



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENEN
NEFROTOKSİSİTEDE OKSİDATİF STRES VE BÖBREK
HASARINA KARŞI QUERCETİN VE HESPERİDİN'İN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Şemsi Gül YILMAZ

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aslı UÇAR**

**ANKARA
2023**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD İLE İNDÜKLENEN
NEFROTOKSİSİTEDE OKSİDATİF STRES VE BÖBREK
HASARINA KARŞI QUERCETİN VE HESPERİDİN'İN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Şemsi Gül YILMAZ

**BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Aslı UÇAR

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. Serkan YILMAZ

ANKARA

2023

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Ratlarda Siklofosfamid ile İndüklenen Nefrotoksisitede Oksidatif Stres ve Böbrek Hasarına Karşı Quercetin ve Hesperidin'in Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımda yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanlarım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Şemsi Gül YILMAZ

Tarih: 26.05.2023

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik Anabilim
Dalında

Şemsi Gül YILMAZ tarafından hazırlanan
“Ratlarda Siklofosfamid ile İndüklenen Nefrotoksisitede Oksidatif Stres ve Böbrek
Hasarına Karşı Quercetin ve Hesperidin’in Etkilerinin İncelenmesi” adlı tez
çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/ OY
ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza
Prof. Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Prof. Dr. Funda Pınar ÇAKIROĞLU
Ankara Üniversitesi
Üye

İmza
Prof. Dr. Aslı UÇAR
Ankara Üniversitesi
Üye

İmza
Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN
Gazi Üniversitesi
Üye

İmza
Doç. Dr. Esmâ ASİL
Ankara Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza
Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	4
1.1.1. Kemoterapi	6
1.1.1.1. Siklofosfamid (CP)	8
1.1.1.1.1. Etki Mekanizması ve Farmakokinetik	8
1.1.1.1.2. Kullanım Alanları ve Yan Etkileri	10
1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar	12
1.2.1. Flavonoidler	19
1.2.1.1. Quercetin	21
1.2.1.2. Hesperidin	26
1.3. Böbrek ve Nefrotoksisite	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	37
2.1. Gereç	37
2.1.1. Deney Hayvanları	37
2.1.2. Test Hammaddeleri ve Kimyasallar	39
2.2. Yöntem	40
2.2.1. Deney Protokolü	40
2.2.2. Verilerin Analizi	42
2.2.2.1. Ratların Vücut Ağırlığı ve Açlık Kan Glukozu Tayini	42
2.2.2.2. Biyokimyasal Analiz	43
2.2.2.3. Böbrek Dokusu Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve MDA Miktarının Belirlenmesi	45
2.2.2.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	45
2.2.2.3.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	46
2.2.2.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	46
2.2.2.3.4. Glutatyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	46
2.2.2.3.5. Malon Di Aldehit (MDA) Miktarının Belirlenmesi	47
2.2.2.4. Histolojik İncelemeler	47
2.2.2.5. İstatistiksel Analiz	48
3. BULGULAR	49
3.1. Ratların Vücut Ağırlığı, Açlık Kan Glukozu ve Besin Tüketim Durumları	49
3.2. Ratların Serum Biyokimyasal Parametrelerine İlişkin Bulgular	53

3.3. Ratların Böbrek Dokusundaki Antioksidan Enzim Aktivitesi ve MDA Miktarı Sonuçlarına İlişkin Bulgular	58
3.4. Ratların Böbrek Dokusuna Ait Histopatolojik Analizlere İlişkin Bulgular	62
4. TARTIŞMA	68
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	80
ÖZET	83
SUMMARY	84
KAYNAKLAR	85
EKLER	102
Ek 1. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Raporu	102
ÖZGEÇMİŞ	104



ÖNSÖZ

Akademik gelişim süreci ve tezimin hazırlanması sırasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, eğitimin temel unsurlarından birinin şefkat ve sevgi olduğunu, akademisyenliğin yalnızca bir meslek değil bir yaşam biçimi olduğunu öğreten çok değerli hocalarım Prof. Dr. Aslı UÇAR ve Prof. Dr. Serkan YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ve Öğr. Gör. Dr. Çağlar ADIGÜZEL başta olmak üzere Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Mikroteknik Laboratuvarı'nda yardım ve desteklerini esirgemeyen herkese ve deney hayvanlarının beslenme, bakım ve ameliyat hizmetlerinin yapılmasında yardımcı olan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına ve analizlerimin yapılmasında yardımları için Baran Medikal'e teşekkürlerimi sunarım.

Akademik kariyer hayatıma başladığım ilk günden itibaren hayatıma dokunan Prof. Dr. Funda Pınar ÇAKIROĞLU başta olmak üzere Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi hocalarıma emekleri için teşekkür ederim. Lisans eğitimimi aldığım, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü'nün çok kıymetli hocalarına mesleki katkıları, daimî destekleri ve sevgileri için minnettarım.

Desteklerini ve dualarını hep yanımda hissettiğim canım annem Keziban YILMAZ, rahmetli babam Metin YILMAZ, ablalarım Fundagül BAYRAM ile Gülseren BÜYÜKCİRİT ve kıymetli yeğenlerime teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
AKG	Açlık Kan Glukozu
AÜDEHAL	Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı
β	Beta
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
CDNB	1-chloro-2,4dinitrobenzen
CP	Siklofosfamid
C ₂ H ₅ OH	Etil Alkol
dL	Desilitre
ga	Gauge
g	Gram
GIS	Gastrointestinal Sistem
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
H	Hidrojen
HCl	Hidroklorür
HSP	Hesperidin
IL	İnterlökin
i.p.	İntraperitoneal
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry)
IV	İntravenöz
K	Kontrol
kkal	Kilokalori
L	Litre
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein

MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
mL	Mililitre
mmol	Milimol
Mn	Manganez
μmol	Mikromol
N	Azot
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NH_3	Amonyak
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
OECD	Ekonomik İş Birliği ve Kalkınma Örgütü (Organisation for Economic Co-operation and Development)
OH	Hidroksil
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
pH	Potasiyel Hidrojen
pKa	Asidik İyonlaşma Sabiti
QUE	Quercetin
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SD	Standart Sapma
Se	Selenyum
SH	Sülfür
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAS	Total Antioksidan Seviyesi
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TG	Trigliserid
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktör- α
U	Ünite
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	CP'nin hepatik metabolizması	9
Şekil 1.2.	CP'nin neden olduğu nefro/ürotoksisitenin patofizyolojik mekanizmaları ile bazı doğal bileşiklerin olası üroprotektif mekanizmaları	11
Şekil 1.3.	Serbest radikal ve antioksidan dengesinin bozulması ve sonuçları	12
Şekil 1.4.	Organizmada bulunan antioksidan sistem elemanları	16
Şekil 1.5.	QUE ve HSP'nin oksidatif stres üzerine antioksidan etkinliği	18
Şekil 1.6.	Flavonoidlerin sınıflandırması ve besin kaynakları	19
Şekil 1.7.	QUE'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 1.8.	HSP'nin kimyasal yapısı	26
Şekil 1.9.	Böbreğin yapısı ve histolojisi	32
Şekil 2.1.	Ratların kafes yerleşimi ve deney gruplarının oluşturulması	38
Şekil 2.2.	Deneyde kullanılan test hammaddeleri	39
Şekil 2.3.	Deney planı şeması	42
Şekil 2.4.	İntrakardiyak kan alımı	44
Şekil 2.5.	Santrifüj yapılan kan örneği	44
Şekil 2.6.	Biyokimyasal parametrelerin otoanalizatör ile analiz edilmesi	44
Şekil 2.7.	Spektrofotometrede analizlerin yapılması	45
Şekil 2.8.	Böbrek dokusundan mikroskop incelemeleri için alınan kesitler	48
Şekil 3.1.	Ratların deney süresi boyunca ortalama vücut ağırlığı ölçümleri	52
Şekil 3.2.	Ratların deney süresi boyunca ortalama açlık kan glukoz ölçümleri	52
Şekil 3.3.	Ratların serum üre düzeyi	55
Şekil 3.4.	Ratların serum ürik asit düzeyi	55
Şekil 3.5.	Ratların serum kreatinin düzeyi	56
Şekil 3.6.	Ratların serum BUN düzeyi	56
Şekil 3.7.	Ratların serum albümin düzeyi	57
Şekil 3.8.	Ratların serum total protein düzeyi	57
Şekil 3.9.	Ratların böbrek dokusundaki SOD enzim miktarı	59

Şekil 3.10.	Ratların böbrek dokusundaki CAT enzim miktarı	60
Şekil 3.11.	Ratların böbrek dokusundaki GPx enzim miktarı	60
Şekil 3.12.	Ratların böbrek dokusundaki GST enzim miktarı	61
Şekil 3.13.	Ratların böbrek dokusundaki MDA miktarı	61
Şekil 3.14.	Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	62
Şekil 3.15.	Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	62
Şekil 3.16.	QUE grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	62
Şekil 3.17.	QUE grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	62
Şekil 3.18.	HSP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	63
Şekil 3.19.	HSP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	63
Şekil 3.20.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	63
Şekil 3.21.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	63
Şekil 3.22.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III	64
Şekil 3.23.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV	64
Şekil 3.24.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-V	64
Şekil 3.25.	CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-VI	64
Şekil 3.26.	QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	65
Şekil 3.27.	QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	65
Şekil 3.28.	QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III	65
Şekil 3.29.	QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV	65
Şekil 3.30.	HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I	66
Şekil 3.31.	HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II	66
Şekil 3.32.	HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III	66
Şekil 3.33.	HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV	66

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	CP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri	8
Çizelge 2.1.	Ratlara verilen standart pelet yeminin besin ögesi içerikleri	38
Çizelge 2.2.	Deney protokolü ve grupların oluşturulması	40
Çizelge 3.1.	Ratların deneyin 0., 8. ve 15. günündeki vücut ağırlıkları ve açlık kan glukozu değerleri	50
Çizelge 3.2.	Ratların deney süresince günlük besin tüketimi ve enerji alımı miktarları	53
Çizelge 3.3.	Ratların biyokimyasal parametre sonuçları	54
Çizelge 3.4.	Ratların böbrek dokusundaki antioksidan enzim ve MDA miktarları	58
Çizelge 3.5.	Ratların böbrek dokusundaki histopatolojik değişikliklerin derecelendirilmesi	67

1. GİRİŞ

Neoplastik hastalıklar hem iyi huylu hem de kötü huylu tümör büyümesine neden olan durumlardır. Kemoterapi, neoplastik hastalığın sürecini yavaşlatmak, geriletmek ya da durdurmak amacıyla antineoplastik ajanlar kullanılarak yapılan bir tedavi türüdür. Gerek insanlar üzerinde yapılan incelemelerde gerekse hayvan deneylerinde kanser tedavisinde kullanılan antineoplastik ajanların birçoğunun sekonder olarak kansere neden olduğu kanıtlanmıştır (Cengiz, 2018; Ehrenfried ve ark.,1997). Antineoplastik ajanların en fazla karsinojenik etkiye sahip olanları alkilleyici (siklofosfamid, karmustin, klorambusil, prokarbazin vb.) tipte olanlarıdır (Cengiz ve ark., 2018).

Siklofosfamid (CP), kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir ajandır. CP; meme kanseri, akut ve kronik lösemi, lenfoma, multiplemyeloma, romatoid artrit tedavisinde ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılmaktadır (Kumar ve Kuttan, 2005; Senthilkumar ve ark.,2006). CP'nin başlıca yan etkileri hematopoetik depresyon, hemorajik sistit ve renal disfonksiyonlardır. Bunlara ek olarak CP, ürotoksisite, hematoksisite, teratojenite, mutajenite, karsinojenite ve kemik iliğinin baskılanması gibi önemli toksik etkilere sahiptir (Kumar ve Kuttan, 2005).

Siklofosfamid'in iki aktif metaboliti olup, bunlar fosforamid mustard ve akroleindir. CP'nin antineoplastik etkileri fosforamid mustard ile, toksik etkisi ise akrolein ile ilişkilidir. Fosforamid mustardın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Akrolein ise doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest oksijen radikali oluşumuna yol açmakta ve memeli hücreleri için mutajenik etki göstermektedir (Kawabata ve ark.,1990). Akrolein kaynaklı oluşan serbest radikaller; enzim, reseptör, iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek, bunların fonksiyonlarını bozabilmektedir (Senthilkumar ve ark.,2006).

Neoplastik hastalıklarda, CP kemoterapisi boyunca, akroleinin toksik yan etkilerinden kaçınmak için bazı antioksidan ajanlar kullanılarak bu toksik etkilerin giderilmesi gerekmektedir (Senthilkumar ve ark.,2006). CP'nin toksik etkilerini baskılayarak daha yüksek dozlarda ve daha etkin kullanılmasına olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiş ise de ilaç sektörü halen daha duyarlı olabilecek metotların arayışı içindedir (Ayhanci ve ark., 2008). Yapılan çalışmalar antioksidanların hücre koruyucu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (Patra ve ark., 2012; Tripathi ve Jena, 2009; Wei ve ark., 2012). Kemopreventif maddeler arasında, güçlü antioksidan özelliği nedeniyle en çok çalışılanlar flavonoidlerdir. Flavonoidler sınıfında yer alan Quercetin (QUE) ve Hesperidin (HSP)'nin CP'nin toksik etkilerinin önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Cengiz ve ark., 2018).

