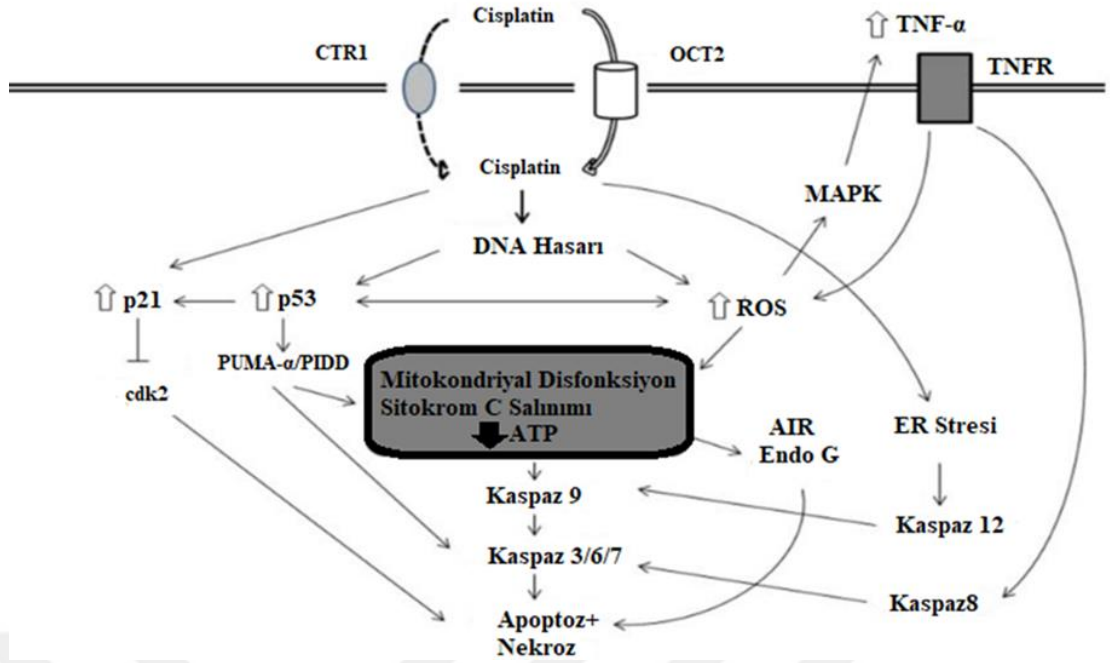
Tablo 1. Sisplatinin kimyasal özellikleri (Tüfekçi, 2009).

Sistemik Adı	cis-diaminokloroplatinum
Moleküler Formül	C12 H6 N2 Pt
Moleküler Ağırlık	300.1
Renk	Koyu Sarı (Kristal Katı) ve Berrak (Çözelti)
Yapı	Tetragonal Düzlemsel
Erime Noktası	270°C

Sisplatin nükleer DNA'ya bağlanarak transkripsiyon ve replikasyonu bozarak, sinyal iletim yollarını aktive ederek sitotoksik özelliklerini sağladığı düşünülmektedir. Sisplatin hücrenin mitokondrisine zarar verir, hücre döngüsünü duraklatır, ATPaz aktivitesini engeller, nekroz, apoptoz, hücre ölümü ve inflamasyona sebep olur (Tüfekçi, 2009).

1.5.2. Sisplatinin Hücre İçine Alınışı

İlk yapılan çalışmalarda sisplatinin pasif difüzyon ile hücre içine alındığı öne sürülmüştür. Fakat yapılan son çalışmalarda hücre içine sisplatinin aktif olarak alınmasında bakır transport protein olan CTR1'in (copper transporter 1) etkili olduğu gösterilmiştir (Holzer vd.,2004).

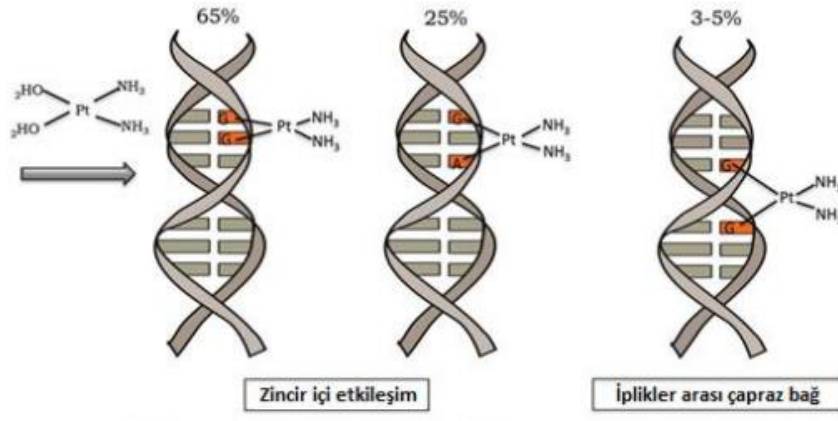


Şekil 5. Sisplatinin neden olduğu epitel hücre ölümü Miller vd., 2010'dan adapte edilmiştir

Sisplatin renal hücelere OCT2 ve az miktarda CTR1 taşıyıcıları yoluyla girer. Sisplatin nükleer ve mitokondriyal DNA'da hasara neden olur. Ayrıca hem mitokondriyal hem de mitokondriyal olmayan apoptoz ve nekroz yollarının aktivasyonuna yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesine neden olur (Miller vd., 2010).

1.5.2.1. DNA-Platin Bağlarının Oluşumu ve Etki Mekanizması

Sisplatin DNA ile etkileşime girerek kanser hücelerinin büyümesini durdurur. Sisplatinin DNA'ya bağlanması sıklıkla DNA zincirlerinin konformasyonunda değişikliklere neden olur. Sisplatin, DNA'da intrastrand (aynı DNA zinciri üzerinde) ve interstrand (farklı DNA zincirleri arasında) çapraz bağlar oluşturabilir. Bu da daha sonra DNA'nın normal yapısını bozar, DNA replikasyonu ve transkripsiyonunu bloke ederek çeşitli hücelesel sinyal yollarını başlatır ve nihayetinde apoptozu tetikler. Böylece, kanser hücelerinin büyümesi ve çoğalması durdurulur. Ancak, sisplatinin DNA ile etkileşimi, aynı zamanda sağlıklı hücelerde de yan etkilere neden olabilir (Zeng vd., 2019).



Şekil 6. Sisplatinin DNA'daki pürin bazlarına bağlanması, etki mekanizması (Rocha vd., 2018'den aktaran Şahin, 2022)

1.6. Nefrotoksisite

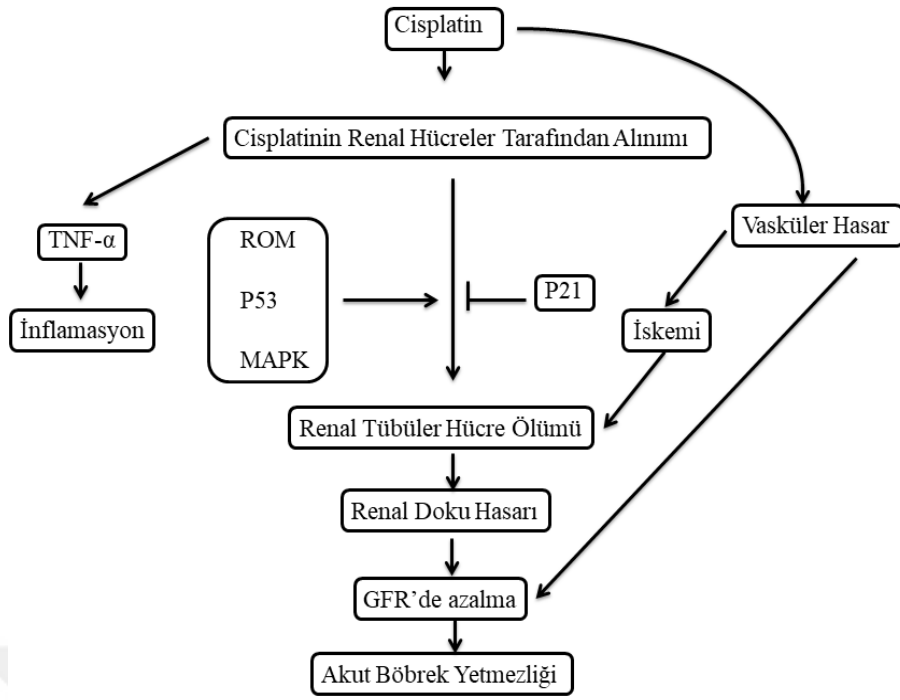
Nefrotoksisite, çeşitli maddelerin böbrek fonksiyonu üzerinde olumsuz etkileri olarak tanımlanabilir (Perazella, 2009). Nefrotoksisitenin yaklaşık %20'sinin ilaçlarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak, ortalama yaşam süresi arttıkça, nefrotoksisite insidansı da artış gösterebilir. Bu durum, yaşlanma sürecinde böbreklerin işlevsel değişikliklere uğraması ve ilaçların böbrekler üzerindeki etkilerinin artmasıyla ilişkilidir (Şahin, 2022).

1.6.1. Sisplatin Nefrotoksisitesi

Kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan antineoplastik ilaçlardan biri sisplatindir. Sisplatinin klinik olarak kullanımını sınırlandıran ve en ciddi yan etki nefrotoksisitedir. Sisplatin kullanımı sonucu farklı şekillerde nefrotoksisite ortaya çıkmaktadır. Bunlar;

Akut böbrek yetmezliği, fanconi benzeri sendrom, hipomagnazemi, hipokalsemi, renal konsantrasyon defektleri, distal renal tübüler asidoz, geçici proteinüri, hiperürisemi, trombotik mikroanjiyopati, eritropoetin eksikliği, kronik böbrek yetmezliğidir (Miller vd., 2012). Nefrotoksisite riskinin yüksek olduğu gruplar yaşlılar, kadınlar, hipoalbumemi ve altta yatan renal yetmezlik durumlarıdır (Jongh vd., 2003).

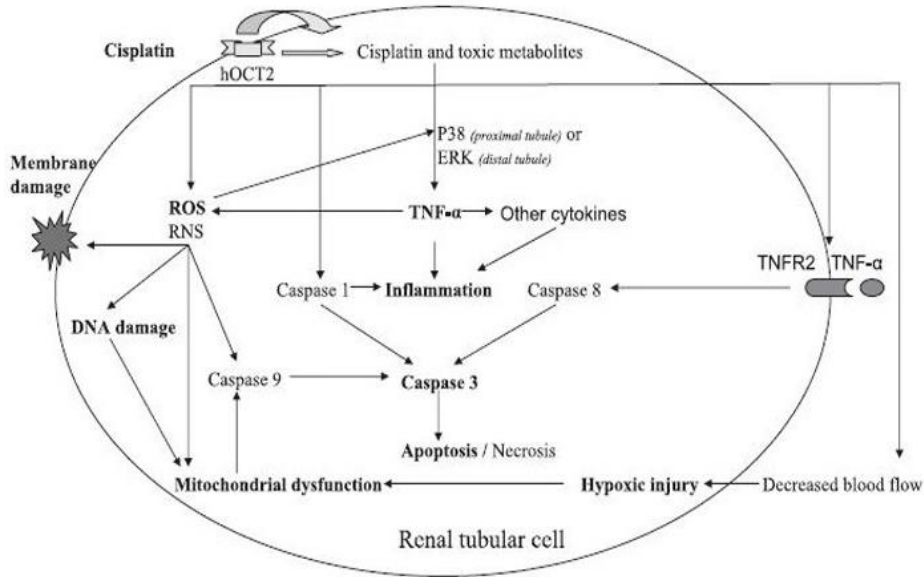
Histolojik incelemede böbrek tutulumunun erken evresinde özellikle toplayıcı ve distal tübülleri etkileyen, tortu oluşumu ve tübüllerde genişleme ile birlikte fokal akut tübüler nekroz oluşur. S3 segmentinde proksimal tübüllerde doza bağlı olarak nefrotoksisite görülür. Sisplatin kullanımı süresince akut böbrek yetmezliğinden dolayı idrar konsantrasyonunun bozulması nedeniyle nonoligüriktir. Özellikle elektrolit bozuklukları proksimal tübül hasarına bağlı sıklıkla görülür. Elektrolit bozukluklarından en sık görülenleri ise hipomagnezemi, hipokalemi ve hipokalsemidir (Eren vd., 2012).



Şekil 7. Sisplatin nefrotoksitesisi patogenezi Karademir, 2015'ten adapte edilmiştir

1.7. Böbrek Hücrelerinde Hasara Sebep Olan Hücre İçi Olaylar

Sisplatinin nefrotoksitesisinin oluşum mekanizması karmaşıktır. Oksidatif stres, hücre ölümü (apoptozis), fibrinojen oluşumu ve inflamasyon gibi birçok faktör bu süreçte etkilidir. Yüksek konsantrasyonda sisplatin kullanımı proksimal tübüllerde nekroza yol açabilirken, düşük konsantrasyonda sisplatinin apoptozise, özellikle kaspaz 9 yoluyla neden olur (Uğur, 2013).



Şekil 8. Sisplatinin neden olduğu başlıca akut tübüler hücre hasarındaki yollar (Yao vd., 2007).

1.8. Serbest Radikaller

Fizyolojik veya patolojik etkilerin neden olduğu durumlarda mitokondride oluşan serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektronlar bulunan, kararsız ve son derece reaktif atom veya moleküllerdir (Arslanbaş v., 2011). Serbest radikaller, diğer moleküllere elektron bağışlayabilir veya elektron alabilirler, bu da onları oksidan yada redüktan olarak davranmaya yönlendirir (Lobo vd., 2010).

Birçok hastalıkta, hidroksil radikal, süperoksit anyon radikal, H_2O_2 , oksijen singlet, hipoklorit, nitrik oksit radikal ve peroksinat radikalleri gibi oksijen içeren serbest radikaller önemli rol oynar. Bu radikaller son derece reaktif oldukları için hücre çekirdeği ve hücre zarında bulunan DNA, karbonhidratlar, lipidler ve proteinler gibi biyolojik moleküllere zarar verebilirler (Lobo vd., 2010).

1.8.1. Serbest Radikallerin İnsan Vücudunda Üretimi

Serbest radikaller ve diğer ROS, insan vücudundaki temel metabolik süreçlerden veya X ışınına maruz kalma, sigara içme, ozon, hava kirliliği ve endüstriyel kimyasallara maruz kalma gibi dış kaynaklardan elde edilebilir (Lobo vd., 2010). Serbest radikal oluşumu, enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar sonucunda hücrelerde sürekli olarak meydana gelir. Bazı enzimatik reaksiyonlar serbest radikal kaynağı olarak görev yapar. Bunlar, solunum zinciri, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P-450 sistemi gibi süreçleri içerir (Liu vd., 1999). Serbest radikaller ayrıca, organik bileşiklerle oksijen arasındaki enzimatik olmayan reaksiyonlar ve iyonlaştırıcı reaksiyonlar tarafından başlatılan reaksiyonlarla da oluşabilir (Lobo vd., 2010).

1.8.2. Kanser Ve Oksidatif Stres

Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif DNA hasarı, kanser gelişimiyle ilişkilendirilmiştir. Kanserin başlangıcı ve ilerlemesi, serbest radikallerin yol açtığı kromozomal defektler ve onkogen aktivasyonu ile ilişkilidir. DNA'nın hidroksillenmiş bazlarının oluşumu, kimyasal karsinogenezde önemli bir olay olarak kabul edilir. Bu eklenti oluşumu, genetik mutasyonlara neden olarak normal hücre büyümesini engeller ve normal gen transkripsiyonunu değiştirir. Oksidatif DNA hasarı ayrıca baz ve şeker lezyonları, sarmal kırıklar, DNA-protein çapraz bağları ve bazsız bölgeler de dahil olmak üzere DNA yapısında çok çeşitli değişiklikler yapar (Pham-Huy vd., 2008).

1.9. Antioksidanlar

Endojen (doğal olarak yerinde üretilen) ve ekzojen (dışarıdan gıdalar yoluyla sağlanan) antioksidanlar bir araya gelerek vücudu serbest radikallere karşı korur ve

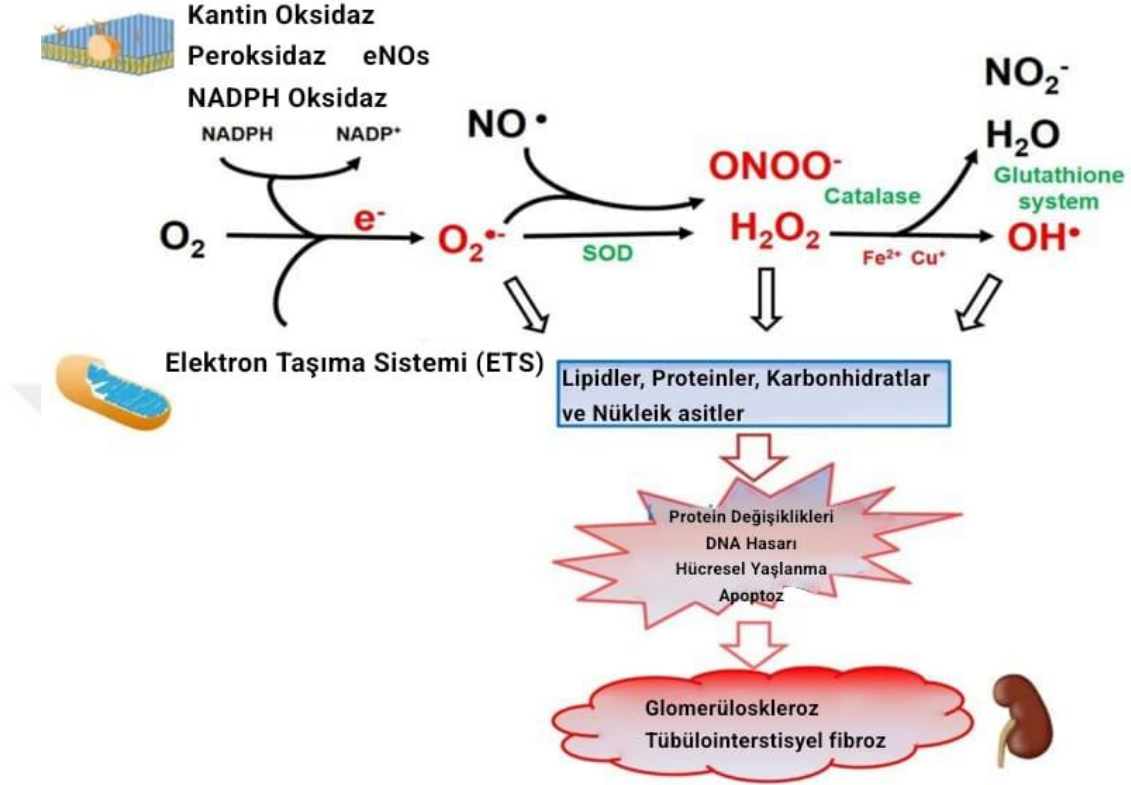
oksidatif stresin neden olduğu hücresel hasarı azaltır. Antioksidanlar, serbest radikaller olarak adlandırılan reaktif moleküllerin etkilerini nötralize ederek etki eden moleküllerdir. Antioksidanlar serbest radikallerle reaksiyona girerek onları stabilize eder veya ortadan kaldırır. Bu sayede hücrelerin oksidatif stresten kaynaklanan hasarlara karşı korunmasına yardımcı olurlar (Pham-Huy vd., 2008).

Endojen antioksidanlara ait metabolik antioksidanlar, vücutta metabolizma yoluyla üretilen lipoid asit, glutatyon, L-arginin, koenzim Q10, bilirubin, melatonin, transferrin, ürik asit, metal-şelatlayıcı proteinler vb. gibi maddelerdir. Öte yandan, ekzojen antioksidanlara ait besinsel antioksidanlar, vücutta üretilemeyen ve besinler veya takviyeler aracılığıyla alınması gereken bileşiklerdir. Besinlerde bulunan vitaminler (C vitamini, E vitamini), mineraller (selenyum, çinko) ve fitokimyasallar (karotenoidler, flavonoidler) gibi bileşikler antioksidan özelliklere sahiptir (Pham-Huy vd., 2008).

Sağlıklı kalmak için serbest radikallerle antioksidanlar arasındaki dengeyi korumak önemlidir. Bu nedenle, oksidatif stres süreçlerinin kontrol altında tutulması, diyabet katarakt,, ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, koroner arter hastalığı, inflamasyon, karaciğer hastalıkları, kanser, nörodejeneratif ve nefrotoksisite gibi birçok hastalığın önlenmesinde tedavisinde temel bir rol oynayabilir. Redoks dengesini sürdürmek için, fazla olarak bulunan serbest radikaller, antioksidanlar tarafından nötralize edilir (Flieger vd., 2021).