Parlak sarı renkte, acı tatta, kristalize katı bir madde olan QUE; en yaygın bulunan flavonoid bileşiklerindendir (Kalender ve ark., 2012). Sık tüketilen yiyeceklerin çoğunda; elma, soğan, çay, kiraz, çilek gibi yumuşak kabuklu meyveler, lahana, brokoli gibi yeşil yapraklı sebzelerde, çoğu tohumda, yemişlerde, çiçekler, kabuklar ve yapraklarda hatta medikal bitkiler; *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *Sambucus canadensis*'de doğal olarak bulunan polifenolik bir flavonoiddir (Harnly ve ark., 2006; Williamson ve Manach, 2005).

Quercetin; antioksidan, antihipertansif, antiallerjen, antiinflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antitrombotik, antiaritmik, antitümoral ve antihumoral aktiviteler ile klinik anlamda geniş bir etki spektrumu göstermektedir (Coskun ve ark., 2005; Formica ve Regelson, 1995). QUE'nin birçok farmakolojik ve biyolojik etkinliklerinin yanı sıra kolon kanseri, meme kanseri, akciğer kanseri, prostat, lösemi ve hepatoma gibi birçok kanser türünde antikanserojen etkilere sahip olduğu ifade edilmektedir (Izzo ve ark., 2020; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2012; Liu ve ark., 2014).

Sarı renkli, acı bir tada sahip olan HSP ise; farmakolojik olarak biyoaktif bir flavonon glikozittir (Devi ve ark., 2015). Kimyasal olarak, aglikon (şeker içermeyen formlar), hesperetin ve şeker rutinosidinden oluşmaktadır (Kuntic ve ark., 2014).

Limon, portakal, mandalina gibi turunçgillerde ve bu turunçgillerden elde edilmiş meyve sularında bulunmaktadır. Bu meyvelerin kabuk ve zar kısımlarında HSP konsantrasyonunun daha yoğun olduğu belirtilmektedir (Mauludin ve Müller, 2013). Mandalina kabuğunun kuru kütlesinin %5-10' unun HSP içerdiği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2013).

Hesperidin'in çok sayıda memeli hücre sisteminde çeşitli biyolojik etkileri vardır. *In-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda antimikrobiyal, antiviral, antihipertansif, hipolipidemik, antidiabetik, analjezik, antiülserojen, antialerjik, vazodilatör, antineoplastik, anti-inflamatuvar, antioksidan, antihepatotoksik özelliklerine ek olarak kemik dansite kaybının azaltıcı etkileri de gösterilmiştir (Ferraz ve ark., 2020; Guardia ve ark., 2001; Ozarowski ve Karpinski, 2021). Sıçanlarla yapılan çalışmada portakal ve mandalina suyundan elde edilmiş HSP'nin kolon ve akciğer kanser hücrelerinin önemli bir bölümünün öldürülmesinin yanı sıra ateroskleroz, kolesterol ve trigliserid (TG) seviyesini de azalttığı gösterilmiştir (Etcheverry ve ark., 2008). Literatürde HSP'nin oksidatif/nitratif stres, inflamasyon ve apoptozu inhibe ettiği çalışmalar ön plana çıkmaktadır (Bhargava ve ark., 2019; Kim ve ark., 2015; Li ve Schluesener, 2017).

Fakat literatürde CP ile indüklenen deney hayvanlarındaki nefrotoksisiteye karşı QUE ve HSP'nin koruyucu etkilerinin ele alındığı çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Fouad ve ark., 2021; Kocahan ve ark., 2017; Ozcan ve ark., 2005; Sekeroğlu ve ark., 2011; Sherif, 2018).

Bu çalışmada “ratlarda CP kaynaklı nefrotoksisite üzerine kısa süreli QUE ve HSP takviyesinin böbrek dokusunda histopatolojik ve oksidatif stres açısından olumlu etkileri bulunmaktadır” hipotezi doğrultusunda; CP kaynaklı nefrotoksisitede oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı QUE ve HSP'nin olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.1.Kanser

Kanser; anormalleşen hücrelerin kontrolsüz bölünmesi ve çoğalması sonucunda meydana gelen malign hücreler olarak tanımlanmaktadır (Sağlık Bakanlığı, 2013). Kontrol dışı hücre büyümesi ve bölünmesine kanser hücrelerinde meydana gelen genetik ve epigenetik değişiklikler neden olmaktadır (Koutsogiannouli ve ark., 2013). Kanser köken aldığı hücre ve geliştiği organ çeşidi baz alınarak 100'den fazla türünün olduğu belirlenmiştir. Fakat henüz tanımlanmamış çok daha fazla kanser çeşidinin olduğu düşünülmektedir (Sawyers ve ark., 2013). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2010 yılındaki Global Durum Raporu'na göre ölümlerin %63'ünü bulaşıcı olmayan hastalıklar, bu oranın %21'inin ise kanser nedeniyle gerçekleşen ölümler oluşturmaktadır (DSÖ, 2011). Dünyada kansere bağlı ölümler ikinci sırada yer alırken (DSÖ, 2019), Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2020 verilerine göre; ülkemizde kanser nedeni ölümler dolaşım sistemi ve solunum sistemi hastalıklarından sonra üçüncü sırada yer almaktadır (TÜİK, 2023). Kanser türleri cinsiyetlere göre farklı olup, erkeklerde akciğer, prostat, kolorektal, mide ve karaciğer kanseri, kadınlarda meme, kolorektal, akciğer, serviks ve tiroid kanseri en sık görülen kanser türleridir (DSÖ, 2018a).

Kanserin nedenleri ve risk faktörlerini bilmek, kanserin toplumdaki farkındalığını artırarak sağlıklı ve kaliteli yaşam bilinci geliştirmek ve davranış değişikliği oluşturmak oldukça önemlidir (Ağırman ve ark., 2019). Kanser gelişimindeki risk faktörleri; genetik, yaş, beslenme alışkanlıkları, çevresel etmenler (tütün ve alkol kullanımı), coğrafi konum, kimyasal kanserojenlere maruziyet (nitrozaminler, krom, arsenik), radyasyon, travma, inflamasyon, virüsler ve sedanter yaşam tarzıdır (Ağırman ve ark., 2019; Kaptan ve Dedeli, 2012). Tütün ürünlerinin tüketiminden kaçınılması, alkol tüketimini azaltılması, ideal vücut ağırlığının korunması, düzenli egzersiz yapılarak sedanter yaşam tarzının değiştirilmesi ve enfeksiyon risk faktörlerinden korunulması ile kansere bağlı ölümlerin %30-50 oranında önlenildiği belirtilmektedir (DSÖ, 2018b).

Kanser hücrelerinin iki genetik özelliği bulunmaktadır. Bunlardan birincisi hücrenin büyüme ve bölünmesi sürecindeki normal baskılanmaya karşı koyup çoğalması durumu iken, ikincisi ise kendilerine ait olmayan alanları işgal ederek bu alanlarda kolonileşmeleri yani metastaz yapmalarıdır (Alberts ve ark., 2008; Skoulidis ve Heymach, 2019). Hücrelerdeki kanser oluşumu diğer bir deyişle karsinogenez ise, üç evrede gerçekleşmektedir. Bu evreler sırasıyla başlangıç (inisiyasyon), artma (promosyon) ve ilerleme (progresyon)'dır. İlk evre olan inisiyasyon oldukça uzun bir süreçtir ve gen ifadesini düzenleyen epigenom, DNA ve kromozom hasarı ile meydana gelmektedir. İnisiyasyon evresinde, inflamasyonun eşlik ettiği genomik olarak kararsız bir hücre büyümesi gerçekleşmektedir. Progresyon evresi hücre sayısının arttığı ve genomların daha fazla hasara uğrayarak malign urların olduğu evredir (Özer ve ark., 2019; Poirier, 1987). Çok aşamalı karsinogenezin başlaması ve ilerlemesinde reaktif oksijen türleri (ROS)'nin etkili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Asgharian ve ark., 2022; Cerutti, 1985). ROS tanım olarak, dış yörüngelerinde ortaklaşmamış elektron bulunduran radikal moleküllerdir. Yüksek bir enerjiye sahip olmaları nedeniyle ortaklaşmamış olan bu elektronlar, ROS'ları daha reaktif bir hale getirmektedir (Lim ve Park, 2022). ROS'un organizmada neden olduğu oksidasyonları engelleyen, serbest radikalleri tutma ve stabilize etme özelliği olan maddeler antioksidan olarak adlandırılmaktadır (Bensid ve ark., 2022). Yüksek düzeydeki ROS; lipitlere, proteinlere ve DNA'ya zarar vererek lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı ile hücreleri hasara uğratmaktadır. DNA'nın hasara uğraması sonucunda, kanser oluşumuna neden olacak mutasyonlar meydana gelmektedir (Schumacker, 2015).

Genel olarak kanser tedavisinde izlenilecek protokol, bireyin yaşına, tümörün tipine ve yerleşimine, kanserin evresine, hastanın genel durumuna göre belirlenmekte olup, tedavinin süresi ve diğer tedavilerle kombinasyonunun her evre için farklı olduğu belirtilmektedir. Metastaz ve büyüme dahil, vücuttan bütün kanser hücrelerinin temizlenmesini ve hastada hayat boyu tümörün tekrarlanmamasını amaçlayan tedavi biçimi 'küratif tedavi' olarak tanımlanırken, hastada tam iyileşmenin sağlanamadığı ve vücuttaki son kanser hücresinin yok edilmesinin tedavideki asıl amaç olmadığı, bunun yerine hastanın yaşam kalitesi ve süresini artırmayı hedefleyen tedavi şekli ise

“palyatif tedavi” olarak tanımlanmaktadır (Hazafa ve ark., 2020; Bayık, 1989). Kanseri tedavisindeki uygulamalar sistemik ve lokal tedaviler olarak sınıflandırılmaktadır. Sistemik tedaviler; kemoterapi, hormonoterapi ve biyolojik tedaviler iken, lokal tedaviler ise; radyoterapi ve cerrahi tedavilerdir. Bu tedaviler tek başına ya da kombine bir şekilde uygulanabilmektedir. Bunlar arasında en sık kullanılan tedavi türü kemoterapidir (Haileselassie ve ark., 2019).

1.1.1. Kemoterapi

Kemoterapi, kanser tedavisinde en çok kullanılan yöntem olup, özellikle tanısı kesinleşmiş ve evresi belirlenmiş kanser hastalarında tercih edilmektedir. Kemoterapötik ilaçların kullanımı 1940’lı yıllarda başlamıştır. Günümüzde kanser tedavisinde, kombine şekilde 100’den fazla kemoterapi ilacı kullanıldığı belirtilmektedir (American Cancer Society, 2018; Fernando ve Jones, 2015).

Tanım olarak hücre ölümü demek olan apoptozis, organlardaki hücre sayısını kontrol altında tutmaya yarayan bir sistemdir. Organizmada yeni bir hücre ihtiyacı olduğunda sinyaller gönderilmekte ve eski hücrelerin parçalanması ve yeni hücrenin oluşturulması sağlanmaktadır. Fakat vücutta tümör varlığında hücre ölümüne karşı direnç gelişmekte, üretilen tümör hücresinin sayısı, ölen hücre sayısından daha fazla olmakta ve bu da tümörün hızla büyümesini tetiklemektedir. Kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlar ya DNA’ya müdahale ederek ya da hücre bölünmesi için gerekli olan kilit proteinlere etki ederek bu tümör hücrelerinin büyümesini durdurmak, davranışlarını değiştirmek veya kanser hücrelerini tamamen yok etmek için gerekli sitotoksik etkiyi oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (Deniz, 2018; Schirmacher, 2019).

Kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlara antineoplastik ilaçlar veya sitotoksik ajanlar adı verilmektedir. Antineoplastik ilaçlar organizmadaki işlevlerinde nonselektif yani seçici olmayan özellikler taşımaktadır. Bu durum kanser hücrelerinin

yanı sıra tümör bulunmayan ağız mukozası, kemik iliği, saç folikülleri, fetüs ve bağırsak embriyo hücreleri ve testis epitelyumu gibi hızlı büyüyen ve bölünen hücrelere sahip sağlıklı dokulara ve sistemlere de zarar verebilmektedir. Yani kemoterapi kanser tedavisinde fayda sağlamakla birlikte vücutta ağrı, mide bulantısı, kusma, diyare, konstipasyon, halsizlik, saç dökülmesi, anemi, psikolojik değişiklikler, kaşıntı ve stomatit gibi yan etkilere yol açmaktadır (Deniz, 2018; Gebremedhin ve ark., 2021).

Klinikte kullanılan kemoterapik ilaçlar:

- Alkilleyici bileşikler
- Mitoz inhibitörleri
- Antimetabolitler
- Sitostatik antibiyotikler
- Hormon ve hormon antagonistleri
- Radyoaktif izotoplar ve
- Diğer sitostatikler'dir (Schirmacher, 2019).

Bu gruplar arasında klinikte en önemlisi ve en fazla tercih edileni alkilleyici bileşiklerdir. Bu grup ilaçlar, pek çok organik bileşiklerle reaksiyona giren alkil grupları içermektedir. Yapılarındaki alkil grubu sayesinde DNA ile kovalent bağ oluşturup nükleik asit re-duplikasyonunu engellemekte, böylece DNA'da hasar meydana getirerek hücre ölümünü indüklemektedir (Fu ve ark., 2012). Alkillenen DNA molekülünün onarılması için çalışan enzimler, DNA 'da kırıklar meydana gelmesine neden olmakta ve bunları onaramamaktadır. Sonuçta, DNA'nın replikasyonu ve RNA transkripsiyonu engellenmiş olmaktadır (Corrie, 2008). Kemoterapi tedavisinde alkilleyici tip ilaçların doz kısıtlanmasına neden olan ana faktör bağışıklık baskılayıcı etkilerinin olmasıdır. Alkilleyici bileşikler; hücreler hangi dönemde olursa olsun etki edebilen siklusa özgü olmayan ilaçlardır. Alkilleyici bileşiklerden bazılarını CP, ifosfamid, klorambusil, altretamin, karmustin, dakarbazin, sisplatin örnek olarak verilebilir. Bu bileşiklerden en yaygın kullanılanı ise CP'dir (Luo ve ark., 2017).