Hava ve su kirliliği, sigara içme, ilaçlar ve radyasyon gibi çevresel faktörler (Eksojen) ve canlı organizmalardaki normal metabolik süreçler (endojen) oksidatif stres kaynakları, reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Endojen olarak ROS, plazma membranı, sitoplazma, mitokondrive endoplazmik retikulumun membranında biyokimyasal reaksiyonların ürünleri olarak oluşur. Hücresel ROS oluşumunun başlıca kaynakları mitokondriyal ETS, adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH), miyeloperoksidaz, ksantin oksidaz ve endotel nitrik oksit sentazdır (eNOS). Serbest radikal oluşumunda önemli bir reaksiyon, Cu^{+} ve Fe^{2+} 'nin H_2O_2 ile reaksiyona girerek sırasıyla $OH^{\bullet}$ oluşturduğu, Fenton ve Fenton benzeri reaksiyonlardır. ROS neden olduğu moleküler hasarı onarmak ve korumak için hücreler, katalaz, peroksidaz ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidanlardan oluşan bir savunma sistemi ve glutatyon sistemi tarafından üretilen enzimatik olmayan antioksidanları kullanır. $O_2^{\bullet-}$ oluşumunun ana yeri ETS süreçleri sırasında iç mitokondriyal membrandır. H_2O 'nun suya ve oksijene ayrışması farklı enzimler aracılığıyla SOD, katalaz ve glutatyon

sistemi tarafından gerçekleştirilir. Fazla ROS, glikooksidasyon lipid peroksidasyonu, oksidatif DNA hasarı ve nitrooksidasyona neden olur, bu da birlikte DNA hasarı, hücrel yaşlanma, protein değişiklikleri ve apoptoza yol açabilir. Tüm bu değişiklikler sonunda tubülointerstisyel fibroz ve glomerüloskleroza yol açar (Hong ve Park, 2021).



Şekil 9. Böbrek hasarında endojen kaynakların oksidatif stres ve antioksidan tepkimelerine yönelik genel bakış Hong ve Park, 2021’den adapte edilmiştir.

Doğal antioksidanların kaynakları genellikle fenolik bileşikler, vitaminler, mikro elementler ve karotenoidler açısından zengin yenilebilir bitkilerdir. Bu bitkiler arasında sebzeler, meyveler, baharatlar ve otlar bulunur. (Flieger vd., 2021).

1.10. Kuşburnu

Batı Asya ve Avrupa kökenli bir bitkidir. Yaklaşık 100 farklı türü bulunur ve geniş coğrafyada yayılım gösterir. Türkiye en önemli gen merkezidir. Neredeyse tüm türkiye’de yetişebilir. Özellikle Gümüşhane, Sivas, Erzincan, Erzurum, Çorum, Amasya, Kastamonu, Tokat gibi bölgelerde doğal olarak yetişir (Karakuş ve Bostan, 2017).



Şekil 10. Kuşburnu yetişme bölgeleri (BUGEM, 2020).

Kuşburnu çevre şartlarına dayanıklı bir bitkidir. Çevre koşullarında sıklıkla yetişebilir. Özellikle yol kenarları, bahçeler, mezarlıklar gibi doğal ortamlarda yetişebilir. Güzel kokuludur, beyaz ve pembe çiçekleri bulunur. Çiçeklenmenin ardından meyve oluşur. Boyu 1.5-3.5 metre arasındadır. Çok sayıda sert çekirdekleri bulunur ve içi tüylü bir meyvedir (Gürbüz, 2021; Öz vd., 2018). Kuşburnu bitkisinin taksonomik sınıflandırılması aşağıdaki gibidir:

- Bitkiler alemi (*Plantae*)
- Kapalı tohumlular bölümü (*Magnoliophyta*)
- İki çenekliler sınıfı (*Magnoliopsida*)
- Gülgiller Takımı (*Rosales*)
- Gülgiller Familyası (*Rosaceae*)
- Gül cinsi (*Rosa*)
- Kuşburnu / *Rosa canina L* türü(BUGEM, 2020).

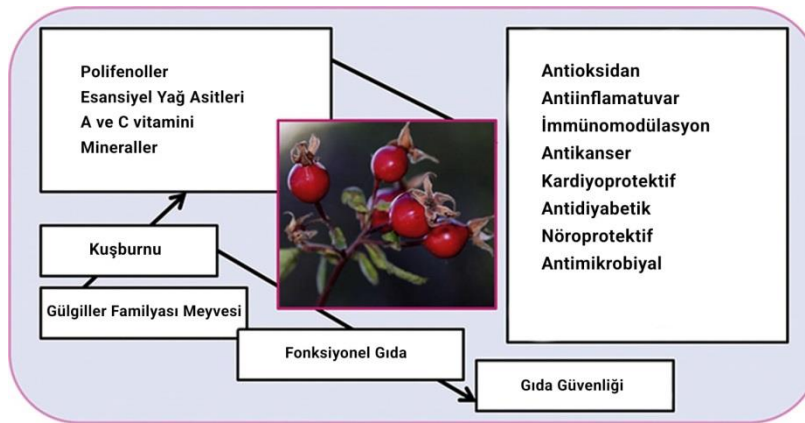


Şekil 11. Kuşburnu çiçeği ve meyveleri (Eroğlu, 2014; BUGEM, 2020).

Yapılan bazı çalışmalar sonucunda kuşburnu bitkisinin zengin fitokimyasal özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Fitokimyasal özellikleri fenolik bileşikler, tokoferoller, karetenoidler, C vitamini, bazı şekerler ve esansiyel yağlardır. Fenolik bileşikler ise ferulik asit, gallik asit, vanilik asit, parakateuik asit, parakumarik asit,

hidroksibenzoik asittir. Ayrıca kuşburnu kuersetin, epikateşin gallat, kaemferol ve kateşin gibi flavonoidleri de içerir (Darak, 2022).

Kuşburnu, içerdiği çeşitli bileşikler sayesinde vücudun bağışıklık sistemini güçlendirmekte soğuk algınlığı, grip, yorgunluk, gastrik ülser, artrit, diyabet, siyatik ve gastrik mukoza iltihaplarını önler. Diyare, gut, metabolizma bozuklukları, antialerjik, astrenjan, diş, ağız, baş ve kulak ağrısını tedavi edici özellikleri bilinmektedir. Antiinflamatuvar etkisi nedeniyle osteoartrit üzerinde etkilidir. Kreatinin ve C-reaktif protein seviyelerin, düşürür (Koca vd., 2008; Eroğlu, 2014). Böbrek ve mesane rahatsızlıklarının iyileştirilmesine yardımcı olmaktadır. Kuşburnunun böbreküstü bezlerini olumlu yönde etkileyerek önemli hormonların üretimine katkıda bulunduğu da belirtilmektedir. Ayrıca, vücuttaki taş ve kum kaynaklı rahatsızlıklar gibi birçok sağlık sorununun hafifletilmesine katkı sağladığı bilinmektedir (Eroğlu, 2014). Kuşburnu içeriğindeki fosfor ve potasyum elementleri, vitamin ve mineraller ile gıda sanayide sebze ve meyve sularının içeriğinin zenginleştirilmesinde kullanılır. Kuşburnu yağı; göz çevresi kırışıklıklarının önlenmesi, yaşlanmayı geciktirici, cilt koruyucu, ağız çevresi kırışıklıklarının engellenmesi, sert hava koşullarından koruyucu, doku iyileştirici, doku kalınlaştırıcı, yaşlanmayı geciktirici ve hücre yenileyici özelliklere sahiptir (Öz vd, 2019).



Şekil 12. Kuşburnu genel özellikleri Patel, 2017'den adapte edilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Cihazlar

Tablo 2. Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz ve Aletler	Marka/Model
Buzdolabı	Beko BK 9610 NM
Cam malzemeler (beher, balon joje, vd.)	ISO Lab
Çalkalayıcı İnkübatör	Shel Lab SSI2
Distile Su Cihazı	Merk Milipore HX 7000SD
Eppendorf tüp (1,5 mL)	ISO Lab
Evaporatör	Heidolph 4001 Efficent 519
Etüv	Gallenkamp 300plus
Falkon Tüp (15/50 mL)	Labsolute
Hassas Terazı (0,0001 Hassasiyet)	KERN ABJ 220NM
pH metre	HANNA HI 2020 Edge
Santrifüj (eppendorf)	Centrifuge 5810 R
Manyetik Isıtıcı/Karıştırıcı	Termal TM12
Mikroplakalar	Lp Italiana Spa
Mikroplaka okuyucu	Versa Max
Otomatik pipetler (10/20/200/1000µL)	Eppendorf
Homojenizatör	Miccra D-1
Santrifüj (Soğutmalı)	Allegra 64R
Spektrofotometre Cihazı	Shimadzu UV1601
Vorteks	IKA Vortex Genius 3
Mikrosantrifüj	Termo IEC Micromax
Mikro Plaka Yıkama Cihazı	BioTek ELx50

2.2. Kullanılan Kimyasallar Malzemeler

Tablo 3. Kullanılan kimyasal malzemeler ve markaları

Kimyasal Maddeler	Firma/Kod
DiSodiumHydrogenPhosphateDihydrate (Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O)	Merck 106580
Fosforik asit (H ₃ PO ₄)	Sigma Aldrich 695017
Disodyum hidrojen fosfat dihidrat (Na ₂ HPO ₄)	Merck Art 6576
Etanol	Sigma Aldrich 32205
Bovin Serum Albumin (BSA)	Sigma Aldrich 058K0726
Triton X-100	Merck Art 11869
Fosfat tampon	Sigma Aldrich P4417
Hidroklorik Asit(HCl)	Sigma Aldrich 07102
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Tekkim 7722841
Potasyumdihidrojenfosfat(KH ₂ PO ₄)	Merck Art 4871
Potasyum klor (KCl)	Sigma Alrich S9888
1,1,3,3-tetrametoksipropan	Sigma 76H3424, %99
Sodyum klorür (NaCl)	Merck 100317
TNF alfa ELISA Kit	Elabscience ZD270NHJ8236
SOD ELISA Kit	Elabscience ZD2966X26051
IL6 ELISA Kit	Elabscience ZD2966X26051
Tiyobarbütürik Asit (TBA)	Merck 108180
Trikloroasetik Asit (TCA)	Merck 76039
TOS Kit	Rel Assay Diagnostics OK22150O
TAS Kit	Rel Assay Diagnostics MT23137A

2.3. Deney Hayvanları Gruplar ve Uygulamalar

Çalışmada deney hayvanları kullanıldığından etik izin alınması gerekli idi. Etik izin Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alındı (Ek-1,2,3:53488718-636 sayılı ve 21.09.2022 tarihli Etik Kurul onay yazısı). Çalışmada kullanılmak üzere 35 adet 3 aylık, dişi wistar rat KTÜ Tıp Fakültesinde, Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanların bakım, beslenme, barınma ve sakrafikasyonu çalışma süresince bu merkezde gerçekleştirildi. Kontrol süreçlerinde ratlarda uyum ve stres gibi belirgin problemler izlenmedi. Ratlar çalışma boyunca ad libitum şartlarda tutuldu. Standart rat yemi dışında ek besin verilmedi. Ortalama laboratuvar sıcaklığı 22 ± 3 °C, ortalama nem ise $\%50 \pm 5$ olarak gözlemlendi.

Gruplar özellikleri ve uygulanan işlemlere göre aşağıdaki şekilde ayarlandı.

1.Grup: Kontrol Grubu

2.Grup: Yüksek Doz Kuşburnu Grubu

3.Grup: Sisplatin (7.5 mg/kg) Grubu

4.Grup: Sisplatin + 200 mg/kg (Düşük Doz) Kuşburnu Grubu

5.Grup: Sisplatin + 400 mg/kg (Yüksek Doz) Kuşburnu Grubu

1. Gruba deney süresince 11 gün SF (serum fizyolojik) gavajla ağızdan verildi.

2. Gruba deney süresince (11 gün boyunca) kuşburnu 400 mg/kg/gün gavajla ağızdan uygulandı.

3. Gruba deney süresince (11gün) serum fizyolojik gavajla ağızdan uygulandı ve 5. Gün tek doz sisplatin 7.5 mg/kg i.p (intraperitoneal) yolla uygulandı.

4. Gruba (Sisplatin+200 mg/kg Kuşburnu) deney süresince (11 gün) kuşburnu 200 mg/kg/gün gavaj ile ağızdan uygulandı. Tek doz 7.5 mg/kg sisplatin uygulaması 5. Gün i.p. olarak yapıldı.

5. Gruba (Sisplatin+400 mg/kg Kuşburnu) deney süresince (11 gün) kuşburnu 400 mg/kg/gün gavaj ile ağızdan uygulandı ve tek doz 7.5 mg/kg sisplatin 5. Gün i.p. olarak uygulandı.

Sisplatin (Cisplatin-Koçak 50 mg/100 ml IV infüzyon) temin edildi.



Şekil 13. Kuşburnu ekstraktının gavaj ile uygulanması



Şekil 14. Ratlara sisplatin (i.p) uygulanması

2.3.1. Numunelerin Toplanması

Ratlardan sakrifiye işlemi sırasında biyokimya tüplerine 5-6 mL kan alındı. Kanlar 3000 rpm’de 7 dk boyunca santrifüj edildi. Kan serumu elde edildi, alıgotlandı ve çalışma yapılacak vakte kadar -80 °C’de dondurucuda saklandı. Ratlardan sakrifiye sonrası böbrekler cerrahi koşullar altında çıkarıldı. Sağ böbrek biyokimyasal, sol böbrek ise histopatolojik analizler için kullanıldı. Böbrek dokuları herhangi bir kalıntı kalmaması için SF ile yıkandı, biyokimyasal çalışmalar (BUN, CREA, IL-6, SOD, TAS, TOS, CAT, MDA, TNF- α) için deney tüpleri içerisine bozulmasını engellemek için alıgotlandı. Diğer bir böbrek dokusu histopatolojik analizler için formaldehit

solüsyonuna alındı. Biyokimyasal analizler Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik bölümü ve KTÜ Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD'na ait araştırma laboratuvarında yapıldı. Histopatolojik analizler ise KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD laboratuvarlarında gerçekleştirildi.



Şekil 15. Sakrifikasyon sonrası organların çıkarılması

2.3.2. Biyokimyasal Analizler

2.3.2.1. Serum Numune Analizleri

Gruplar hizmet alımı yolu ile serum örnekleri KTÜ Farabi Hastanesi Biyokimya Merkez Laboratuvarında analiz edildi. Enzimatik, spektrofotometrik olarak BUN ve CREA düzeylerine laboratuvar otoanalizörlerinde (Beckman USA) bakıldı.

2.3.2.2. Doku Homojenizatları İçin Tampon Hazırlanması

Doku homejenizasyonunda kullanılmak için üç farklı tampon hazırlandı.

• PBS tamponunu hazırlanması (pH:7.4):

İlk olarak, bileşenler aşağıdaki şekilde tartıldı.

- NaCl: 8.0 g/L
- KCl: 0.2 g/L
- Na₂HPO₄: 1.44 g/L
- KH₂PO₄: 0.24 g/L

Bir beher içerisine tartılan bileşenler eklendi. Üzerine 0.8 L distile su ilave edildi. Manyetik karıştırıcı kullanarak karışımı çözünceye kadar karıştırıldı. Bileşenler tamamen çözüldü. pH değerini 7,4'e ayarlandı. Çözelti distile suyla 1 L hacmine

tamamlandı. Hazırlanan PBS tamponunu kullanmadan önce +4°C buzdolabında saklandı.

- **KCl tamponu:**

Hassas terazi kullanarak 1.15 g KCl'yi tartıldı. Tartılan KCl'yi behere alındı. Distile su, tartılan KCl'nin üzerine eklendi ve çözelti 1 L'ye tamamlayacak şekilde karıştırıldı. Hazırlanan çözeltiye 0,5 mL Triton X-100 eklendi. Triton X-100'ü çözeltiye ekledikten sonra, çözelti tekrar karıştırıldı.

- **Fosfat tamponu (pH=7.0; 50 mM):**

İlk olarak, 3.405 g KH_2PO_4 'ü bir beherin içine alındı. KH_2PO_4 'ün üzerine distile su eklendi ve çözünene kadar karıştırıldı. Elde edilen çözeltinin son hacmi 500 mL'ye tamamlayacak şekilde distile su ile tamamlandı.

Aynı şekilde, 4.45 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'yu başka bir beherin içine alındı. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'nun üzerine distile su eklendi ve çözünene kadar karıştırıldı. Elde edilen çözeltiyi son hacmi 500 mL'ye tamamlayacak şekilde distile su ile tamamlandı. Daha sonra, KH_2PO_4 ve $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltileri 1:1,5 oranında karıştırıldı. Bu oran elde edilmek için, 100 mL KH_2PO_4 çözeltisine 150 mL $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisini eklendi. Karıştırılan çözeltilerin pH değeri 7,0'ye ayarlandı.

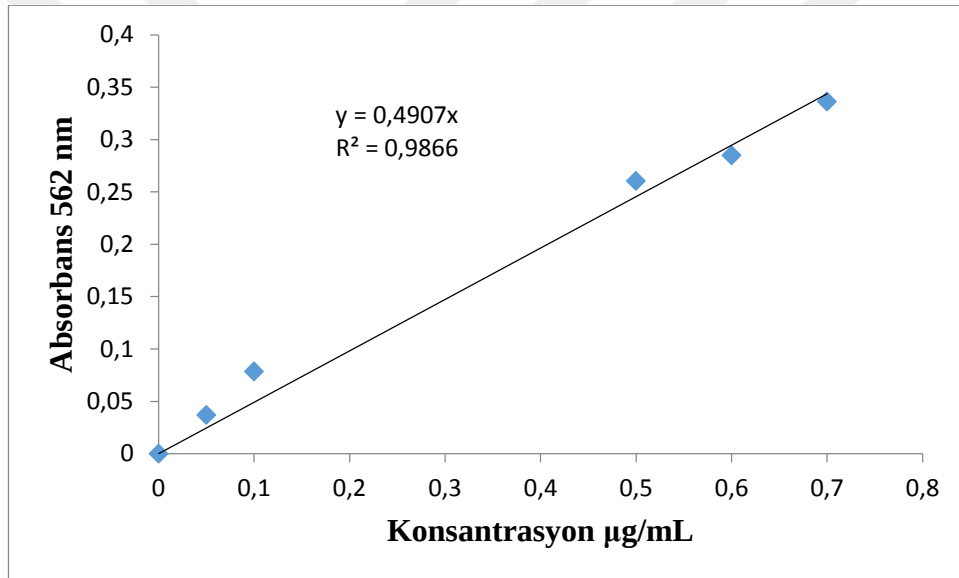
2.3.2.3. Doku Homojenizatının Hazırlanması

- 100 mg böbrek dokusu tartıldı. Böbrek dokusu eppendorfa alındı ve üzerine 1000 μL pH 7,4 PBS tamponu eklendi. Her böbrek dokusunun tartım işleminden sonra kullanılan aletler ve hassas terazi etanol ile temizlendi. PBS tamponu içerisine alınan doku 30 saniye boyunca homojenizatör ile parçalandı. Homojenizatörün ucu her işlemten sonra PBS tamponu ile temizlendi. Parçalama işleminden sonra tüpler 15 dk boyunca 10000 g'de santrifüj edildi. Hazırlanan doku homojenizatı TAS, TOS, CAT ve protein tayini için kullanıldı.
- 100 mg böbrek dokusu tartıldı. Tartılan böbrek dokusu eppendorfa alındı ve 1000 μL PBS tamponu ile tamamlandı. Tartım işleminden sonra kullanılan aletler ve hassas terazi etanol ile temizlendi. PBS tamponu içerisindeki doku 30 saniye boyunca parçalandı. Parçalama işleminden sonra homojenizatörün ucu tampon çözelti içerisinde temizlendi. Parçalama işleminden sonra 15 dk boyunca 10000 g'de santrifüj edildi. Hazırlanan homojenizat ELISA yöntemi için kullanıldı.
- 50 mg böbrek dokusu tartıldı. Böbrek dokusu eppendorfa alındı ve üzerine 2000 μL KCl tamponu eklendi. Her böbrek dokusunun tartım işleminden sonra kullanılan aletler ve hassas terazi etanol ile temizlendi. Tampon içerisine alınan doku 30 saniye

boyunca homojenizatör ile parçalandı. Homojenizatörün ucu her işlemten sonra tampon ile temizlendi. Parçalama işleminden sonra tüpler 10 dk boyunca 3000 g'de santrifüj edildi. Hazırlanan doku homojenizatı MDA analizi için kullanıldı.

2.3.2.4. Protein Miktar Tayini

Böbrek dokularından protein miktar tayini, BCA protein ölçüm kiti kullanılarak gerçekleştirildi (Merck Millipore, Katalog No: 71285-3). Böbrek dokusundan elde edilen fazlardan protein tayini yapıldı. Analizin prensibi Biüret reaksiyonuna dayanmaktadır. Bu yöntemde alkali ortamda Cu^{+2} iyonları protein varlığında Cu^{+1} 'e indirgenir. BCA reaktifi indirgenen Cu iyonları ile reaksiyona girer ve çözelti renk değiştirir. Oluşan renk 562 nm dalgaboyunda spektrofotometrik olarak okunur ve protein miktarı tespit edilir. Stok standart olarak 2 mg/mL'lik BSA kullanıldı (Weichselbaum, 1949).