1.1.1.1. Siklofosfamid (CP)

Siklofosfamid klinikte en sık kullanılan ve döneme özgü olmayan (hücre siklusunun evrelerinden bağımsız) alkileyici tipte antineoplastik ilaçların etken maddelerinden biridir. İlk defa 1958 yılında Nobert Brock tarafından bulunmuş ve 1959 yılında kanser tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Oda sıcaklığında beyaz renkli, kristalize toz halinde bulunan CP'nin, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) sistemine göre açık formülü (RS)-2-[Bis(2-kloretil)amino]-2H-1,3,2-oksazafosfinan-2-oksit'dir (Patwa ve ark., 2020). CP lenfoma ve nöroblastoma gibi kanserlerin tedavisinde kullanılmasının yanı sıra romatoid artrit, multiple skleroz, sistemik lupus eritematozus, organ transplantasyonu hastalıklarının tedavisinde immunsupresif olarak da kullanılmaktadır (Omole ve ark., 2018). Çizelge 1.1'de CP'nin başlıca fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 1.1. CP'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Wang ve ark., 2009a)

Molekül formülü	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P
Molekül ağırlığı	261,09
Fiziksel özellikler	Kokusuz, ince, beyaz kristal toz
Erime noktası	49,5 – 53 °C
Kaynama noktası	336 °C
Yoğunluk	1,479 g/cm ³
Çözünürlük	Kloroform, dioksan ve glikoller içinde çözülür, benzen, karbon tetraklorürde hafifçe çözünür, eter ve asetonda çok az çözünür
Bölüm katsayısı	0,63
pKa	4,5 - 6,5
pH	7,5 - 8,0
N-NH₃ (mg/L)	2 - 5
Stabilite	30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda klor atomlarının ayrışmasıyla hidroliz meydana gelir. Oksidasyon, nem ve ışığa duyarlıdır

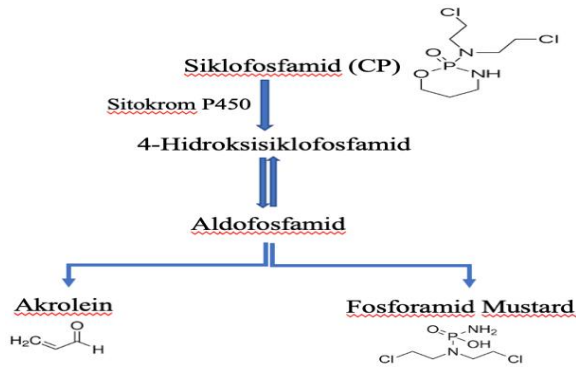
1.1.1.1.1. Etki Mekanizması ve Farmakokinetik

Her yaşta hastaya oral ve intravenöz yolla uygulanabilen CP'nin dozu ve uygulama süresi hastalığın evresi ve seyrine göre değişiklik göstermektedir. Oral alımı takiben hızlıca emilmekte olup, biyoyararlanımı en az %75'tir (Zhang ve ark., 2006). Organizmada yarılanma ömrü 6 ila 9 saat arasında değişiklik göstermektedir.

Serumdaki maximum konsantrasyonuna oral yolla uygulandığında bir saatte; intravenöz uygulandığında ise 2-3 saatte ulaşmaktadır (Wang ve ark., 2013).

Alkilleyici ajanların farmakolojik aktivitesi temelde DNA ipliklerinin çapraz olarak bağlanmasıyla; mitotik aktivite, hücre büyümesi, farklılaşması ve fonksiyonlarının bozulması esasına dayanmaktadır. İnaktif bir ajan olan CP'nin, farmakolojik aktivitesini gösterebilmesi için, hepatik sitokrom P-450 enzimatik biyoaktivasyona ihtiyaç vardır (De Jonge ve ark., 2005). Karaciğerde metabolize edildikten sonra 48 saat içinde böbreklerden atımı gerçekleşmektedir. Uygulanan dozun %3-25'i temel bileşik halinde, yani herhangi bir değişime uğramadan vücuttan uzaklaştırılmaktadır (Sherif, 2020).

Siklofosfamid, karaciğerde sitokrom P-450 enzim ailesinden olan CYP3A4 ve CYP2B6 enzimleri ile 4-hidroksi-siklofosfamid'e dönüştürülmekte ve bu da aldofosfamide izomerleşmektedir (Şekil 1.1). Aldofosfamid, alkilleyici ajan olan fosforamid mustard (FAM) ve idrar kesesinde sitotoksik etki gösteren akroleine ayrılmaktadır (Mathijssen ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2006). Aktif neoplastik bir ajan olan FAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine neden olduğu belirtilmektedir. Akrolein ise, CP'nin toksik etkisinden asıl sorumlu aktif metabolitidir. Akrolein doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek; yüksek oranda ROS oluşumuna, endotel hücreler üzerinde toksik etkilere neden olarak memeli hücrelerinde mutajenik etkiye yol açmaktadır (Wang ve ark., 2013; Wei ve ark., 2012).



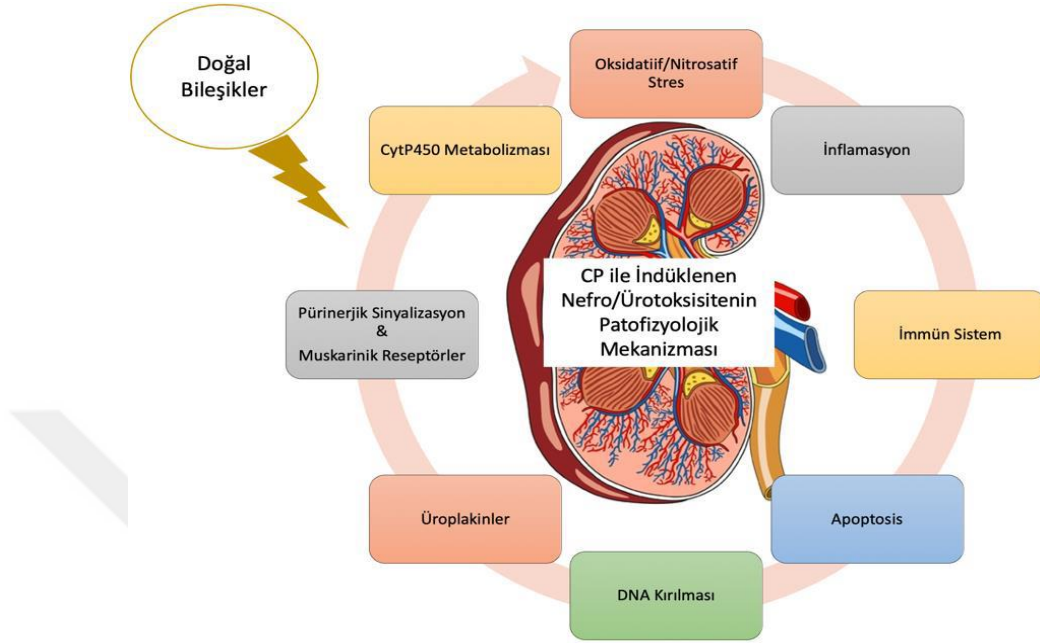
Şekil 1.1. CP'nin hepatik metabolizması (Sherif, 2020'den uyarlanmıştır)

1.1.1.1.2. Kullanım Alanları ve Yan Etkileri

Siklofosfamid klinikte hem hematolojik hem de solid tümörlerin tedavisinde uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. Akciğer kanseri, meme kanseri, lösemi, testis kanseri, serviks kanseri, akut lenfositik lenfoma, Hodgkin lenfoma, non-Hodgkin lenfoma, koryokarsinoma vakaları, yumuşak doku sarkomları, nöroblastomlar ve rhabdomyosarkomların tedavi protokolünde yer almaktadır (Chamorro-Cevallos ve ark., 2008). Bununla birlikte immunosupresif etkinliği nedeniyle Behçet hastalığı, romatoid artrit, nefrotik sendrom, sistemik lupus eritematozus, trombositopenik purpura ve Wegener granülomatozisi gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Ek olarak CP organ transplantasyonu yapılan hastalarda doku reddinin engellenmesi amacıyla da sıklıkla tercih edilmektedir (Yu ve ark., 2014).

Siklofosfamid'in yan etkileri ilk defa 1960'lı yıllarda bildirilmiştir. Bunlar arasında nispeten daha hafif sayılabilecek yan etkilerin yanı sıra doza bağlı olarak gelişen çok daha ciddi yan etkiler de bulunmaktadır. CP'nin en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, karın ağrısı, diyare, iştah ve ağırlık kaybı, saç dökülmesi, ağız ve dilde yaralar, cilt rengindeki değişiklikler ve kemik iliği baskılanmasıdır. Bulantı ve kusma genellikle ilacın verilmesinden 6 saat sonra başlayıp, yaklaşık 4 saat kadar sürmektedir (Senthilkumar ve ark., 2006). Kemik iliği baskılanmasına bağlı lökopeni ve trombositopeni gelişmekte ve ilacın başlangıcından 1-2 hafta sonra bu kan hücreleri plazmada en düşük seviyeye inmektedir. Alopesi ve gonadal hasar gibi toksik etkileri olmasının yanı sıra CP, insanlarda kanserojen etki potansiyeline de sahiptir. Bununla birlikte CP tedavisi geçici veya kısmen kalıcı sterilite ve infertilite gibi üreme sorunlarına ve neden olabilmektedir (Schirmacher, 2019; Wei ve ark., 2012). CP, organizmada kromozom hasarı, mikronukleus, kardeş kromatid değişimi ve DNA iplikçik kırıkları meydana getirerek genotoksik etkilere de yol açmaktadır (Rehman ve ark., 2012). Ayrıca nefrotoksisite (Sheth ve ark., 2018), hepatoksisite (Hamzeh ve ark., 2018), kardiyotoksisite (Slordal, 2006 ve Floyd, 2005) ve gonadal toksisite (Atalay, 2014 ve Kanno, 2009) gibi çoklu organ hasarlarına da neden olabildiği belirtilmektedir. Bunlara ek olarak CP'nin oksidatif strese neden olduğu ve hayati

öneme sahip organlarda lipid peroksidasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Taslimi ve ark., 2019).



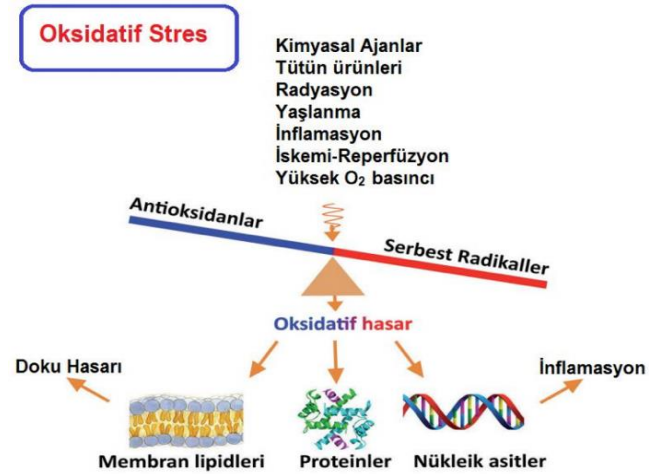
Şekil 1.2. CP'nin neden olduğu nefro/ürotoksisitenin patofizyolojik mekanizmaları ile bazı doğal bileşiklerin olası üroprotektif mekanizmaları (Sherif, 2020)

Siklofosamid'in doz ayarlamasında önemli bir kısıtlayıcı faktör olan ürolojik yan etkiler; idrar sıklığında artışa, suprapubik rahatsızlık (mesane ağrı sendromu), dizüri (ağrılı idrar yapma) ve mikrohematüri gibi geçici irritatif boşaltım sistemi semptomlarından hayatı tehdit edici hemorajik sistiteye kadar değişiklik göstermektedir (Şekil 1.2). Bunlara ek olarak; nekroz, mesane fibrozisi, vezikoüreteral reflü ve kontraktürün geliştiği de bildirilmiştir (Senthilkumar ve ark., 2006). Literatürde CP'nin en sık karşılaşılan organ toksisiteleri arasında nefrotoksisite bulunmakta (Sherif, 2020) ve CP'nin yaygın nefrotoksik etkilerinin bulunduğu, renal tübüller üzerinde doğrudan bir etkiye ve uygun olmayan bir sıvı tutulumuna neden olduğu belirtilmektedir (Bajeer ve ark., 2018; Doshi ve ark., 2019; Lawson ve ark., 2008). Böbreklerde meydana gelen hasarlardan kaynaklı, aşırı hidrasyon gelişmiş bir hastaya sıvı yüklenmesi sonrasında; olası hiponatremi, nöbet ve ölüm riskinin gelişebileceği bildirilmektedir (Doshi ve ark., 2019). CP'nin ürotelyal toksisitesini azaltma girişimleri, mesanede akroleini inaktive eden tiyol bileşiklerinin gelişmesine neden olmuştur. Bu anlamda en faydalı olduğu bilinen ajan sodyum 2-merkaptotetan-

sülfonat; kısa ismiyle mesnadır. Mesna oral veya parenteral olarak verilebilmekte ve vücutta kısa süre içinde stabil bir inaktif disülfite oksitlenebilmektedir. Temelde etki mekanizması akroleini bağlayarak aktif hale geldikten sonra idrarla atılımını sağlamaktır. Bununla birlikte mesna, idrarda 4-hidroksisiklofosfamid'den akrolein salınımını inhibe ederek etki göstermektedir (Ozcan ve ark., 2005).