Şekil 16.Doku protein ölçümünde kullanılan standart grafiği

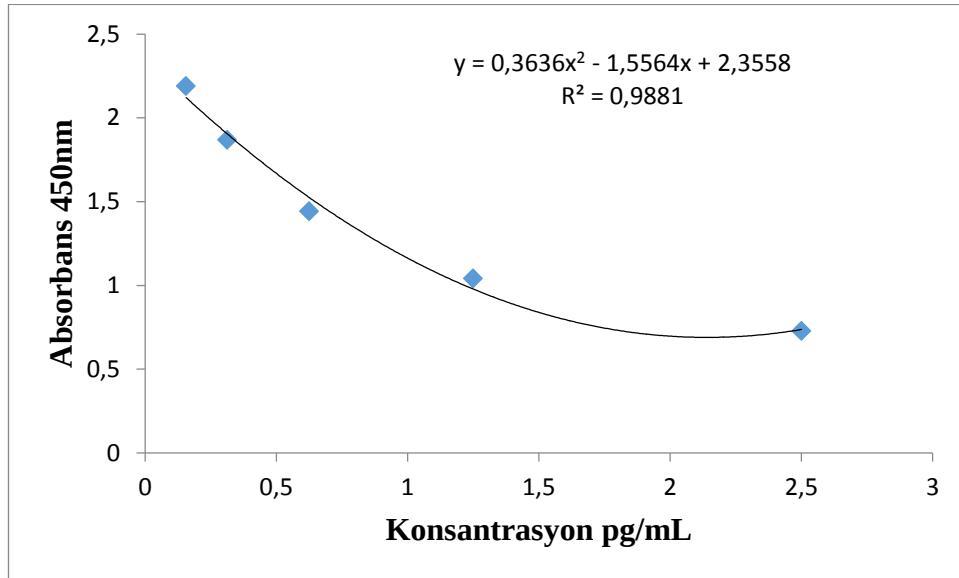
2.3.2.5. SOD Aktivite Tayini

SOD analizleri için, Çin merkezli Elabscience firmasının E-EL-R1424 katalog numaralı ELISA kiti kullanıldı. Bu kitin plateleri, 96 kuyucuğa sahip olup, özelleştirilmiş antikorlarla rat SOD'larına özgü olarak kaplanmıştır. Böbrek dokusu örnekleri -80°C'de saklanırken, ELISA kitindeki hazır 96 kuyucuklu plate ve diğer reaktifler kullanıma hazır olması için +4°C'de bekletildi ve ardından oda sıcaklığına (18-25°C) getirildi. ELISA kiti kullanılarak dokuda SOD seviyeleri belirlendi. Bu amaçla, üretici firmanın kullanım tavsiyeleri doğrultusunda aşağıda verilen işlemler sırasıyla 96 kuyucuklu ELISA plate içerisinde gerçekleştirildi.

- Numuneden 50 µL standart kuyucuğu hariç her kuyucuğa yüklendi.

- Standarttan 50 µL numunelerin kuyucukları hariç standart kuyucuklarına yüklendi.
- Ardından hemen 50 µL Biotinle İşaretlenmiş Antikordan kuyucuklara eklendi ve 37°C’de 45 dakika üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 3 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- HRP Konjugatı 100 µL her kuyucuğa eklendi.
- 30 dakika 37 °C’de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 5 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- 90 µL Substrat Reaktifi her kuyucuğa eklendi.
- 15 dakika 37 °C’de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Her kuyucuğa stop solüsyonu 50 µL eklendi.
- 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Şekil 2.5’de verilen standart eğri grafiği kullanılarak elde edilen verilerin standart konsantrasyonlarına karşı absorbans değerleri hesaplandı ve numunelerdeki SOD seviyeleri belirlendi. Elde edilen sonuçlar, doku örneklerindeki SOD seviyeleri pg/mg protein birimi cinsinden ifade edildi.



Şekil 17. Doku SOD tayininde kullanılan standart grafiği

2.3.2.6. Katalaz Aktivite Tayini

Aebi yöntemi ile katalaz aktivitesi belirlendi. Bu yöntem, H₂O₂'nin enzimatik bozunması ile 240 nm dalga boyundaki absorbanstaki azalmanın izlenmesine dayanmaktadır (Aebi, 1987).

Kullanılan Çözeltiler

Hidrojen Peroksit: Günlük hazırlanan çözelti için, 0.36 mL %30 H₂O₂ alındı ve fosfat tamponu ile 0,05 L'ye tamamlandı. Doku homojenatları 20 kat fosfat tamponu ile seyreltilerek numuneler hazırlandı. Bu numuneler, kör ve numune karışımları için ayrı ayrı pipetlendi ve kuvars küvetlere aktarıldı, aşağıda belirtilen yöntemle uygun olarak ölçüm yapıldı. kör için 0.375 mL fosfat tamponu ve 0.75 numune kullanıldı. Ölçüm yapılacak numune için ise 0.75 mL numune ve 0.375 H₂O₂ kullanıldı.

Kuartz küvetlerin içine H₂O₂ eklenmesiyle birlikte, küvetler hemen altüst edildi ve her 10 saniyede bir 240 nm'de absorbanstaki düşüş kaydedildi. Düşüş oranının dakikada 0.015 ile 0.100 arasında olmasına özen gösterildi ve bu düşüş aralığında olmadığı takdirde numune seyreltmeleri yeniden ayarlandı. Birinci mertebede reaksiyon hız sabiti (k) kullanılarak CAT aktivitesi belirlendi. Absorbans değerlerindeki 10 saniyelik düşüşler, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

A₀= Başlangıç absorbansı

A₁= absorbans (10. Saniye)

$$k = (2.3/10) \times \log(A_1/A_2) \text{ s}^{-1}$$

Birinci mertebede reaksiyon hız sabiti (k), üstteki eşitliğe göre hesaplandıktan sonra seyreltme faktörü ile çarpıldı. Sonrasında böbrek dokularındaki her gram proteine düşen katalaz aktivitesi hesaplandı.

2.3.2.7. MDA Analizi

MDA, lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür. Bu yöntemde MDA, Tiyobarbitürik asit (TBA) ile analiz edilir. Analiz sonucunda spektrofotometrik olarak oluşan pembe renkli yapı, 532 nm dalga boyunda ölçülür. Sonuçlar standart grafiğine göre hesaplanır (Mihara vd.,1978).

Böbrek dokularından 50 mg'lık örnekler alınarak MDA ölçümü yapıldı. Örnekler, %1.15 KCl çözeltisi içinde 0.5 mL/L Triton X-100 buzlu su banyosunda homojenize edildi. Homojenatlar 10 dakika boyunca 3000 g'de santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi ve ilgili ölçümler bu süpernatantlarda yapıldı.

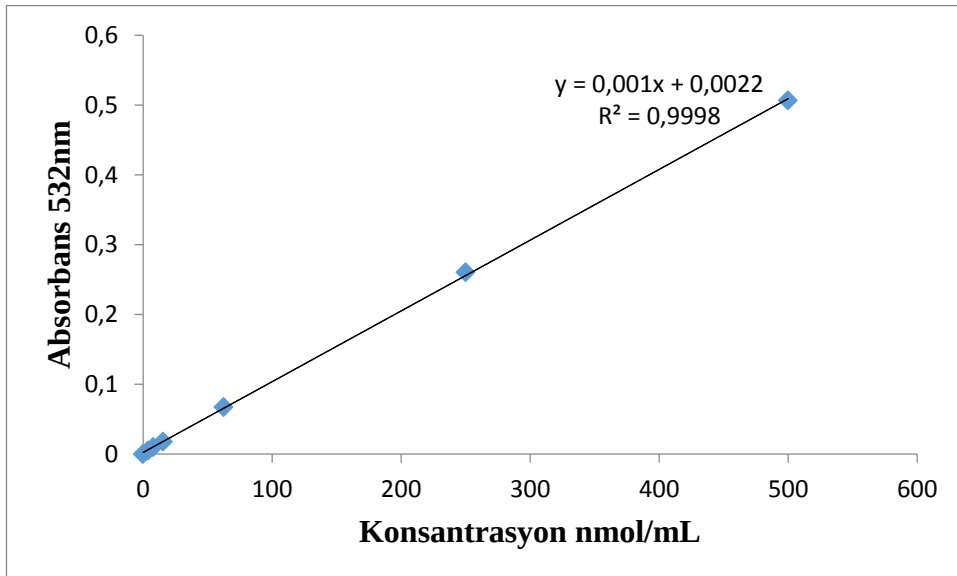
Kullanılan çözeltiler

Tiyobarbitürik Asit (TBA) çözeltisi: 50 mL suda manyetik karıştırıcı kullanarak 0.67 g TBA, yaklaşık 20 dakika boyunca 30°C'de karıştırıldı. TBA tamamen soğuduktan sonra, 50 mL asetik asit eklenerek karışım tamamlandı.

%1'lik H₃PO₄: %85'lik H₃PO₄ 2.94 mL alındı ve az miktarda saf su eklendi ve son hacmi 250 mL'ye tamamlanarak çözelti hazırlandı.

Standart çözeltiler: 50 mL 0.01 M HCl çözeltisine, 82.5 µL tetrametoksipropan eklenerek ve 1 saat boyunca 50 °C'de inkübe edildi. Reaksiyon gerçekleşmesi beklendi. Bu reaksiyon sonucunda elde edilen stok MDA standardı 10.000 nmol/ml konsantrasyonda idi ve bu standardtan 1.000 nmol/ml ara stok çözeltisi hazırlandı. 500 nmol/ml'lik ara stok çözeltisinden seri dilüsyon yöntemiyle 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8125, 3.9062 ve kör nmol/ml'lik standart çözeltiler hazırlandı. Doku homojenatları ölçüm yapılacak numuneler oluşturmak için potasyum klor ile 2 kat seyreltilti. MDA analizi için yapılan işlemler ise aşağıda sıralandı.

- ~50 mg. doku tartıldı. Kesim işlemi buz üzerinde yapıldı. Her tartılan doku miktarı kaydedildi. Konsantrasyon gram doku başına verildi.
- Tüplerin üzerine 2 mL tampon koyuldu. Yaklaşık 30 sn homojenize edildi. İşlem buz içerisinde yapıldı.
- Tüpler 3000 g'de 10 dk boyunca santrifüj edildi.
- Santrifüj işleminden sonra süpernatant kısımdan 500 µL alınıp başka tüpe aktarıldı.
- Tüplerin üzerine 1 mL TBA, 3 mL %1'lik H₃PO₄ koyuldu.
- 500 µL standart üzerine 1 mL TBA, 3 mL %1'lik H₃PO₄ koyuldu.
- Tüpler 100°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı.
- Süpernatant 300 µL plate içine pipetlendi ve 532 nm'de absorbans okundu.



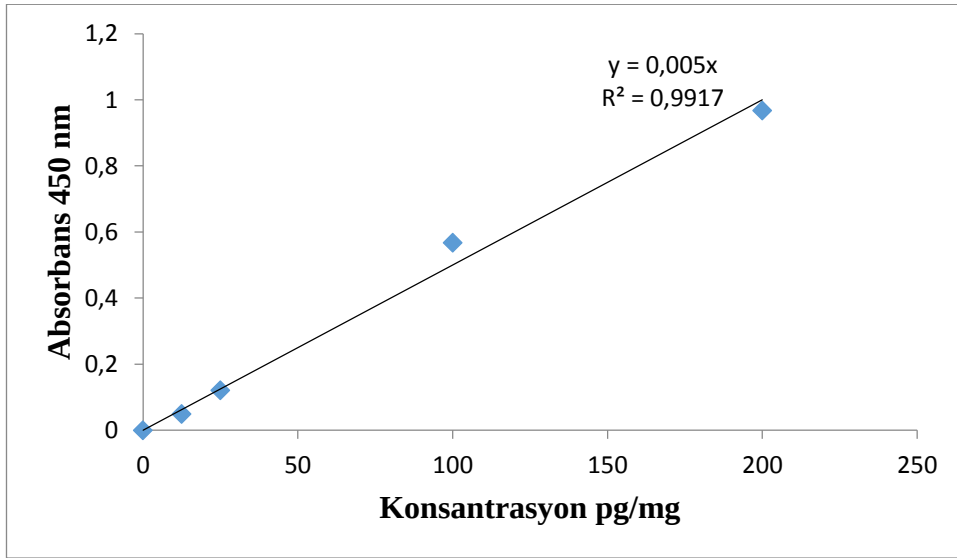
Şekil 18.Doku MDA ölçümünde kullanılan standart grafiği

2.3.2.8. IL-6 Analizi

Çalışmamız için Çin merkezli Elabscience firmasının E-EL-R0015 katalog numaralı ELISA kiti kullanıldı. 96 kuyucuklu plate özelleştirilmiş antikorlar ile kaplıydı. Böbrek doku örnekleri -80°C'de saklanırken kitin içerisindeki plate ve reaktifler +4°C'de bekletildi ve ardından oda sıcaklığına getirildi. ELISA kiti sayesinde dokulardaki IL6 seviyeleri belirlendi. Bu amaçla üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda aşağıda verilen basamaklar sırasıyla 96 kuyucuklu plate içinde gerçekleştirildi.

- Numuneden 100 µL standart kuyucuğu hariç her kuyucuğa yüklendi.
- Standarttan 100 µL numunelerin kuyucukları hariç standart kuyucuklarına yüklendi.
- 90 dakika 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi.
- Biyotinle işaretlenmiş antikordan 100 µL kuyucuklara yüklendi ve 1 saat boyunca 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 3 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- HRP Konjugatı 100 µL her kuyucuğa eklendi.
- 30 dakika 37 °C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 5 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- Substrat reaktifi 90 µL her kuyucuğa eklendi.
- 15 dakika 37 °C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübasyona bırakıldı.
- Her kuyucuğa stop solüsyonu 50 µL eklendi.
- 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Verilerin analizi sonucunda, standart konsantrasyonlara karşı elde edilen absorbans değerlerinin kullanıldığı bir standart eğri grafiği oluşturuldu ve bu grafik üzerinden doku örneklerindeki IL6 seviyeleri hesaplandı. pg/mg protein birimi cinsinden doku örneklerinin sonuçları ifade edildi.



Şekil 19. Doku IL6 ölçümünde kullanılan standart grafiği

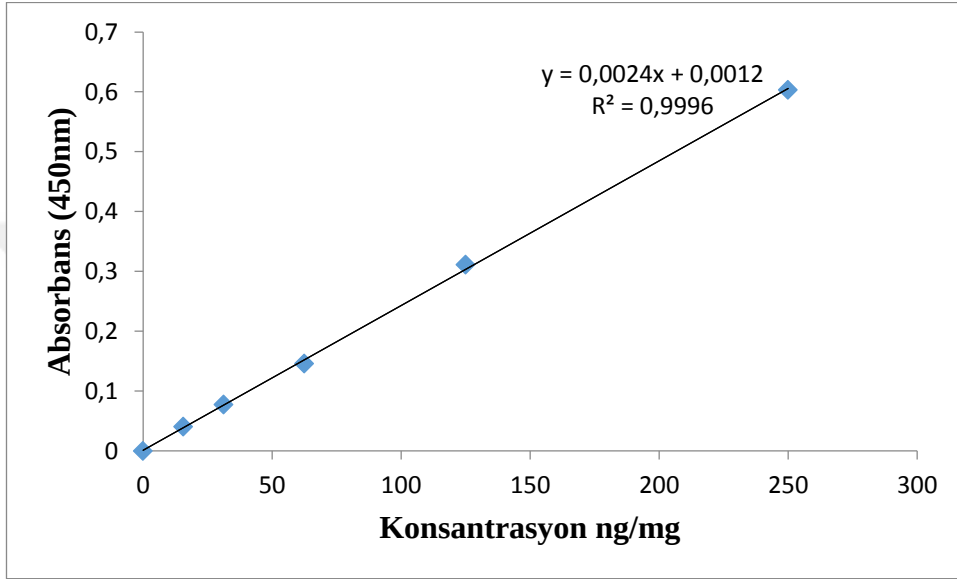
2.3.2.9. TNF- α Analizi

Çalışmamızda sandviç ELISA yöntemi kullanılarak, rat TNF- α seviyeleri ölçüldü. ELISA pleytinde, rat TNF- α 'larına özgü antikörlerle kaplı 96 kuyucuk bulunmaktadır. -80°C'de saklanan böbrek dokusu örnekleri, ELISA kitindeki 96 kuyucuklu plate ve diğer reaktifleri kullanmadan önce, +4°C'den oda sıcaklığına çıkarmak için bekletildi. ELISA işlemi öncesinde böbrek doku örnekleri PBS tampon çözeltisi ile seyreltildi. Aşağıdaki işlemler takip edilerek, üretici firmanın önerdiği ELISA kit kullanılarak doku örneklerinde TNF- α seviyeleri belirlendi. 96 kuyucuklu ELISA plağı kullanılarak işlem gerçekleştirildi.

- Numuneden 100 μ L standart kuyucuğu hariç her kuyucuğa yüklendi.
- Standarttan 100 μ L numunelerin kuyucukları hariç standart kuyucuklarına yüklendi.
- 60 dakika 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi.
- Biotinle işaretlenmiş antikordan 100 μ L kuyucuklara yüklendi ve 1 saat boyunca 37°C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 3 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- HRP Konjugatı 100 μ L her kuyucuğa eklendi.
- 30 dakika 37 °C'de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübe edildi.
- Plate aspire edildi ve 5 kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
- TMB Substratı 90 μ L her kuyucuğa eklendi.

- 15 dakika 37 °C’de çalkalayıcı inkübatörde üzeri folyo ile kapalı şekilde inkübasyona bırakıldı.
- Stop solüsyonu her kuyucuğa 50 µL eklendi.
- 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Verilerin analizi için standart konsantrasyonlarına karşı ölçülen absorbans değerleri kullanılarak bir standart eğri grafiği çizildi (Şekil 2.8). TNF-α seviyeleri hesaplanması için eğri grafiği kullanıldı. Sonuçlar ng/mg protein birimiyle ifade edildi.



Şekil 20. Doku TNF-α ölçümünde kullanılan standart grafiği

2.3.2.10. Toplam Antioksidan (TAS) ve Toplam Oksidan (TOS) Kapasitesi

Dokuda ve serumda genel oksidatif stres belirteçleri olarak ölçülen TAS ve TOS seviyeleri, relleassay kitleri kullanılarak belirlendi. TAS değerleri minimal troloks eşdeğeri/L, TOS değerleri ise mikromol H₂O₂ eşdeğeri/L birimi olarak ifade edildi. Okuma işlemi mikro plaka okuyucuda (Thermo Scientific) gerçekleştirildi.

2.3.3. Histopatolojik Analizler

Sıçanlardan alınan sol böbrek dokuları, %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat boyunca sabitlendikten sonra rutin doku takibine tabi tutularak parafin bloklara gömüldü. Mikrotom cihazıyla hazırlanan parafin bloklardan 5 mm kalınlığında kesitler alındı. Sistemik ve rastgele örnekleme yöntemiyle seçilen kesitler parafinden arındırılıp Periyodik asit-Schiff, Masson Trikrom ve Hematoksin & Eosin boyası ile boyanarak kesitler kapatıldı. Histopatolojik değerlendirme dijital kamera ile donatılmış ışık mikroskopuyla yapıldı. Dokuların histopatolojik değerlendirmesi KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan dijital fotoğraf makinesi (Olympus, DP 71, Japan) ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus BX 51, Japan)

Analysis 5 Research (Olympus Soft Imaging Solution, Germany) programı kullanılarak yapıldı. Aynı sistemde incelenecek dokuların fotoğrafları çekilip, resimler dijital ortama aktarıldı.

2.4. İstatistik

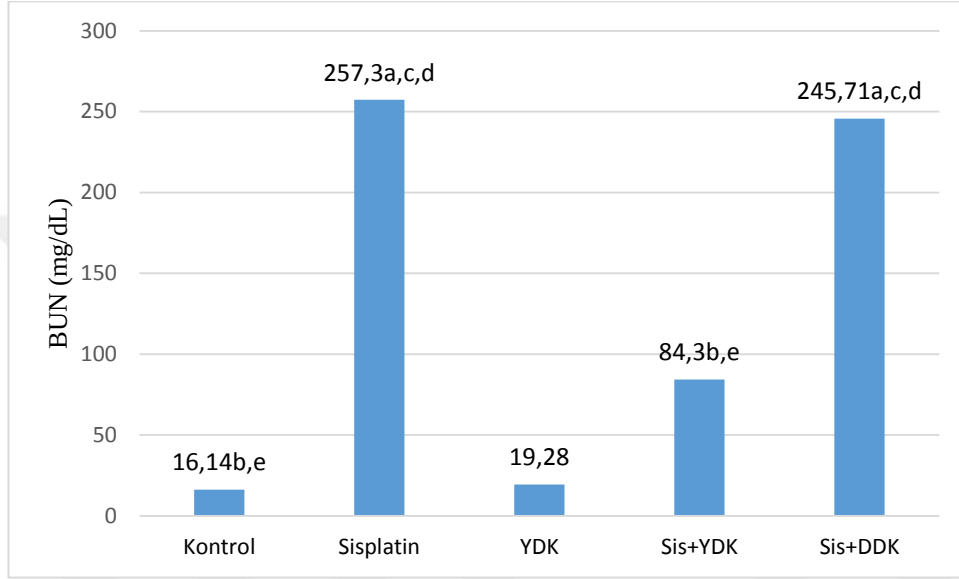
İstatiksel analizler SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) gerçekleştirildi. SPSS analiz programı kullanılarak gerçekleştirildi. Ratlara ait gruplararası karşılaştırmalar için önce parametrelerin normal dağılıma uyup uymadıkları (parametrik- non parametrik olup olmadıkları) kontrol edildi. Değerlerin parametrik oldukları görüldü. Normal dağılıma göre One Way Anova testi seçildi ve grup karşılaştırmaları için post hoc Tukey testi uygulandı. Histopatolojik değerlendirme için Kruskal Wallis testi yapıldı. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

3.1.1. BUN Düzeyleri

Çalışma gruplarında elde edilen serum BUN değerleri şekil 21 'de gösterilmiştir.

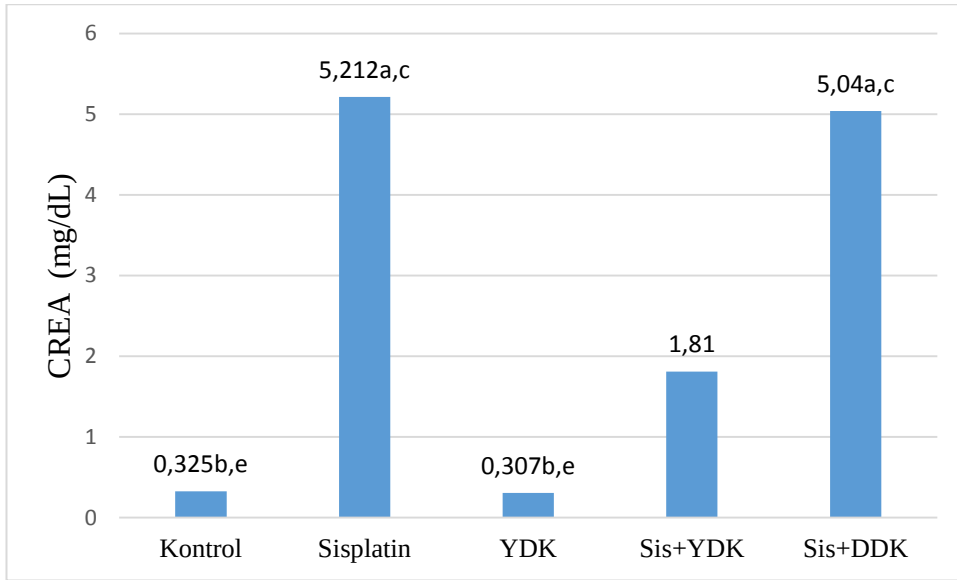


Şekil 21. Serumda BUN değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 21'de görüldüğü gibi sisplatin grubunda serum BUN değeri kontrol grubuna ($p<0.000$), YDK grubuna ($p<0.000$) ve Sis+YDK grubuna göre ($p=0.001$) anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Sis + DDK grubunun Sis grubundan sonra en yüksek ikinci grup olduğu izlenmiştir ve iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir. Kontrol grubu ile YDK ve Sis+YDK grupları arasında anlamlı bir fark mevcut değildi.

3.1.2. Kreatinin Düzeyleri

Gruplardaki kreatin düzeyleri şekil 22'de gösterilmiştir.

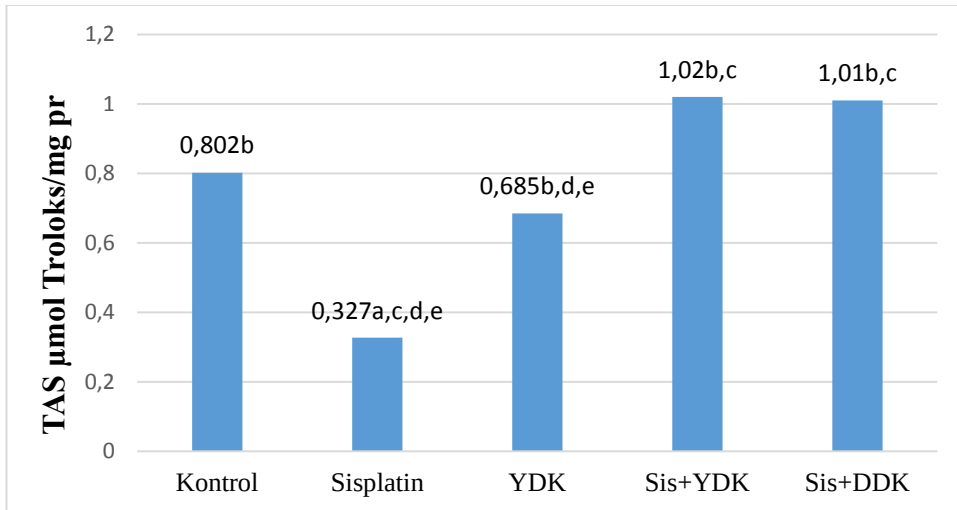


Şekil 22. Serumda kreatinin değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 22’de görüldüğü gibi sisplatin grubu kontrol grubuna ($p=0.003$), YDK grubuna ($p=0.002$) anlamlı derecede daha yüksek bulundu. Sis + DDK grubunun Sis grubundan sonra en yüksek ikinci grup olduğu izlenmiştir. Bu grup kontrol ve YDK gruplarından anlamlı derecede daha yüksekti ($p=0.004$).

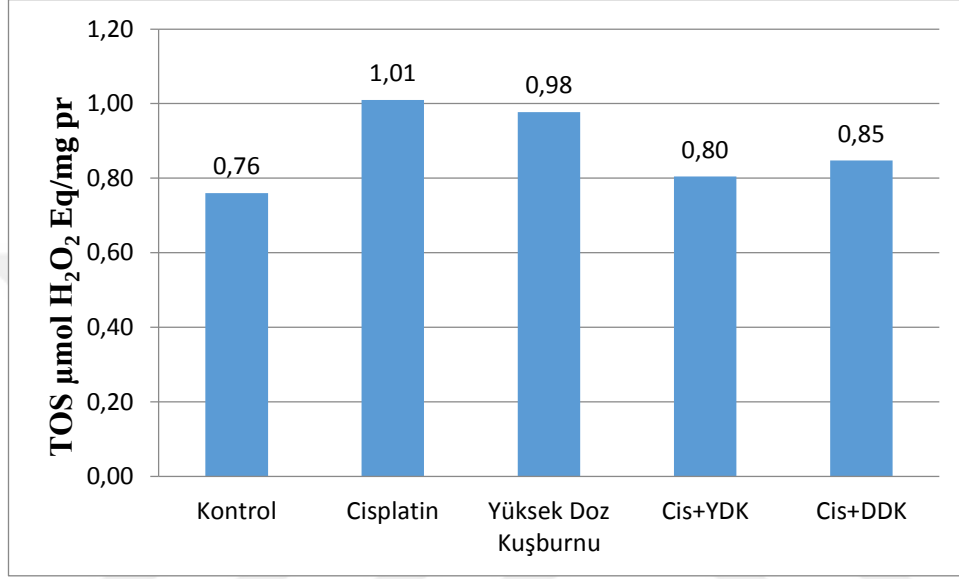
3.1.3. TAS-TOS Değerleri

Deney gruplarından alınan doku örneklerinin TAS-TOS değerleri şekil 23 ve şekil 24’de, serum örneklerinin de TAS-TOS şekil 25 ve şekil 26’da verildi.



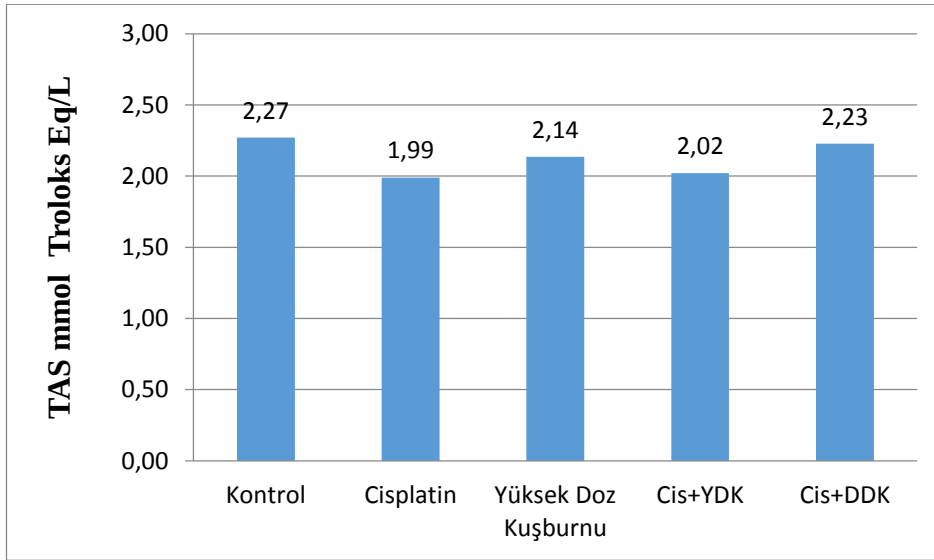
Şekil 23. Doku örneklerinde TAS değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 23’de görüldüğü gibi doku örneklerinde TAS değerleri siplatin grubunda kontrol, YDK, sis+YKB ve sis+DKB gruplarından anlamlı derecede düşüktür (sırası ile $p=0,001$; $p=0,01$, $p=0,000$ ve $p=0,000$). Kontrol grubu ile YKB, sis+YKB ve sis+DDK grupları arasında anlamlı fark görülmedi.



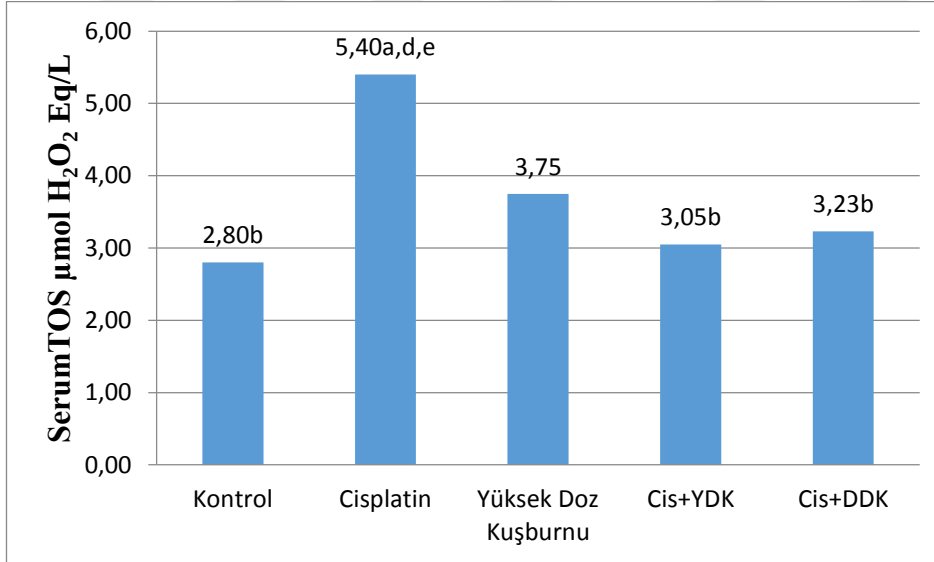
Şekil 24. Doku örneklerinde TOS değerleri. (a.b.c.d.e): aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Dokuda TOS değerlerine bakıldığında en yüksek grup sisplatin grubu olarak görülmüştür. En düşük değere sahip olan grup ise kontrol grubudur. Sisplatin ile kontrol grubu. Sisplatin, sisplatin + düşük doz kuşburnu, yüksek doz kuşburnu ve sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubu arasında bir fark görülmemiştir. Sisplatin ve yüksek doz kuşburnu grubu arasında fark görülmemiştir.



Şekil 25. Serum örneklerinde TAS değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Çalışmada serum örneklerinde serum TAS değerleri açısından en yüksek grup kontrol grubudur. En düşük grup ise sisplatin grubudur. Bununla beraber gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi.



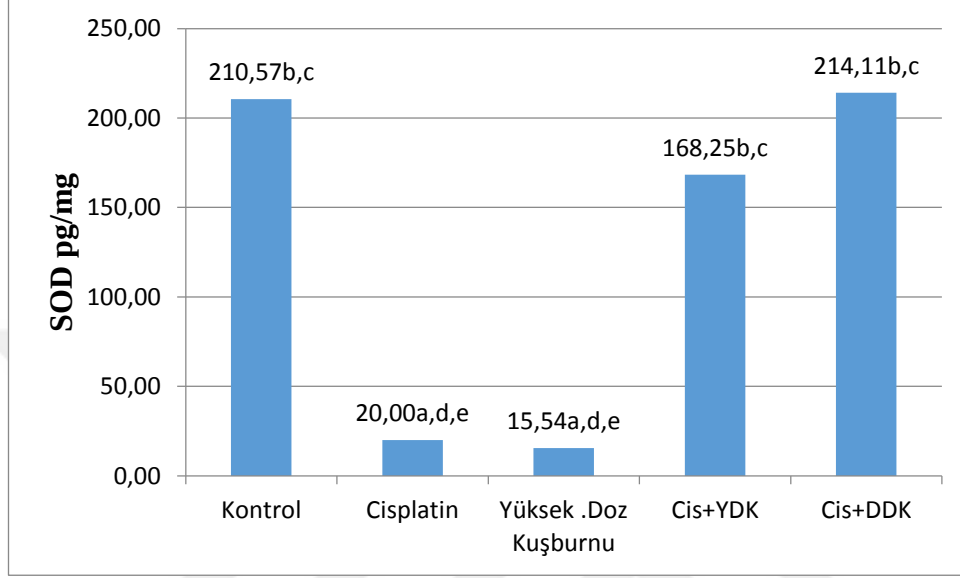
Şekil 26. Serum örneklerinde TOS değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Serum örneklerinde TOS değerleri arasında en düşük değer grup kontrol grubuna ait bulundu. En yüksek değere sahip grup ise sisplatin grubunda idi. Sisplatin grubu ile kontrol grubu, sisplatin+yüksek doz kuşburnu ve sisplatin+düşük doz kuşburnu grupları

arasında anlamlı fark görüldü (Sırası ile $p=0,002$, $p=0,006$ ve $p=0,011$). arasında anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$). Yüksek doz kuşburnu, kontrol, sisplatin + yüksek doz kuşburnu ve sisplatin + düşük doz kuşburnu grupları arasında fark görülmemiştir.

3.1.4. Dokuda SOD Düzeyleri

Doku SOD düzeylerine ait bulgular Şekil 27'de sunulmuştur.

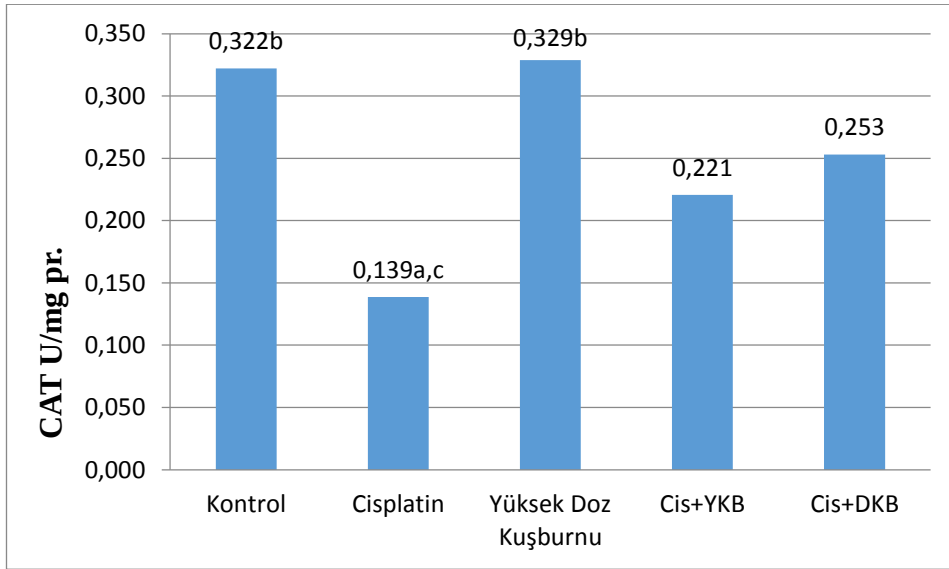


Şekil 27. Doku örneklerinde SOD değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 27'de görüldüğü gibi doku örneklerinden elde edilen yüksek doz kuşburnu grubunun en düşük SOD değerine sahip olduğu görülmüştür. İkinci en düşük grup ise sisplatin grubudur. Sisplatin grubu ile kontrol grubu, sis+YDK ve Sis+DDK grupları arasında anlamlı fark görülmüştür (sırası ile $p=0.000$, $p=0,001$ ve $p=0,000$). Sisplatin + DDK ve sis+YDK gruplarının kontrol grubundan anlamlı derecede farklı olmadığı tespit edildi.

3.1.5. Dokuda CAT Düzeyleri

Doku CAT düzeylerine ait bulgular Şekil 28'de sunulmuştur.

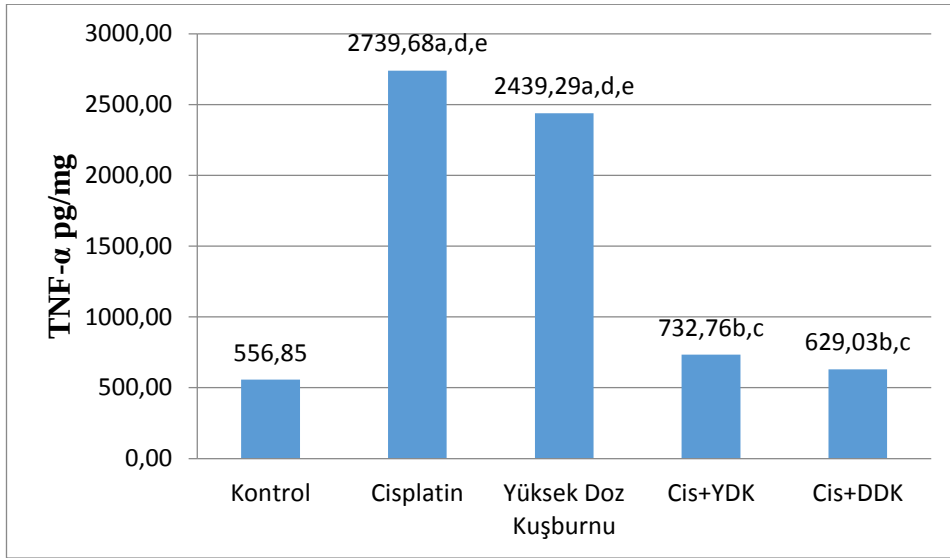


Şekil 28. Doku örneklerinde CAT değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 28’de görüldüğü gibi böbrek doku örneklerinden elde edilen CAT değeri en düşük olan grup sisplatin grubudur. Sisplatin grubu ile kontrol grubu ve yüksek doz kuşburnu grubu arasından anlamlı bir fark görülmektedir (sırası ile $p=0.003$ ve $p=0,002$). Kontrol grubu ve yüksek doz kuşburnu grubu arasında bir fark yoktur. Sisplatin + düşük doz kuşburnu grubunun ve sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubunun CAT değerinin sisplatin grubuna göre yüksek olduğu görülmekle beraber fark anlamlı değildi.

3.1.6. Dokuda TNF- α Düzeyleri

Doku TNF- α düzeylerine ait bulgular, Şekil 29’da sunulmuştur.

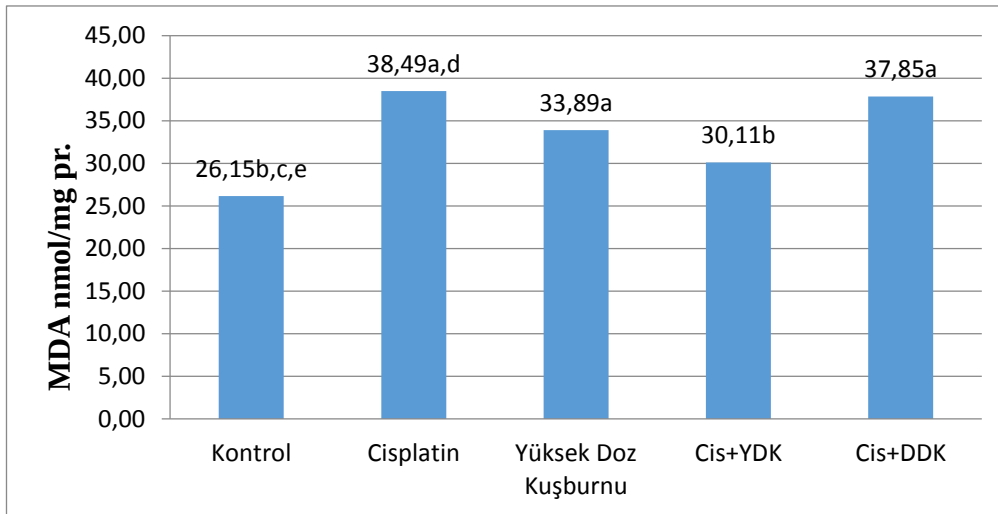


Şekil 29. Doku örneklerinde TNF- α değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 29’da görüldüğü gibi böbrek doku örneklerinden elde edilen TNF- α değerleri arasında en yüksek değere sahip olan grup sisplatin grubudur. Sisplatin grubu ile kontrol grubu arasından anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.000$). Sisplatin ve yüksek doz kuşburnu grubu arasında bir fark yoktur. Ayrıca Sisplatin + düşük doz kuşburnu ve sisplatin + yüksek doz kuşburnu gruplarından da anlamlı farklılık göstermektedir ($p<0,000$).