1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidanlar

Oksijenli solunum yapan tüm canlılarda normal koşullar altında endojen oksidanlar ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır. Oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki bu dengenin oksidan sistem lehine bozulması, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal ürünlerinin oluşması ile organizmada hücresel hasar meydana gelmesi olarak tanımlanmaktadır (Sies ve ark., 2017). Organizmada oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarının yetersiz olması durumunda hücrelerdeki oksidatif stresten kaynaklı zararlar yayılmakta ve hücrelerdeki işleyiş hasar görmektedir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Serbest radikal ve antioksidan dengesinin bozulması ve sonuçları (Özcan ve ark, 2015)

Enfeksiyon, yetersiz ve/veya kötü beslenme alışkanlıkları, toksinlere maruz kalma, sigara ve alkol kullanımı, hipertrofi, aşırı egzersiz; oksidatif stresin nedenleri arasında gösterilmekte ve sonuçta dokular yaralanabilmektedir. Hasar alan dokular;

fagositlerin aktivasyonunu, lipogenaz, ksantin oksidaz gibi radikal üreten enzimlerin artmasını, demir ve bakır gibi bazı iyonlarının serbest bırakılmasını ve oksidatif fosforilasyondaki elektron transport sisteminde meydana gelen bozulma ile aşırı ROS üretimini tetiklemektedir (Özcan ve ark., 2015). Kanser tedavisinde uygulanan kemoterapi ve radyoterapi, ROS'un aşırı üretilmesine neden olmakta ve oksidanlar ile antioksidan savunma sistemi arasındaki denge bozulabilmektedir (Pisoschi ve Pop, 2015; Sies ve ark., 2017). Yapılan *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalar, birçok antineoplastik ajanın antitümoral etkinliklerini serbest radikaller oluşturarak gösterdiklerini kanıtlamıştır (Ali ve ark., 2017; Camargo ve ark., 2018; Pieniżek ve ark., 2013). Kemoterapi aracılığı ile oluşan ROS'lar yalnız tümör hücreleri üzerinde etkili değildir, aynı zamanda sağlıklı hücrelerin protein, lipid ve nükleik asitler (DNA ve RNA) gibi makromoleküllerinde de hasara neden olabilmektedir (Patra ve ark., 2012). Bu etkiye verilebilecek en iyi örnek, kemoterapi sonucu artan serbest radikal konsantrasyonu ile indüklenen ve oldukça sık karşılaşılan oral mukozittir. Oral mukozit özellikle radyoterapi ile eş zamanlı yüksek doz kemoterapi alan hastalarda çok sık görülen ve istenmeyen etkilerden biridir (Saito ve ark., 2014).

İn-vitro ortamda yapılan bir çalışmada antineoplastik ilaçların tedavi öncesine göre hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit radikalının üretimini belirgin şekilde arttırdığı gösterilmiştir (Farooqi ve ark., 2015). Farklı çalışmalarda, kemoterapik ajanlara maruziyet sonucu lipid peroksidasyonu ürünlerinin arttığı ve plazma antioksidan düzeylerinin azaldığı bildirilmektedir (Chabner ve ark., 2006; Giorgio, 2015). Kemoterapi tedavisi gören hastalarda gelişen plazma lipid peroksidasyonu ve tiyobarbitürik asit (TBA) konsantrasyonundaki artış, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına bir kanıt olarak gösterilmektedir (Yokoyama ve ark., 2017). CP'nin de; organizmada özellikle süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) olmak üzere antioksidan enzim düzeylerini, vitamin C ve E seviyelerini azaltarak, hücreyi oksidatif hasara karşı hassas hale getirdiği belirtilmektedir. Bu etkiler lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin artmasıyla sonuçlanmaktadır (Abd El Tawab ve ark., 2014).

Lipid peroksidasyonu, yağların yükseltgenmesi sonucu gelişen bozulmadır. Bu bozulma reaksiyonu, yapılarındaki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesi sonucu meydana gelmektedir. Reaksiyon sonucunda keton, aldehit, alkol, hidroksi asit, keto asit ve daha küçük molekülü yağ asitleri oluşmaktadır. Bunlar arasında en sitotoksik olan molekül aldehitlerdir. Bu ürünlerden biri olan MDA; lipid peroksitlerin nonenzimatik oksidatif dekompozisyonu sonucunda oluşan ve lipid peroksitlerinin sekonder veya son ürün olarak dönüştüğü moleküllerden biridir. Bu nedenle MDA miktarı ile lipid peroksidasyon derecesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır. Genellikle lipid peroksidasyon düzeyinin belirlenmesi için MDA ölçümü sıklıkla kullanılan pratik bir yöntemdir. MDA doku ve vücut sıvılarında spektrofotometrik ve florometrik metotla ölçülebilmektedir. Metod MDA ile TBA'nın reaksiyona girerek pembe renk veren bir bileşiğe dönüşmesi esasına dayanmaktadır. Lipid peroksidasyonunun derecesi, oluşan bu çözeltinin absorbans değerinden yararlanılarak belirlenmektedir (Ayala ve ark, 2014). MDA, hücre membranından kolay geçebildiği için iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına ve enzim aktivitesinin değişmesine neden olmaktadır. Bu özelliği ile MDA'nın, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girerek mutajenik etkilere neden olduğu, hücre kültürleri için ise karsinogenik ve genotoksik etkilere sahip olduğu belirtilmektedir (Geçotek ve Skrzydlewska, 2019).

Organizmada artan tüm bu serbest radikaller sonucunda gelişen oksidatif stresin kanser, böbrek yetmezliği, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, inflamatuvar bozukluklar, karaciğer hastalıkları ve yaşlanma gibi birçok hastalığa neden olduğu belirtilmektedir (Gutteridge, 1993; Liguori ve ark., 2018). Aynı zamanda oksidatif stresin böbrek hasarının patofizyolojisine katkısı olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin II tip 1 reseptör antagonistleri, beta (β)- blokerler, kalsiyum (Ca) kanalı blokerleri ve lipid düşürücü maddeler gibi bazı ilaçların böbreğe olan yararlı etkilerinin oksidatif stresi azaltma yeteneklerinden geldiği belirtilmektedir (Gunes ve ark., 2018).