3.1.7. Dokuda MDA Düzeyleri

Doku MDA düzeylerine ait bulgular, Şekil 30’da sunulmuştur



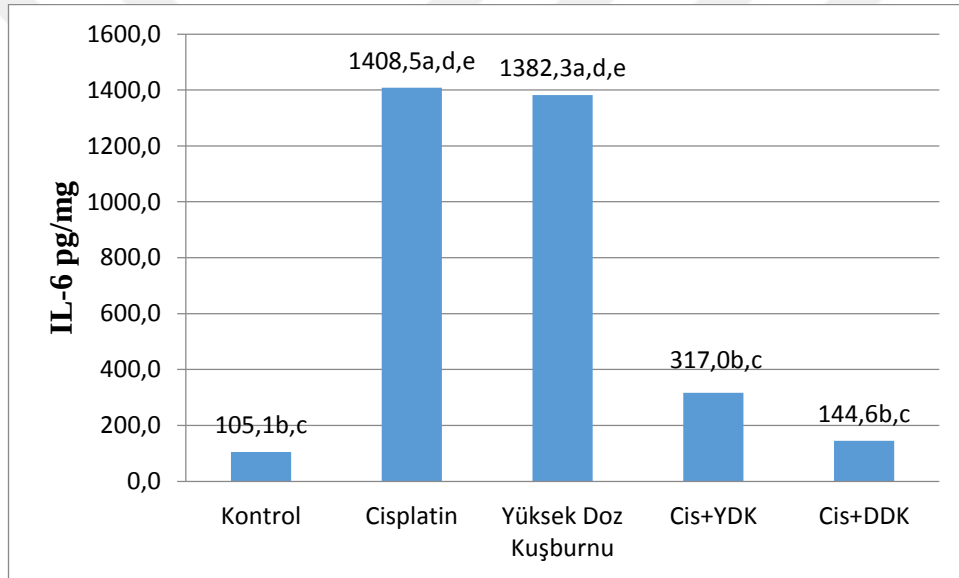
Şekil 30. Doku örneklerinde MDA değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile

karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir.

Şekil 30'da görüldüğü üzere doku MDA seviyeleri arasında en düşük değer kontrol grubunda tespit edildi. Sisplatin ile yüksek doz kuşburnu grubu arasında fark görülmedi. Sisplatin grubu ile kontrol ve sisplatin+yüksek doz kuşburnu grupları arasında anlamlı farklılık görüldü (sırası ile $p=0,000$ ve $p=0,024$). Kontrol ile sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubu arasında anlamlı farklılık görülmezken sisplatin + düşük doz kuşburnu grupları arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p=0,016$)

3.1.8. Dokuda IL-6 Düzeyleri

Doku IL-6 düzeylerine ait bulgular, Şekil 31'de sunulmuştur.



Şekil 31. Doku örneklerinde IL-6 değerleri. (a.b.c.d.e): ^aKontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı fark, ^bSisplatin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^cYDK grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark, ^dSis+YKB ile karşılaştırıldığında anlamlı fark ve ^eSis+DDK ile karşılaştırıldığında anlamlı farkı ifade etmektedir

Şekil 31'de görüldüğü gibi doku örneklerinden elde edilen IL-6 değerleri arasında en yüksek değere sahip olan grup sisplatin grubudur. Sisplatin grubu ile kontrol grubu arasından anlamlı bir fark görüldü ($p=0,000$). Sisplatin ve yüksek doz kuşburnu grubu arasında bir fark yoktur. Sisplatin + düşük doz kuşburnu grubunun IL-6 değerinin sisplatin grubuna göre belirgin biçimde düşük olduğu görülmektedir($p=0,000$). Sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubunun sisplatin grubuna göre düşük olduğu görülmektedir ($p=0,000$).

3.2. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik deęerlendirmede kontrol gurubunda glomerullerin dűzgűn yapıda, proksimal, distal ve toplayıcı tubul yapılarının normal görünűmde olduęu izlendi. Yüksek doz ilaç uygulanan grup kontrol grubuna benzer özellikteydi.

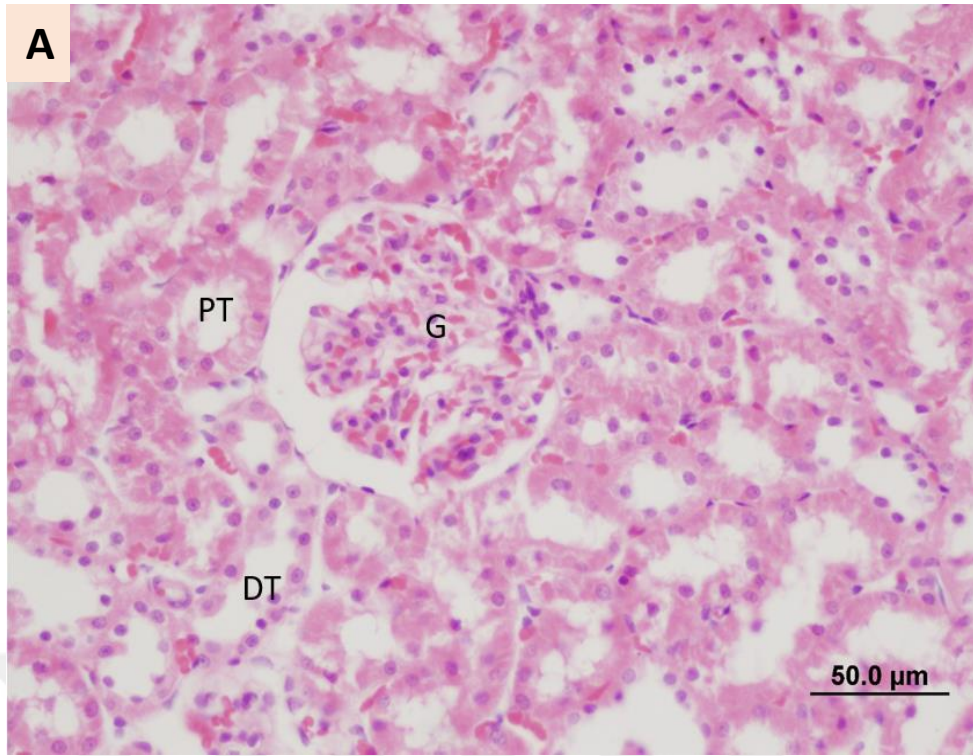
Sisplatin uygulanan grupta Proksimal ve distal tubullerde epitel dejenerasyonu, epitel dökűlmesi, epitel hücrelerinde vakuolizasyon gözlemlendi.

- Hücrelerde PAS+ görünűm artmıştı.
- Proksimal ve distal tubullerde cast formasyonu mevcuttu.
- Glomerullerin etrafında yer yer inflamatuvar hücre infiltrasyonu mevcuttu.
- Bazı glomerullerde bowman kapsűlűnde kalınlaşma, bowman aralıęında genişleme görűldű. Toplayıcı tubullerde kast formasyonu mevcuttu.

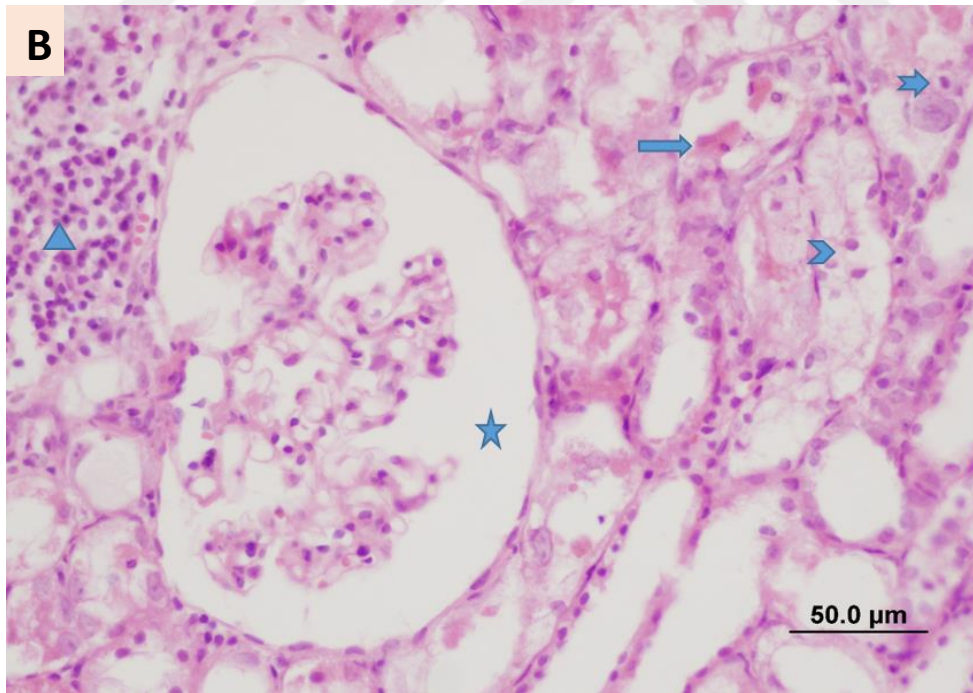
Sisplatin +dűşűk doz kuşburnu uygulanan grupta bulgular Sisplatin uygulanan grupta benzer özellikteydi. Bulgularda belirgin bir azalma gözlenmedi.

Sisplatin + yüksek doz kuşburnu uygulanan grupta bulgular oldukça azalmış olmakla beraber, PAS boyada azalma olmadı. Proksimal ve distal tubullerde cast formasyonu (ok) ağısından kontrol ve cisplatin grupları arasında anlamlı bir farklılık mevcuttu ($p<0.001$). Glomerullerin etrafında yer yer inflamatuvar hücre infiltrasyonu (űçgen) mevcuttur. Bazı glomerullerde bowman kapsűlűnde kalınlaşma, bowman aralığında genişleme (yıldız) görűlmektedir. Toplayıcı tubullerde iki grup arasında kast formasyonu (ok) ağısından anlamlı bir farklılık mevcuttu ($p<0.002$). Histopatolojik değerlendirmelerde kontrol grubu ile yüksek doz (400 mg/kg) kuşburnu grubu arasında tubuler hasar, cast formasyonu ve inflamatuvar bulgular ağısından anlamlı bir farklılık görűlmedi.

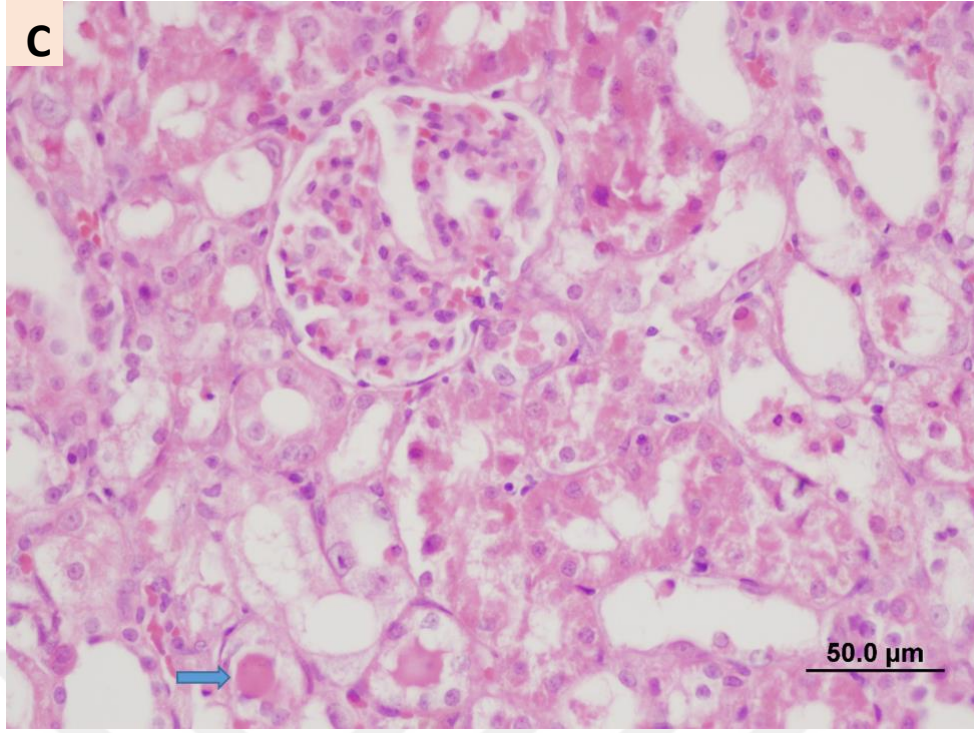
Histopatolojik bulgu ve değerlendirmelere dair şekiller aşığıda gösterilmiştir.



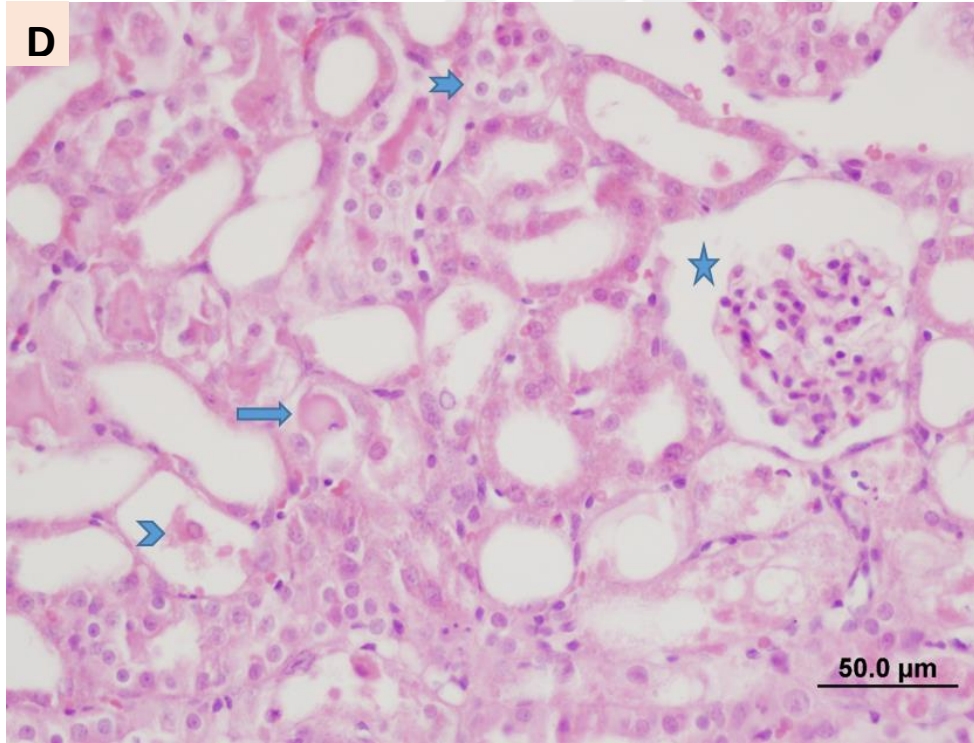
Şekil 32. A: Kontrol grubu Hemotoksilen & eozin ile 400X büyütme (H&E A(x400)) normal görünümlü böbrek dokusu. G: Glomerulus; DT: Distal Tübül PT: Proksimal Tübül



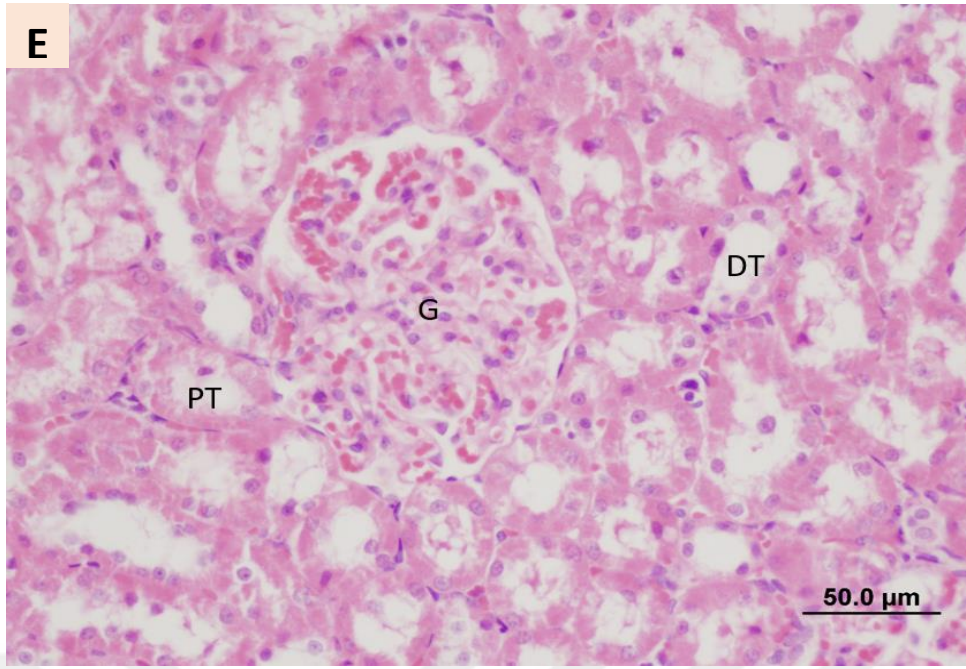
Şekil 33. B: Siplatin Grubu Hemotoksilen & eozin ile 400X büyütme (H&E (x400)) böbrek dokusu. Yıldız: bowman aralığında genişleme Üçgen: lökosit infiltrasyonu; Ok: cast formasyonu; Çentikli ok: hücrede vakuolizasyon; Ok başı: tübül lümenine dökülmüş hücreler.



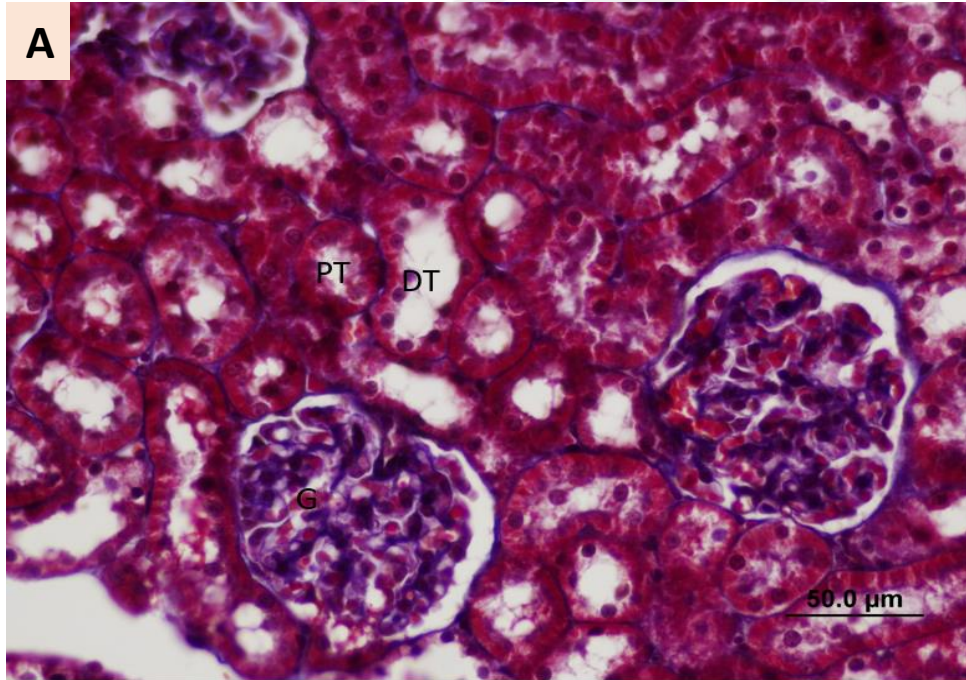
Şekil 34. C: Sisplatin + Yüksek Doz Kuşburnu Grubu Hemotoksilen & eozin ile 400X büyütme (H&E (x400)) böbrek dokusu. Ok: Cast formasyonu.



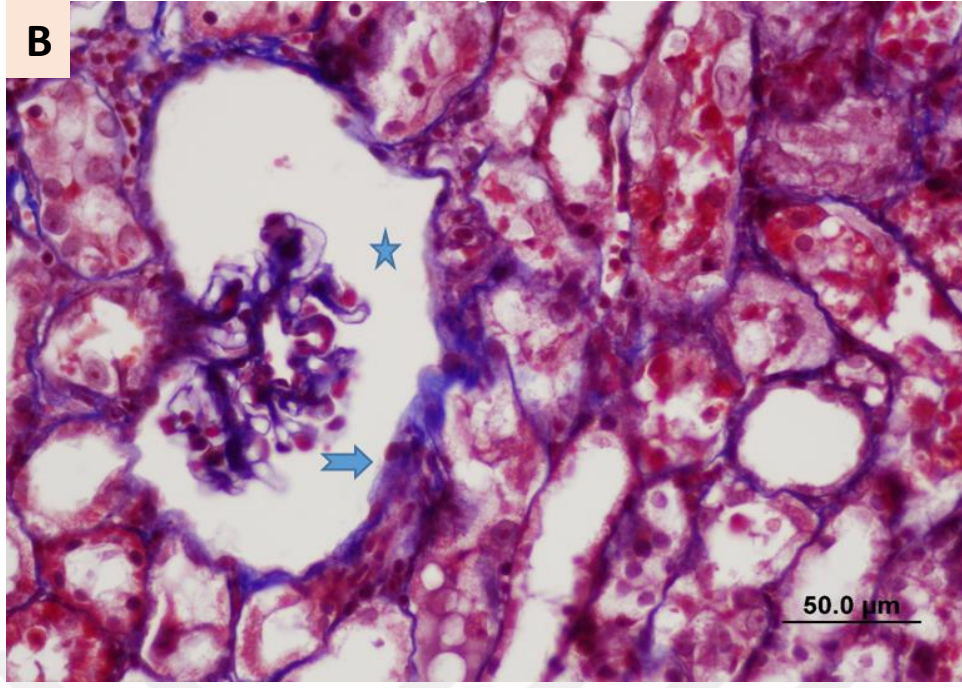
Şekil 35. D: Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu Hemotoksilen & eozin ile 400X büyütme (H&E (x400)) böbrek dokusu. Yıldız: bowman aralığında genişleme
Üçgen: lökosit infiltrasyonu; Ok: cast formasyonu; Çentikli ok: hücrede vakuolizasyon; Ok başı: tübül lümenine dökülmüş hücreler.



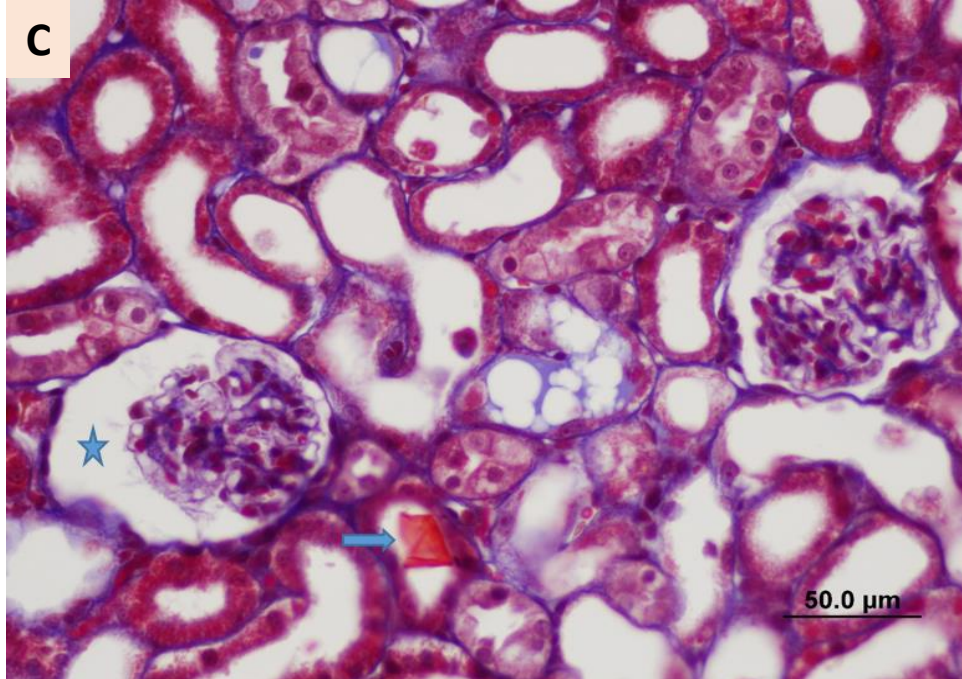
Şekil 36. E: Yüksek Doz Kuşburnu Grubu Hemotoksilen & eozin ile 400X büyütme (H&E A(x400)) normal görünümlü böbrek dokusu. G: Glomerulus; DT: Distal Tübül; PT: Proksimal Tübül



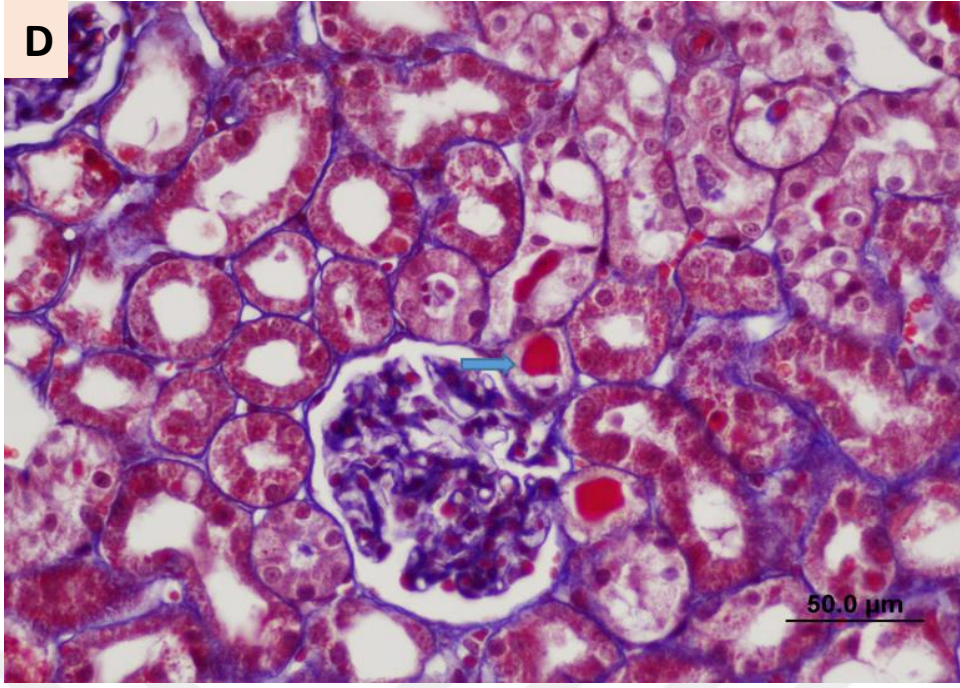
Şekil 37. A: Kontrol grubu Masson Trikrom ile boyanmış 400X büyütme normal görünümlü böbrek dokusu. PT: Proksimal Tübül G: Glomerulus; DT: Distal Tübül



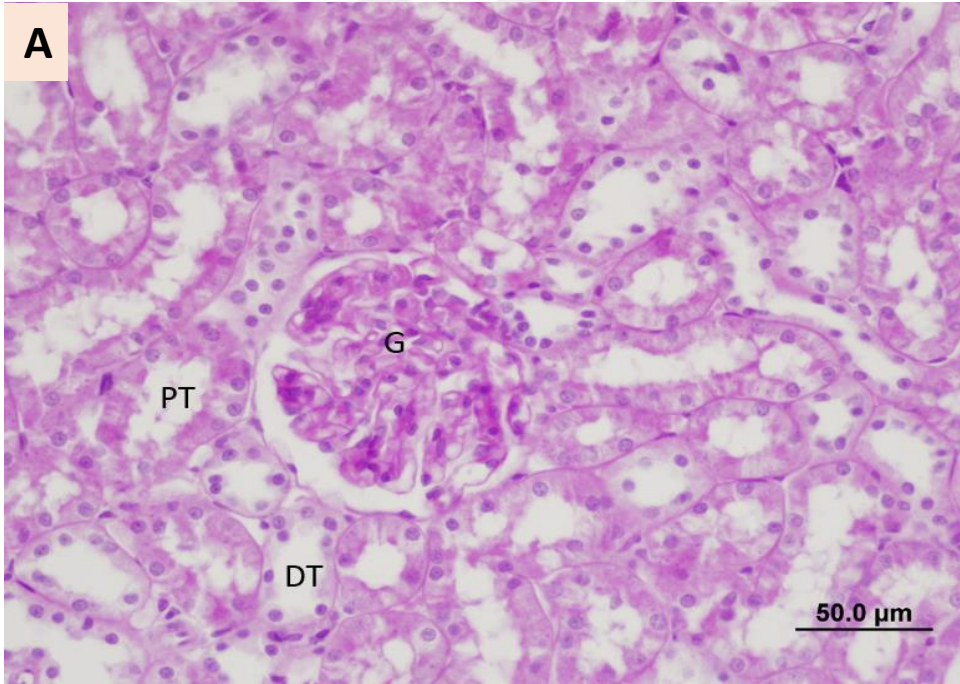
Şekil 38. B: Sisplatin Grubu Masson Trikrom ile boyanmış 400X büyütme böbrek dokusu. Yıldız: bowman aralığında genişleme Çentikli ok: bowman kapsülünde kalınlaşma



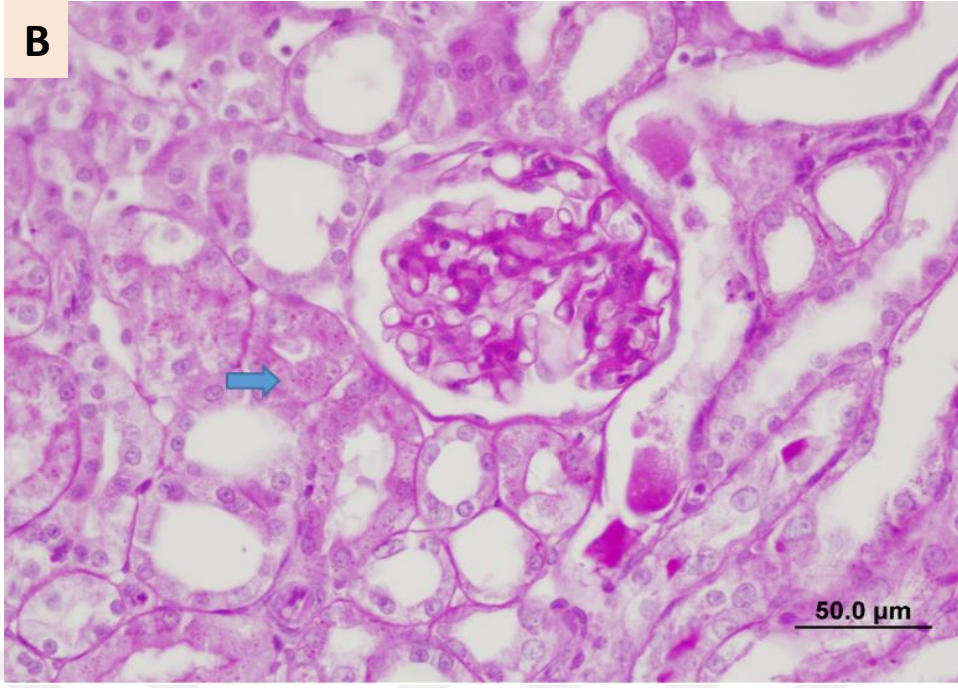
Şekil 39. C: Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu Masson Trikrom ile boyanmış 400X büyütme böbrek dokusu. Yıldız: bowman aralığında genişleme Çentikli ok: bowman kapsülünde kalınlaşma Ok: cast formasyonu



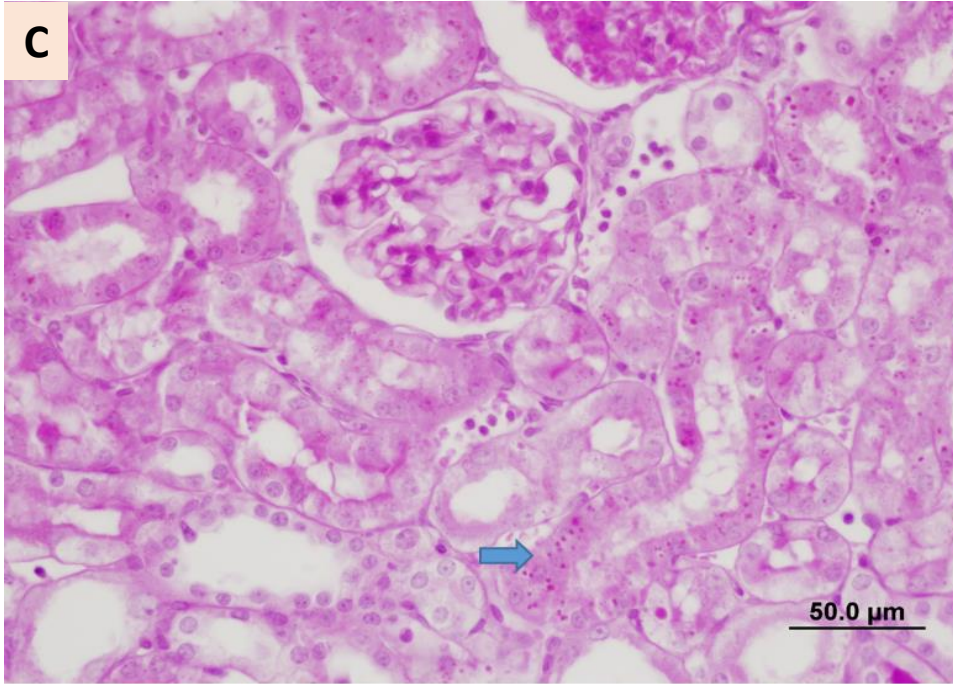
Şekil 40. D: Sisplatin+Yüksek Doz Kuşburnu Grubu Masson Trikrom ile boyanmış 400X büyütme böbrek dokusu. Ok: cast formasyonu



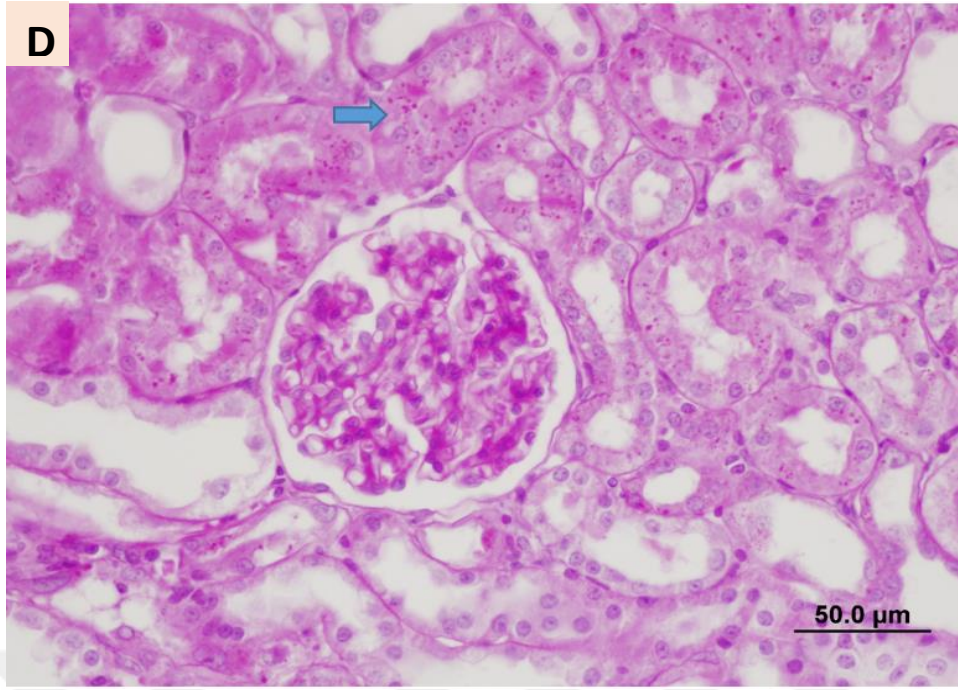
Şekil 41. A: Kontrol grubu Periyodik asit-Schiff ile boyanmış 400X büyütme (PAS Boyama(x400)) normal görünümlü böbrek dokusu. PT: Proksimal Tübül G: Glomerulus; DT: Distal Tübül



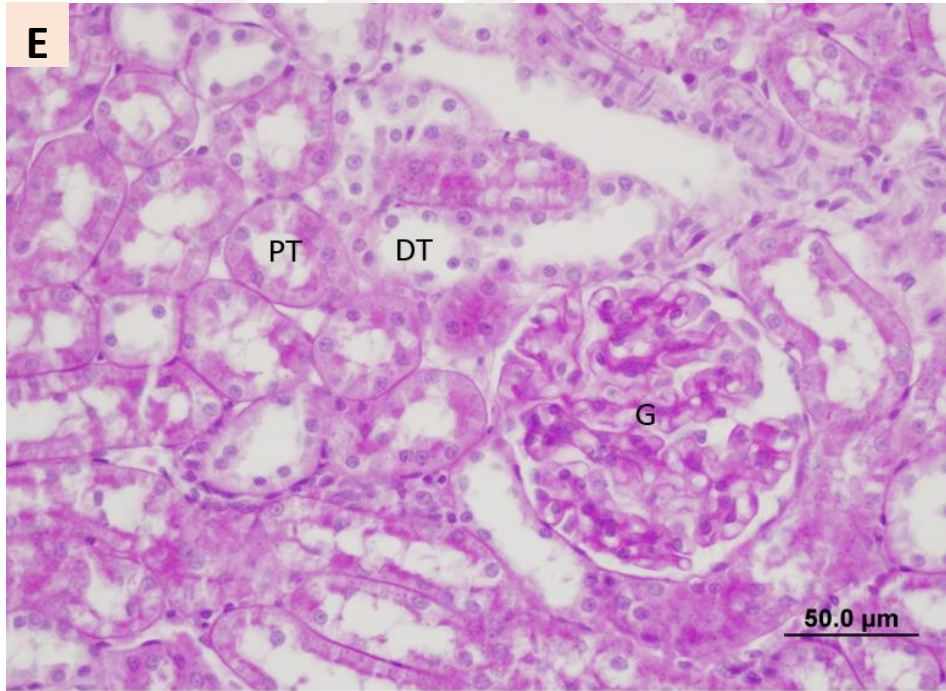
Şekil 42. B: Sisplatin Grubu Periyodik Asit-Schiff ile boyanmış 400X büyütmeli (PAS Boyama(x400)) böbrek dokusu. PAS+



Şekil 43. C: Sisplatin + Düşük Doz Kuşburnu Grubu Periyodik asit-Schiff ile boyanmış 400X büyütmeli (PAS Boyama(x400)) böbrek dokusu. PAS+



Şekil 44. D: Sisplatin + Yüksek Doz Kuşburnu Grubu Periyodik asit-Schiff ile boyanmış 400X büyütme (PAS Boyama(x400)) böbrek dokusu. PAS+



Şekil 45. E: Yüksek Doz Kuşburnu Grubu Periyodik asit-Schiff ile boyanmış 400X büyütme (PAS Boyama(x400)) normal görünümlü böbrek dokusu. G: Glomerul PT: Proksimal Tübül DT: Distal Tübül PAS+

4. TARTIŞMA

Sisplatin, bir antineoplastik kemoterapötik ajandır ve günümüzde yüksek toksisitesine rağmen, yaygın olarak kullanılmaktadır (Gold ve Raja, 2022). Testis, yumurtalık, baş ve boyun, mesane, akciğer, rahim ağzı kanseri, melanom gibi çeşitli katı kanserlerin tedavisi için tercih edilmektedir (Ghosh, 2019). Sisplatin, kanser hücrelerinde DNA hasarına neden olabilir, hücre bölünmesini engelleyebilir ve apoptotik hücre ölümünü tetikleyebilir (Dasari ve Tchounwou, 2014). Bununla beraber sadece kanser hücrelerinde değil vücudun sağlıklı hücrelerinde de benzer etkiler göstermektedir.

Sisplatinin söz konusu etki mekanizmaları sebebi ile bir takım yan etkilere sahiptir. Yan etkileri arasında sıklıkla nefrotoksisite, hepatotoksisite, anafilaksi, ototoksisite, nörotoksisite ve kemik iliği baskılanması yer almaktadır. Nefrotoksisite kanser tedavisinde başlıca sınırlayıcı faktör olarak tanımlanmaktadır (Karagöl, 2023). Hastalarda etkilerin ve toksisitenin görülmesi sisplatin dozuna ve tedavi süresine bağlı olarak değişir. Sisplatin uygulamasından sonra akut böbrek hasarının 3-21 saat arasında geliştiği ifade edilmektedir (Kırdal, 2013). Terapi sırasında sisplatin uygulaması sonucu hastaların yaklaşık %30'unda nefrotoksisite geliştiği görülmüştür (Akça vd, 2018). Bu durum sisplatin ve benzeri maddelerin ilaç olarak kullanımlarında daha hassas olunması gerektiğini göstermektedir. Bununla beraber kanser tedavilerinde kombine tedavi yöntemleri de kullanılmaktadır.

Sisplatine bağlı nefrotoksisitede özellikle sinyalleşmenin hedeflediği bilinmektedir (Pabla vd., 2008). Uzun süreli tedavilerde böbrek fonksiyonuna ve böbreğin yapısına zarar verdiği görülmüştür. Bu zarar, özellikle lipid peroksidasyonunu indükleyerek oksidatif stres ve serbest radikal üretimiyle ilişkilidir. Sisplatin ve benzeri maddelerin oksidan-antioksidan dengeyi bozarak oksidatif stresi indüklediği ve hücre içi moleküler mekanizmaların işleyişinin bozulduğu ifade edilmektedir (Pabla vd., 2008; Koyuncu, 2018). Sisplatinin büyük bir kısmı renal korteks içinde birikir ve özellikle proksimal tübüler hücrelerde yoğunlaşır bunun sonucunda renal tübüler yapı değişiklikleri ortaya çıkar (Okuyan, 2014; Şahin, 2022).

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve çeşitli sağlık faydalarıyla ilişkilendirilen bir grup bileşiktir. Antioksidan aktivitesi, ödem azaltıcı etkisi, antimikrobiyal, kanser ve mutasyon önleme etkileri bulunmaktadır (Eren, 2023).

Fenolik bileşiklerce zengin bitkisel ürünler, reaktif oksijen türleri (ROS) gibi oksidan sistemlerin hasar verici etkilerini gidermeye çalışırlar (Kılınç vd, 2020). Antioksidanlar serbest radikallerle hızlıca reaksiyona girer. Otooksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini önler. Antioksidanların fizyolojik şartlarda amacı serbest radikalleri etkisizleştirmek, toksik etkilerini engelleyerek hücreleri korumak ve serbest radikallerin neden olacağı bozuklukları, hastalıkları önlemektedir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Sisplatinin lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerini (ROS) artırıcı etkisi göz önüne alındığında, antioksidan özelliğe sahip çeşitli bileşiklerin (C ve E vitamini, likopen, quercetin, susam, yeşil çay, sitron, soya fasulyesi, buğday, lif ekstraktları, taurin, ferulik asit, aksantin, N-asetilsistein, kurkumin, propolis, nar vb) kullanıldığı çalışmalara sıkça rastlanmaktadır (Bami vd., 2017; Ueki vd., 2013). Polifenolik bileşikler de bu nedenle bir çok çalışmada kullanılmıştır (Turan vd, 2017; Okumuş vd, 2015).

Sisplatinin ratlar üzerinde oksidan/antioksidan, inflamatuvar ve apoptotik etkilerini tespit etmeye yönelik deneysel çalışmalarda pek çok farklı parametrenin kullanıldığı görülmektedir. Genel olarak SOD, TNF- α , CAT, MDA, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), interleukin-1 beta (IL-1 β), TAS, TOS, kaspaz-3 (Cas -3) yaygın olarak bakılan belirteçlerdir. Bununla beraber böbrek fonksiyon testlerinden glomerular filtrasyon hızı ve klirensin değerlendirilmesine yönelik serum kan üre azotu (BUN) ve kreatinin (CREA) değerleri de dikkate alınmaktadır. BUN ve CREA, metabolizmanın azotlu son ürünleridir. Üre, diyet proteininin ve doku protein döngüsünün sonucunda oluşan birincil bir metabolittir. Vücuttaki proteinlerin sindirimi ve aminoasitlerin parçalanması sonucunda ortaya çıkar. Kreatinin ise kaslarda bulunan kreatin fosfatın katabolizması sonucu oluşur (Hosten, 1990). Böbrek fonksiyon bozukluklarında BUN ve CREA değerlerinin arttığı görülmüştür (Kırdal 2013).

Yukarıda belirtilen biyokimyasal parametreler dışında ayrıca hücre kaybı, tübüler hasar, hücrelerde morfolojik değişiklikler, nekroz, lökosit infiltrasyonu, konjesyon, cast dormasyonu gibi histopatolojik parametreler de değişiklikleri göstermek için kullanılır.

Sisplatinin nefrotoksisiteye neden olabilmesi, deneysel hayvan çalışmalarında sıkça ve ilk gözlemlenen bir yan etkidir (Nematbakhsh vd., 2012). Sisplatinin nefrotoksik etkisinin azaltılmasına yönelik çalışmalarda özellikle sisplatin grubunda bu özelliğin görülmesi gerekmektedir ve çalışmalarda hem biyokimyasal (özellikle BUN, CREA) hem de histopatolojik/immunhistokimyasal olarak doğrulanmaktadır.

Nefrotoksisite oluşması için sisplatin dozu, uygulanış biçimi ve sakrifiye aşamasına kadar geçen süre önemlidir. Sisplatin dozuna yönelik literatür incelendiğinde deneysel hayvan modeline (rat, fare), etken madde konsantrasyonuna, sisplatinin vücuda verilme biçimine ve organ türüne göre değişiklik gösterdiği görülmektedir (Zhou, vd., 2022). Genel olarak doz konsantrasyonu 5 ile 20 mg/kg arasında değişmektedir. Literatür taramasında sisplatin uygulama biçimi intavenöz, subkutan ve intraperitoneal olarak değişmektedir. Nefrotoksisite oluşturmak için ratlara 7,5 mg/kg sisplatin uygulanmıştır. Literatüre bakıldığında bu doz nefrotoksisite oluşturmak için yeterli bir miktardır ve sisplatin grubumuzda akut nefrotoksisite geliştiği biyokimyasal ve histopatolojik analizlerle doğrulanmıştır.

Sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı astaksantin koruyucu etkisine bakılan bir çalışmada ratlara 16 mg/kg sisplatin dozu uygulanmış ve sisplatin grubunda BUN, CREA, TAS, TOS, biyokimya parametreleri ile histopatolojik görüntü ve kapaz-3 immünboyaması ile değerlendirilmiştir. Çalışmada sisplatin grubu ile sisplatin + 25 mg/kg astaksantin, sisplatin + 75 mg/kg astaksantin grubu, sadece 75 mg/kg astaksantin verilen grup ve çözücü verilen grup olarak 6 grup oluşturulmuştur. Böbrek fonksiyonlarına yönelik serum parametrelerinden BUN ve CREA değerlerinin sisplatin grubunda diğer tüm gruplara göre daha yüksek olduğu ve hem düşük hem de yüksek doz aksantin içeren sisplatin gruplarından anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Akça vd., 2018). Aynı çalışmada oksidan ve antioksidan göstergeler olarak böbrek doku homojenizatlarında TAS ve TOS değerleri bakılmış, TAS değerlerinin yine hem düşük hem de yüksek doz aksantin içeren sisplatin gruplarında sisplatin grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, TOS'un ise düşük olduğu görülmüştür. Alça ve arkadaşları çalışmada sisplatin + aksantin içeren gruplara 8 gün boyunca düşük ve yüksek doz aksantini intraperitoneal olarak vermiş ve 5. gün intraperitoneal olarak 16 mg/kg sisplatin uygulamış ve 8. gün ratlar sakrifiye edilmiştir.

Koyuncu'nun yaptığı çalışmada ise (Koyuncu vd, 2018), ratlarda sisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksisite üzerine fenolik bir bileşik olan naringenin koruyucu etkisine bakılmış ve sisplatin içeren gruplara tek doz 7 mg/kg sisplatin uygulanmıştır. Bu çalışmada da Akça ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde düşük (20 mg/kg Naringenin) ve yüksek (40 mg/kg Naringenin) olmak üzere iki farklı konsantrasyonda antioksidan özelliğe sahip ürün kullanılmış ve bunların böbrek doku TAS, TOS, glutatyon (GSH), MDA ve oksidasyon protein ürünleri (AOPP) değerlendirilmiştir. Çalışmada sisplatin grubunda doku TAS seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı, TOS seviyesinin ise arttığı tespit edilmiş ayrıca sisplatin ve naringenin

verilen gruplarda ise sisplatin grubuna göre anlamlı farklılık gösterdiği bulunmuştur. Aynı çalışmada doku oksidatif hasarının başka bir göstergesi olan MDA düzeyinin sisplatin grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir artış gösterdiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda yukarıda belirtilen literatüre benzer şekilde kontrol, sisplatin, kuşburnu gruplarına ek olarak sisplatin + düşük doz (200 mg/kg) ve sisplatin + yüksek doz (400 mg/kg) olarak iki farklı doz grubu dahil edildi. Sisplatin içeren gruplara 7,5 mg/kg i.p. sisplatin verildi. Sisplatin grubunun serum BUN ve CREA değerleri düşük sisplatin +DDK grubu hariç diğer gruplardan anlamlı bir farklılık gösterdiği bulundu. YDK ile kontrol grubu arasında her iki parametre açısından bir farklılık yoktu. Sis+YDK grubu kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek, sisplatin grubuna göre anlamlı derecede daha düşük değerlere sahipti. Doku TAS değeri sisplatin grubunda diğer tüm gruplarda anlamlı derecede daha düşüktü. Doku TOS değeri en yüksek sisplatin grubunda olmakla beraber gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. MDA değeri sisplatin grubunda yine en yüksek değere sahipken kontrol ve sisplatin + YKB grubuna göre anlamlı farklılığa sahipti.

Çalışmamızın içeriğine ve dizaynına benzer olan ve sisplatinin nefrotoksik etkisi üzerine karadut ekstraktlarının kullanıldığı başka bir çalışmada sisplatin grubunda BUN, CREA, SOD, TAS, TOS, TNF- α , MDA parametrelerinde anlamlı derecede yükselme ve düşüşler histopatoloji olarak anormal böbrek görüntüsü saptanmıştır. Bu çalışmada sisplatin + yüksek doz karadut (400 mg/kg) grubunun etkili olduğu tespit edilmiştir (Altıntaş, 2020).

Vanilik asidin ratlarda sisplatin kaynaklı böbrek hasarına karşı etkisinin gösterilmesine yönelik yapılan bir çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde inflamatuvar markır enzimlerinden SOD ve CAT aktivitelerine bakılmış ve bu parametrelerin kontrol grubuna göre sisplatin grubunda anlamlı olarak azaldığı, vanilik asid uygulanan gruplarda ise arttığı; TNF alfa ve TBARS değerlerinin ise sisplatin grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yükseldiği, yine vanilik asit uygulanan gruplarda ise kontrol grubuna paralel şekilde düştüğü görülmüştür (Sindhu vd, 2015).

Başka bir çalışmada ise sisplatinle indüklenen nefrotoksisite modelinde yüksek antioksidan içeriğe sahip olan curcuminin koruyucu etkisi incelenmiştir. İnflamatuvar durumu belirlemek için IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α gibi sitokin değerlerine bakılmıştır. Çalışmada curcumin (zerdeçal) kontrol ve sisplatin grupları dışında, sisplatin uygulamasından önce ve sonra verilen iki grup oluşturulmuştur. Söz konusu sitokinlerin sisplatin öncesi curcumin verilen grupta sisplatin grubuna göre daha anlamlı değişiklikler gösterdiği izlenmiştir. Sisplatin sonrası verilen grupta ise anlamlı olmayan

bir düşüş söz konusudur. Koruyucu etkinin inflamasyonda görevli sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etmesinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Kumar, 2017).

Çalışmamızda böbrek doku homojenizatlarında antioksidan enzim sistemlerine dahil olan süperoksid dismutaz ve katalaz düzeylerine bakıldı. SOD hem hücre içi hem de hücre dışında türevleri bulunan bir enzimdir ve oksidatif strese bağlı olarak azalmaktadır. Aynı durum hidrojen peroksit yıkımını sağlayan CAT için de geçerlidir. SOD değerleri kontrol grubunda sisplatin ve YDK grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken sis + DKB ve sis+ YDK grupları ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Bu durum kuşburnunun sisplatininin oksidan etkisini SOD aktivitesini arttırmak sureti ile engellediğini düşündürmektedir. Bununla beraber YDK grubunun düşük SOD değerleri kuşburnunun güçlü antioksidan etkisine bağlanmıştır. Çünkü yüksek antioksidan içeriğin bazı durumlarda prooksidan etkiye sebep olabileceği bilinmektedir. C vitamini güçlü bir antioksidan olup yüksek dozlarda prooksidatif etkiye sahiptir. Yine bazı fenolik bileşiklerin de geçiş metalleri içeren sistemlerde prooksidan etki gösterebileceği belirtilmiştir (Sotler vd., 2019). CAT enziminde ise sisplatin en düşük değere sahipti. Kontrol ve YDK gruplarına göre anlamlı düşük değer göstermekteydi. Sis+ YDK ve sis + DDK sisplatine göre daha yüksek değerlere sahipti.

Karakoç ve arkadaşları yaptığı Molsidominin sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin incelendiği çalışmada (Karakoç vd., 2015), SOD, CAT ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi çeşitli antioksidan ve Miyeloperoksidaz (MPO), gibi prooksidan ürün oluşturan enzimlerin değerleri incelenmiş, sisplatinin, MPO düzeyini artırırken, GPX düzeyini azalttığı, molsidomin uygulaması ise MPO seviyesini düşürürken GPX, CAT ve SOD seviyelerinde anlamlı bir farka sebep olmadığı görülmüştür.

Çalışmamızda inflamatuvar belirteçler olarak böbrek doku TNF- α ve IL-6 sitokinlerine bakılmıştır. Sisplatin ve YDK gruplarında kontrol, sis+YDK ve sis+DDK gruplarına göre hem TNF- α hem de IL-6 düzeylerinin Kumar ve arkadaşlarının çalışmasına benzer şekilde derecede anlamlı oldukça yüksek olduğu görüldü. Kuşburnu içeren sisplatin gruplarında inflamatuvar belirteçlerin belirgin biçimde düşmesi kuşburnunun anti-inflamatuvar özelliği ile uyumludur. Bununla beraber YDK'nun inflamatuvar etkisi prooksidan etkisinin yansıması olarak düşünülmektedir. Kuşburnu C vitamini bakımından en zengin bitki türlerinden biridir ve hem yalancı meyvesi hem de çekirdekleri bu özelliği gösterir.

Sisplatinin ratlarda nefrotoksisite üzerine çeşitli etken maddelerin etkilerinin incelendiği çeşitli çalışmalarda sisplatin gruplarında farklı histopatolojik veriler

değerlendirilmiştir. Çalışmamızda Malkoç ve arkadaşlarınca kullanılan ve histopatolojik değişikliklerden yaygın görülen proksimal ve distal tubul hasarı (tübüler epitel şişmesi ve vakuolizasyonu, fırçamsı kenar kaybı, tübüler dilatasyon, ve tübüler hücre deskuamasyonu), proksimal ve distal tubullerde kast oluşumu, polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu, toplayıcı tubullerde kast oluşumu skorlama yapılarak değerlendirildi (Malkoç vd, 2020). Ratlarda sisplatinin nefrotoksisite üzerine Sanggenon C'nin etkilerini incelendiği bir çalışmada sisplatin gruplarında tübül hücrelerinde dejeneratif değişiklikler, bowman kapsülünde daralma, glomerulus yumağında vakülorizasyon gözlenmiş olup toksisite olduğu bildirilmiştir (Şahin, 2022).

Çalışmamızda histopatolojik incelemelerde özellikle sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubunun tübüler hasar, cast formasyonu ve inflamatuvar bulgular açısından kontrol grubundan anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir (sırası ile p değerleri: $p=0.47$, $p=0.57$ ve $p=0.14$). Bununla beraber sisplatin + düşük doz kuşburnu grubu ise aynı değerlendirme parametreleri bakımından kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklı idi. Bu durum 400 mg/kg kuşburnu uygulamasının sisplatinin nefrotoksik etkilerini önlediğini göstermektedir. Yüksek doz kuşburnunun antienflamatuvar ve antioksidan yolla nefrotoksisiteye karşı hasarı engelleyici tedavi özelliği olduğu düşünülmektedir. Ancak 200 mg/kg doz kuşburnu ise etkilerin giderilmesinde yeterince etkili olamamıştır. Sisplatin grubunda böbrek dokusu hücrelerinin bowman kapsülünde kalınlaşma ve bowman aralığında genişleme, tübüler lümene dökülmüş hücreler, morfolojik yapılarında kayıp ve bozulmalar, cast formasyonu görülmüştür. Sisplatin grubu ile sisplatin + düşük doz kuşburnu arasında cast formasyonu ve tubuler hasar açısından belirgin bir fark yokken inflamatuvar belirteçler açısından anlamlı bir farklılık mevcuttu. Kontrol grubu ve yüksek doz kuşburnu grubu dokuları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

100'den fazla türe sahip olan kuşburnu bitkisi yüksek miktarda fenolik içeriğe sahiptir ve orta çağdan beri bitkisi geleneksel tedavide kullanılan tıbbi bir bitkidir (Ünalın, 2021). Kuşburnu vitamin (vitamin C, E, B1) ve eser elementler, karotenoidler, tokoferoller, flavonoidleri (Kateşin, quersetin, kaemferol.), organik asitleri(gallik asit, kateşik asit, tanenleri, pektini, şekerleri, amino asitleri ve uçucu yağları içerir (Erdem vd., 2021; Panche vd., 2016). Kuşburnunun içerdiği bu zengin içeriği ile anti-oksidan, anti-inflamatuvar, antidiyabetik, antikanser etkilere sahip olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Kılınç vd., 2020). Örneğin yapısındaki bazı fenolik bileşiklerin, inflamasyonda rol oynayan ve arasıdonik asidin prostoglandinlere ve tromboksanlara dönüşümünü katalizleyen siklooksijenaz-1 (COX 1) enziminin inhibitörü olarak

davrandığı ve böylece inflamatuvar yanıtı engellediği/azalttığı ifade edilmektedir (Panche vd., 2016).

Sonuçlarımız, çalışmamızda kuşburnunun çeşitli dozlarının sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteyi ve bunun sonucunda meydana gelen hasarı, çeşitli antioksidan enzimler aracılığıyla engellediğini göstermektedir. Ayrıca, sisplatin + yüksek doz kuşburnu grubunun daha güçlü bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgilerin ışığında, farklı alanlarda gerçekleştirilecek çalışmalara ve multidisipliner projelere kaynaklık edileceği düşünülmektedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ratlarda sisplatin kullanılarak böbrek hasarı oluşturularak kuşburnunun tedavi edici etkinliğinin biyokimyasal yöntemler ve histolojik yöntemlerle incelendi. Bu çalışma sonucunda aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı.

- Ratlarda böbrek hasarı geliştirmek için 7,5 mg/kg tek doz uygulaması yeterli olmuştur.
- Biyokimyasal analizlerin bazılarında yüksek doz kuşburnu grubu etkili olurken bazı parametreler için düşük doz kuşburnu grubunun iyileştirici etkisi daha fazla olmuştur.
- Histopatolojik incelemelerin hepsinde yüksek doz kuşburnu grubunun düşük doz kuşburnu grubundan daha çok iyileştirici etkisi görülmüştür. Ayrıca doku hasarını da iyileştirdiği görülmüştür.
- Biyokimyasal analiz sonuçları ile histopatolojik inceleme sonuçları birbiriyle uyumludur.
- Sisplatin tedavisi alan kanser hastalarında kuşburnu tüketilmesi önerilebilir veya antinefrotoksik ilaç tasarımına katkı yapılabilir.
- Histopatolojik analiz sonucu değerlendirildiğine konjesyoon oranı, renal korteksteki nefrotik bölgeler ve tübüler nekrozun kuşburnu gruplarında iyileşme gösterdiği görülmüştür.
- Nefrotoksisite durumlarında kuşburnu çalışmalarının yapılması tavsiye edilmektedir.
- Antioksidan yeteneği yüksek olan kuşburnu bitkisinin yüksek dozlarda alınması oksidatif strese neden olabilir. Fakat nefrotoksisite durumunda yüksek doz kuşburnunun iyileştirici özelliği vardır.
- Sonuç olarak yapılan çalışmada elde edilen bulgulara göre, geniş spektrumlu antineoplastik ilaçlardan sıklıkla kullanılan sisplatinin kuşburnu ile kullanılması böbreklerde nefrotoksisite nedeniyle meydana gelen patolojik, morfolojik ve biyokimyasal değişimleri anlamlı derecede azalttığı görülmüştür.

KAYNAKÇA

- Ada, S., Ertürk, C., Uçar, A., Akyüz, S., Doğan, F., Yücel, B., (2021). Kanser Hücre Metabolizması, *Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı Dergisi*, 3, 66–75s.
- Aebi, H. E. (1987). Aebi H (1984): Catalase.(in) Methots In Enzymology, L. Packer (Editör), 105: 121-126, Academic Pres, Orlando.
- Akca, G., Eren, H., Tumkaya, L., Mercantepe, T., Horsanali, M.O., Deveci, E., Dil, E., Yilmaz, A. (2018). The Protective Effect of Astaxanthin Against Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats. *Biomed Pharmacother*;100:575-582.
- Akdeniz, M. ve Yardımcı, B. (2016). Kanser Aşıları Derleme, *Klinik Tıp Aile Hekimliği Dergisi*, 8(2),1-2s.
- Altıntaş, R. (2020). *Ratlarda Cisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Üzerine Karadut (Morus Nigra L.) Ekstraktının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi*, Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane.
- Arsılkılıç, Ç., Temiz, G. ve Göktaş, S. (2020). Kemoterapi İlaç Güvenliği ve Hemşirelik; Sistemik Derleme, *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3): 200-218s.
- Ateş, S. ve Olgun, N. (2013). Kemoterapiye Bağlı Alopesi ve Yaşam Kalitesi, *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, Ankara, 67-80.
- Aydemir, B., Sarı, E.K., (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi, *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 2(2);56-60.
- Bağçıvan, G., Uysal, N., Karaaslan, A., Kapucu, S., Talas, M. S. ve Terakye, G. (2015). Review Of Oncology Nursing Research That Conducted By Nurses in Turkey And Published Between 2009-2013: A Systematic Review. *Turkish Journal Of Oncology*, 30(1):5-15.
- Bami, E., Ozakpınar, O.B., Ozdemir-Kumral, Z.N., Köroğlu, K., Ercan, F., Ciraklı, Z., Sekerler, T., Vehbi İzzettina, F., Sancara, M. ve Okuyana, B., (2017). Protective Effect of Ferulic Acid on Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 54, 105–11.
- Baykara, O. (2016). Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, Derleme*, Balıkesir, 5 (3) , 154-165s.
- BUGEM. (2022). *Kuşburnu Fizibilite Raporu ve Yatırımcı Rehberi*, Ankara, Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü.

- Chen, Z., Wang, X., Wang, Y. ve Shin, M. D. (2009). Advances of Cancer Therapy by Nanotechnology, *Cancer Research and Treat.* , 41 (1) : 1 – 11.
- Cherry, S. M., Hunt, P. A., Hassold, T. J., (2004). Cisplatin Disrupts Mammalian Spermatogenesis, But Does Not Affect Recombination Or Chromosome Segregation, *Mutat Res* 564, 115-128s.
- Çetin, A., Arslanbaş, Ü., Saraymen, B., Canöz, Ö., Öztürk, A. ve Sağdıç, O. (2011). Sıçanlarda Cisplatin Kaynaklı Hepatotoksisite Üzerine Üzüm Çekirdeği Ekstresi Ve Origanum Onites Esansiyel Yağının Etkileri, *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 21(3), 133 – 140s.
- Çetintaş, V. B., Eroğlu, Z. (2013). Cisplatin Direncinde Etkili Moleküler Mekanizmalar, Derleme, *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyoloji Ad*, 20(2), 72-79s.
- Çevik, B. A. ve Pirinçci, E. (2017). Beslenme Ve Kanser, *Fırat Tıp Dergisi*, Sayı 1, 001-007s.
- Darak, M. (2022). *Geleneksel Tıpta Kullanılan Kuşburnu (Rosa canina L.) Meyvelerinin Farklı Saklama Koşulları ve Demleme Sürelerinde Antioksidan Antimikrobiyal Aktivitelerinin ve Fenolik İçeriğinin İncelenmesi*, Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Gümüşhane Üniversitesi Gümüşhane .
- Dasari, S. ve Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in Cancer Therapy: Molecular Mechanisms of Action, *Eur J Pharmacol*, 740: 364–378s.
- Erdem, F., Gündoğan, E. N., Yılmaz, M. S., Sezgin, İ., Summakoğlu, Y. ve Şakıyan, Ö. (2021). Kuşburnu (Rosa Canina) Fenolik Bileşiklerinin Mikroenkapsülasyonu, *GIDA*, 46 (4), 1026-1039s.
- Eren, E., Ata, A. ve Arıcan, A. (2012). Kanser Tedavisinde Kullanılan İlaçlar Ve Nefrotoksisite, *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* , 26(3):229-235.
- Eren, T. (2023). *Soğuk Preslenmiş Kuşburnu (Rosa Canina L.) Çekirdek Yağının Fonksiyonel Ürün Niteliklerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Erkurt, M. A., Kuku, İ., Kaya, E., Aydoğdu, İ., (2009). Kanser Kemoterapisi Ve Böbrek, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 16 (1), 63-68s.

- Eroğlu, E. (2014). *Çözünür Kuşburnu Çayı Üretiminde Ekstraksiyon Ve Kurutma Optimizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Fang, C., Lou, D., Zhou, L., Wang, J., Yang, B., He, Q., Wang, J., Weng, Q., (2021). Natural Products: Potential Treatments For Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42,1951–1969s.
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J. ve Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 25;14(15):4135s.
- Frye, D. K. (2009). Capecitabine-Based Combination Therapy for Breast Cancer: Implications for Nurses. *Oncology Nursing Forum*, 36(1):105-13s.
- Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug, *Bioorg Chem*, 88:102925.
- Gold, J. M. ve Raja, A. (2022). Cisplatin, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Gürbüz, B. (2021). *Kuşburnu Çekirdeği Tozu İle Zenginleştirilmiş Probiyotik Yoğurt Üretimi*, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi.
- Holzer, A. K., Samimi, G. ve Katano, K. (2004). The Copper Influx Transporter Human Corper Transport Protein 1 Regulates The Uptake of Cisplatin in Human Ovarian Carcinoma Cells, *Mol Pharmacol*,66: 817-823s.
- Hong, Y. A. ve Park, C. W. (2021). Catalytic Antioxidants in the Kidney. *Antioxidants*. 10(1):130s.
- Hosten, A. O. (1990). *BUN and Creatinine*, Walkeri HK., Hall, W.D., Hurst, J.W. (Der).Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations içinde.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1(1).
- Karademir, L. D. (2015). *Sisplatine Bağlı Böbrek Hasarının Erken Tespiti ve Teofilin Kullanımının Koruyucu Etkileri*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Karagöl, N. (2023). Cisplatin Nefrotoxicity and Treatment Approaches. *International Journal of PharmATA* 3(1): 14-22

- Karakoc, H. T., Altintas, R., Parlakpınar, H., Polat, A., Samdanci, E., Sagir, M., Duran, Z.R., (2015). Protective Effects Of Molsidomine Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Adv Clin Exp Med* 24, 585-593.
- Karakuş, S. ve Bostan, S.Z. (2017). Akıncılar (Sivas) Yöresinde Doğal Olarak Yetişen Kuşburnu Genotiplerinin (*Rosa spp.*) Seleksiyon Yoluyla Islahı, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, Cilt 6, 215-225.
- Khazaei, M., Nematbakhsh M. (2012). Effect of Experimentally Induced Metabolic Acidosis on Aortic Endothelial Permeability and Serum Nitric Oxide Concentration in Normal and High-Cholesterol Fed Rabbits. *Arch Med Sci.* 8;8(4):719-723.
- Kilinc, K., Demir, S., Turan, I., Mentese, A., Orem, A., Sonmez, M., Aliyazicioglu, Y. (2020). Rosa canina Extract has Antiproliferative and Proapoptotic Effects on Human Lung and Prostate Cancer Cells. *Nutr Cancer.* 72(2):273-282.
- Kırdal, H.Y. (2013). Gemsitabin ve Sisplatin Kemoterapisi Alan Hastalarda Destek Tedavi ve Bakım Önerileri. *Üroonkoloji Bülteni* 12(1);46-49s.
- Koca, İ., Koca, A. F. ve Yolcu, D. (2008). Fonksiyonel Gıda Olarak Kuşburnu, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs Erzurum.
- Koyuncu, İ. (2018). Ratlarda Sisplatin Kaynaklı Nefrotoksisite Üzerine Naringenin Koruyucu Etkisinin İncelenmesi, *Harran Üni. Vet. Fak. Derg.*:7(1):119-125s.
- Kumar, P., Sulakhiya, K., Barua, C. C., Mundhe, N. (2017). TNF- α , IL-6 and IL-10 Expressions, Responsible for disparity in Action of Curcumin Against cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Mol Cell Biochem*, 431(1): 113–122s.
- Leslie, S. W. ve Sajjad, H. (2022). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Renal Artery. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 29083626.
- Liu, T., Stern, A., Roberts L. J. ve Morrow, J. D. (1999). The Isoprostanes: Novel Prostaglandin-Like Products of The Free Radical-Catalyzed Peroxidation of Arachidonic Acid. *Journal of Biomed Sci*, 6(4):226-235.
- Liu, Z., Ma, Z., Wang, Z., Ren, S., Tang, S., Wang, Y., Xiao, S., Chen, C., Li, W., (2017). Supplementation of American Ginseng Berry Extract Mitigated Cisplatin-Evoked Nephrotoxicity By Suppressing ROS-Mediated Activation of MAPK and NF- κ B Signaling Pathways, *Food Chem Toxicol*, 110,62-73s.

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. ve Chandra, N. (2010). Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacogn Rev.*4(8):118-126.
- Malkoç, M., Patan, H., Yaman, S. Ö., Türedi, S., Kerimoğlu, G., Kural, B. V., Örem, A. l-theanine Alleviates Liver and Kidney Dysfunction in Septic Rats Induced by Cecal Ligation and Puncture. *Life Sci.* 15;249:117502.
- Marchandise, P. M., Gras, V., Moragny, J., Micallef, J., Gaboriau, L., Picard, S., (2017). The Drugs That Mostly Frequently Induce Acute Kidney Injury: a Case-Noncase Study of a Pharmacovigilance Database, *Br J Clin Pharmacol*, 83,1341–1349.
- Miller, R. P., Tadagavadi, R. K., Ramesh G. ve Reeves W. B. (2010). Mechanism of Cisplatin Nephrotoxicity, *Journal of Toxins*, ISSN 2072-6651, 2, 2490-2518.
- Nayak, K. A. ve Pal, D. (2010). Nanotechnology for Targeted Delivery in Cancer Therapeutics, *Seemanta Institute of Pharmaceutical Sciences*, 1(1).
- Ogobuiro, I. ve Tuma, F. (2023). Physiology, Renal. In: StatPearls, Treasure Island.
- Okçu, Z., Kerse, S., Yavuz, Y., (2017). Kuşburnu Meyvesinin Değişik Ürünlerle İşlenirken Besinsel Kalitesindeki Değişim, Uluslararası Katılımlı V. Üzümsü Meyveler Sempozyumu 27- 30 Eylül *Bahçe Dergisi* Sayı 46, 89-96.
- Okumuş, G., Yıldız, E. ve Akpınar-Bayizit, A. (2015). Doğal Antioksidan Bileşikler: Nar Yan Ürünlerinin Antioksidan Olarak Değerlendirilmesi, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2), 203-214.
- Okuyan, B. (2014). *Investigation of Ferulic Acid and Curcumin Effects on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats*, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi.
- Öz, M., Baltacı, C. ve Deniz, İ. (2018). Gümüşhane Yöresi Kuşburnu (*Rosa canina* L.) ve Siyah Kuşburnu (*Rosa pimpinellifolia* L.) Meyvelerinin C Vitamini ve Şeker Analizleri, *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8 (2): 284-292.
- Pabla, N. ve Dong, Z. (2008). Cisplatin Nephrotoxicity: Mechanisms and Renoprotective Strategies. *Kidney Int.* 73(9):994-1007.
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 29;5:e47. doi: 10.1017/jns.2016.41. PMID: 28620474; PMCID: PMC5465813.
- Patel, S. (2017). Rose Hip as an Underutilized Functional Food: Evidence-Based Review, *Trends in Food Science & Technology*, 63: 29-38s.

- Pekmezci, H., Köse, B.G., Akbal, Y., Özdemir, V.A., Çol, B.K., (2022). Kemoterapi Alan Kanser Hastalarının Semptom Yönetiminde Tamamlayıcı Terapi Kullanımları, *Sağlık Akademisyenleri Dergisi*, 9(3), 211-219s.
- Perazella, M. A. (2009). Renal Vulnerability to Drug Toxicity, *Clinical Journal of the Clin J Am Soc Nephrol* 4(7):1275-83.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health, *Journal of Biomed Sci.*, 4(2):89-96s.
- Sabuncuoğlu, S., Özgüneş, H. (2011). Kemoterapi, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31(2), 137-150s.
- Sadeghi, H., Hosseinzadeh, S., Touri, M. A., Ghavamzadeh, M., Barmak, M. J., Sayahi, M. (2016). Hepatoprotective Effect of Rosa Canina Fruit Extract Against Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rat, *Avicenna J. Phytomed*, 6,181-188.
- Soriano, R.M., Penfold, D. ve Leslie, S.W. (2022). Anatomy, Abdomen and Pelvis: Kidneys. Treasure Island.
- Sotler, R., Poljšak, B., Dahmane, R., Jukić, T., Pavan, Jukić. D., Rotim, C., Trebše, P., Starc, A. (2019). Prooxidant Activities of Antioxidants and Their Impact on Health. *Acta Clin Croat*. 58(4):726-736.
- Şahin, B. (2022). *Ratlarda Cisplatin Nefrotoksitesinde Sanggenon C'nin Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Turan, I., Demir, S., Kilinc, K., Burnaz, N.A., Yaman, S.O., Akbulut, K. ve Deger, O., (2017). Antiproliferative and Apoptotic Effect of Morus Nigra Extract on Human Prostate Cancer Cells, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(2), 241–248s.
- Tüfekçi, Ö. (2009). *Asetil-L Karnitin'in Deneysel Sisplatin Nefrotoksitesi Üzerindeki Etkisinin Araştırılması*, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi. Uzmanlık Tezi, İzmir.
- Ueki, M., Ueno, M., Morishita, J. ve Maekawa, N., (2013). Curcumin Ameliorates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Inhibiting Renal Inflammation in Mice, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115(5), 547-551.
- Uğur, S. (2013). *Sisplatin Nefrotoksitesi Oluşturulan Ratlarda Situin Ekspresyonu Üzerine Kurkumin Etkilerinin Araştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi.

- Ünalın, Ö. (2021). Türk Kùltüründe Kuşburnu, Araştırma Makalesi *ODÜ Sosyal Bilimler Araştırmaları Dergisi*, 11(3), 745-762s.
- Weichselbaum, T. E. (1949). An Accurate and Rapid Method for The Determination of Protein in Small Amounts of Blood Serum and Plasma, *Journal Of Clinical Pharmacy And Therapeutics*, 10, 40-49.
- Yalıçinkaya, İ. S. (2022). *Deneyisel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Rosa Canina L. Bitki Kök Ekstresinin Biyolojik Aktivitesi ile İnterlökin-1 Beta ve Tümör Nekroz Faktörü Alfa (Tnf-A) Gen İfadesine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi.
- Yao, X., Panichpisal, K., Kurtzman, N. ve Nugent, K. (2007). Cisplatin Nephrotoxicity: a Review. *Am Journal of Medi Sci*, 334: 115-124s.
- Yokuş, B. ve Çakır, D. Ü. (2012). Kanser Biyokimyası, *Dicle Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi*, ISSN 1308-0679, Diyarbakır, 1(2): 7-18s.
- Yörük, M. A. (2022). *Ratlarda Escinin Sisplatin İle Oluşturulmuş Nefrotoksisite Üzerine Koruyucu Etkisini Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi.
- Zeng, W., Zhang, Y., Zheng, W., Luo, Q., Han, J., Liu, J., Zhao, Y., Jia, F., Wu, K. ve Wang, F. (2019). Discovery of Cisplatin Binding to Thymine and Cytosine on a Single-Stranded Oligodeoxynucleotide by High Resolution FT-ICR Mass Spectrometry, *Molecules*, 24 (10):1852s.
- Zhou, J., Nie, R.C., Yi,n Y.X., Cai, X.X., Xie D., Cai, M.Y.(2002). Protective Effect of Natural Antioxidants on Reducing Cisplatin-Induced Nephrotoxicity. *Dis Markers*. Nov 14;2022:1612348. doi: 10.1155/2022/1612348.

EKLER

Ek.1 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

	
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	
Sayın SEMA DUYGU ÇİFTÇİ T.C. Kimlik No:24433814560	
22.11.2021 - 01.12.2021 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi HADYEK tarafından Malatya İlinde düzenlenen “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.	
Doç. Dr. SUAT TEKİN HADYEK BAŞKANI	Prof. Dr. Ahmet KIZILAY Rektör
	

ETİK KURUL KARARI



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
DENEY HAYVANLARI YEREL ETİK KURULU

Sayı: 53488718- 636
Konu: Etik Kurul Onayı

21.09.2022

Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ
Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi

"Ratlarda Cisplatin Kaynaklı Hepatotoksisite Nefrotoksisite ve Pankreatit Gelişimi Üzerine Kuşburnu (Rosa canina L.) Ekstraktının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi" başlık ve 2022/35 protokol numaralı çalışma önerisi Kurulumuzca incelenmiş olup; yürürlükteki etik ilke ve kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bu onaya dair; Kurul üyelerinin ıslak imza, proje ekibi, başlangıç tarihi, deney hayvanı sayısı ve cinsiyet bilgilerini içeren ayrıntı ekteki sayfada yer almaktadır.

Bilgilerinize ve gereğini rica ederim.

Notlar:

-Onay sonrası projede yapılacak her türlü değişiklik için başvuru esnasında imzaladığınız "Taahhütname belgesinde" yer alan hususlar yerine getirilecektir.

- Bu onay, yapmayı önerdiğiniz araştırmanın "**bilimsel araştırmada deney hayvanlarının kullanılması**"na dair genel bilim etiği açısından değerlendirilmesini kapsamaktadır; bu Kurul'un değerlendirme yetkisi dışında kalabilecek özel etik ve yasal kısıtları yerine getirmekle ayrıca yükümlü olabilirsiniz.

- Onaylanan proje devam ederken her takvim yılı sonunda "yıllık bildirim formu"nu ve genel proje süresinin bitiminden itibaren en geç 3 ay içinde "**sonuç raporu**" (ayrıntılı bilgi etik kurul web sayfasında yer almaktadır) verilmesi gerekmektedir.

Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı

Ek: 1 adet onay belgesi

61080 – Trabzon / TÜRKİYE

Tel: +90 (462) 377 5403

Faks: +90(462)325 2270

Elektronik Ağ: www.ktu.edu.tr

Ayrıntılı Bilgi İçin İrtibat
Şerafettin YILMAZ
e posta:
serafettinyilmaz@ktu.edu.tr

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 61080 /Trabzon
	TELEFON	0462- 3775667
	FAKS, E- posta	0462- 3252270 – etikhd@ktu.edu.tr

BASVURU BİLGİLERİ	ETİK KURUL DOSYA NO:	2022 / 35
	ÇALIŞMANIN ADI	"Ratlarda Cisplatin Kaynaklı Hepatotoksisite Nefrotoksisite ve Pankreatit Gelişimi Üzerine Kuşburnu (Rosa canina L.) Ekstraktının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI	ÜNVANI/ADI/SOYADI Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ
	UZMANLIK ALANI	Mühendislik ve Doğa Bilimleri / Genetik ve Biyomühendislik
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Engin YENİLMEZ, Dr.Öğr.Üyesi Arif Burak ÇEKİÇ, Dr.Öğr.Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN, Dr.Elif ŞAHİN, Yük.Lis.Öğr. Biyomühendis Sema Duygu ÇİFTÇİ, Yük.Lis.Öğr. Biyomühendis İnci AYDOĞDU
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	TEZ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☒

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2	Tarih: 20/09/2022
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, 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	Sıçan 35 adet
	BAŞLANGIÇ Tarihi ve ETİK KURUL İZİN SÜRESİ:	

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma İle İlişki (*)	Katılım (**) H	İmza
Prof. Dr. Ahmet AYAR Başkan	Fizyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Doç.Dr.Zerrin PULATHAN Başkan V.	Kalp ve Damar Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Prof. Dr. Engin YENİLMEZ Üye	Histoloji ve Embriyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☒ Var Yok ☐ E	☒ H	
Prof.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU Üye	Temel Eczacılık Bilimleri Biyokimya	KTÜ Eczacılık Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Prof. Dr. Mine KADIOĞLU Üye	Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Prof.Dr.Sabriye ÇANAKÇI Üye	Moleküler Biyoloji	KTÜ Fen Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Dr.Öğr.Üyesi Onur YILMAZ Üye	Ağız Diş ve Çene Cerrahisi	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Dr.Öğr.Üyesi Şükrü KELEŞ Üye	Tıp Tarihi ve Etik	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Doç.Dr. İsmail SAYGIN Üye	Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Doç.Dr. Hatice Sonay YALÇIN CÖMERT Üye	Çocuk Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Sait AL Üye	Veteriner Hekim	KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Doç.Dr.Hasan Rıza AYDIN Üye	Üroloji	Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Ecz.Hazım ÖZTUNA Üye	Eczacı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	E	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	
Günay CİN Üye		Sivil Üye	K	☐ Var Yok ☒ E	☒ H	

Araştırma İle İlişki (*) Toplantıya Katılım (**) H

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- 3775667
	FAKS, E- posta	0462- 3252270 – etikhd@ktu.edu.tr

BASVURU BİLGİLERİ	ETİK KURUL DOSYA NO:	2022 / 35
	ÇALIŞMANIN ADI	"Ratlarda Cisplatin Kaynaklı Hepatotoksisite Nefrotoksisite ve Pankreatit Gelişimi Üzerine Kuşburnu (Rosa canina L.) Ekstraktının Koruyucu Etkisinin İncelenmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI	ÜNVANI/ADI/SOYADI Dr. Öğr. Üyesi Kağan KILINÇ
	UZMANLIK ALANI	Mühendislik ve Doğa Bilimleri / Genetik ve Biyomühendislik
	TEZ SAHİBİ/DİĞER ARAŞTIRICILAR, ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Engin YENİLMEZ, Dr.Öğr.Üyesi Arif Burak ÇEKİÇ, Dr.Öğr.Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN, Dr.Elif ŞAHİN, Yük.Lis.Öğr. Biyomühendis Sema Duygu ÇİFTÇİ, Yük.Lis.Öğr. Biyomühendis İnci AYDOĞDU
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	TEZ ☐ AKADEMİK AMAÇLI ☒

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2	Tarih: 20/09/2022
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, 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	Sıçan 35 adet
	BAŞLANGIÇ Tarihi ve ETİK KURUL İZİN SÜRESİ:	

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma İle İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ahmet AYAR Başkan	Fizyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☐	☒ E H ☒	
Doç.Dr.Zerrin PULATHAN Başkan V.	Kalp ve Damar Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Prof. Dr. Engin YENİLMEZ Üye	Histoloji ve Embriyoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☒ Var Yok ☐	☐ E H ☒	
Prof.Dr.Rezzan ALİYAZICIOĞLU Üye	Temel Eczacılık Bilimleri Biyokimya	KTÜ Eczacılık Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Prof. Dr. Mine KADIOĞLU DUMAN Üye	Farmakoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Prof.Dr.Sabriye ÇANAKÇI Üye	Moleküler Biyoloji	KTÜ Fen Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Onur YILMAZ Üye	Ağız Diş ve Çene Cerrahisi	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Şükrü KELEŞ Üye	Tıp Tarihi ve Etik	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Doç.Dr. İsmail SAYGIN Üye	Tıbbi Patoloji	KTÜ Tıp Fakültesi	E	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Doç.Dr. Hatice Sonay YALÇIN CÖMERT Üye	Çocuk Cerrahisi	KTÜ Tıp Fakültesi	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Sait AL Üye	Veteriner Hekim	KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi	E	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	
Doç.Dr.Hasan Rıza AYDIN Üye	Üroloji	Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi	E	☐ Var Yok ☒	☐ E H ☒	
Ecz.Hazım ÖZTUNA Üye	Eczacı	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	E	☐ Var Yok ☒	☐ E H ☒	
Günay CİN Üye		Sivil Üye	K	☐ Var Yok ☒	☒ E H ☐	

Araştırma İle İlişki (*) Toplantıya Katılım (**)

ÖZGEÇMİŞ

2010-2014 yılları arasında Hatay Dört Yol Anadolu Sağlık Merkezi Hemşirelik bölümünü bitirdikten sonra 2014-2015 yılları arasında Gaziantep Aile Sağlığı Merkezi'nde enjeksiyon pansuman hemşiresi olarak çalıştı. 2015-2019 yılları arasında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik bölümü 'Post Prandial Lİpemde Genetik Faktörlerin Polifenoliklerin Lipidler Üzerine Etkileri' başlıklı tez ile lisans eğitimi almıştır. 2019 yılında Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladı. B1-B2 seviyesinde İngilizce bilmektedir.

Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans programına başladı. B1-B2 seviyesinde bilmektedir.