Oksidatif stresin olumsuz etkilerini azaltmak için, vücutta doğal olarak üretilen veya besinler ya da takviyeler şeklinde alınan antioksidanların organizmada çeşitli etki

mekanizmaları bulunmaktadır. Endojen ve eksojen antioksidanlar, ROS'un organizmada neden olduğu zararları onararak veya önleyerek serbest radikal temizleyiciler olarak işlev görmektedir (Preiser, 2012). Şekil 1.4'te endojen ve eksojen antioksidanlar verilmiştir (Karabulut ve Gülay, 2016). Antioksidanların çalışma mekanizması dört farklı şekilde etki gösterse de, ortak etkileri yapılarındaki hidrojen (H) atomlarını paylaşarak radikallerin reaktiflik özelliğini baskılamaktır. Bu dört farklı mekanizma şunlardır:

- Scavenging (temizleme) etkisi; bu mekanizmada oksidanlar, antioksidanlar tarafından zayıf bir molekül haline dönüştürülmektedir.
- Quencher (baskılama) etkisi; ROS'ları yakalama özelliğı olan vitaminler ve flavonoidlerin kullandığı mekanizma olup, oksidan maddelerle H atomunu paylaşarak onların etkisiz hale gelmesini sağlamaktadırlar.
- Onarım etkisi; antioksidanların serbest radikallerin neden olduğu hasarları tamir etme prensibine dayanmaktadır.
- Zincir koparma etkisi; E vitamini, albümin ve bilirubin gibi antioksidanların oksidanları bağlayarak işlevlerini yapmalarına engel olmaları şeklinde gerçekleşmektedir (Meral ve ark., 2012).

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	α -lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
VİTAMİN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
α -Tokoferol (Vitamin E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)	
β -karoten (Vitamin A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar)	
Askorbik asit (Vitamin C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vitamin B9)	Trolox-C (vitamin E analogu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferoksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

Şekil 1.4. Organizmada bulunan antioksidan sistem elemanları (Karabulut ve Gülay, 2016)

Vücutta serbest radikallere karşı savunma sisteminde ilk olarak antioksidan hücrel enzim sistemleri sorumludur. Bu enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon S-transferaz (GST) olup, serbest radikallerin oluşması ve birikmesi ile lipid peroksidasyonunun meydana gelmesini önleme işlevine sahiptirler. Enzimatik olmayan antioksidanlar; Vitamin A, askorbik asit (Vitamin C), alfa (α) tokoferol (Vitamin E), glutasyon ve diğer antioksidanlardır. Organizmadaki antioksidanların miktarları ve aktiviteleri arasındaki mevcut denge, organizmanın hayatını sürdürmesi ve sağlıklı kalması için büyük bir öneme sahiptir (Kalender ve ark., 2012; Özcan ve ark., 2015). Yapılan bir çalışmada, ROS'ları hücrel bazda temizlemede antioksidan enzimlerin çok önemli bir yerinin olduğu belirtilmiştir (Kalender ve ark., 2015).

Enzimatik antioksidanlardan olan SOD; antioksidan savunma hattının ilk adımı olup, mitokondride süperoksit serbest radikalının, reaktifliği daha düşük olan H_2O_2 'ye dönüştürülmesinden sorumludur. Yapısında çinko ve bakır içeren ve sitoplazmada bulunan Cu/Zn SOD, yapısında manganez (Mn) içeren ve mitokondride bulunan Mn SOD ve hücre dışı sıvıda bulunan ve yapısında demir içeren ekstrasellüler EC SOD olmak üzere üç farklı formu bulunmaktadır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize edebilme özelliği olan tüm hücreleri süperoksit radikale karşı korumaktır. Ayrıca fagozite olan bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde çok büyük rol oynamasından dolayı granülosit fonksiyonunda oldukça önemlidir (Landis ve Tower, 2005; Rosa ve ark., 2021).

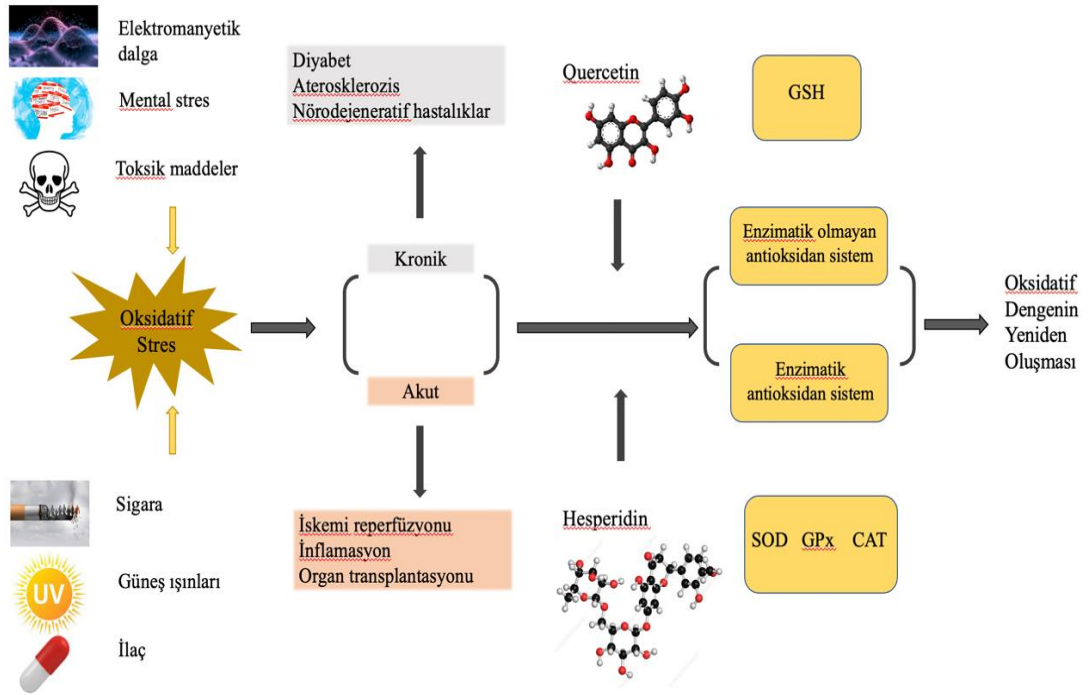
CAT; yapısı tetramerik olup, dört alt birimden oluşan antioksidan özelliğe sahip bir enzimdir. Her bir alt birim, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içermektedir. Organizmada SOD'un oluşturduğu H_2O_2 'yi; su ve oksijene parçalayarak, hidroksil (OH) radikalının oluşmasını önlemekte görevlidir. CAT çoğunlukla hücre içinde; peroksizom organelinde yer alırken, organizmada ise; karaciğer, böbrek ve eritrositlerde bulunmaktadır (Glorieux ve ark., 2015).

GPx; her bir molekülünde dört atom Selenyum (Se) içeren, H_2O_2 'lerin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir. GPx redükte glutasyonu yükseltirken, H_2O_2 'yi su molekülüne çevirmektedir. Bu sayede hemoglobini ve membran lipidlerini oksidatif strese karşı korumuş olmaktadır. Membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yeterli miktarda bulunmadığında, GPx membranı peroksidasyona karşı korumaktadır. Eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan olan GPx'in düzeyinde bir azalma olduğunda, H_2O_2 'nin seviyesinde artış olduğu ve bunun da eritrositlerde hücre hasarı meydana gelmesine neden olduğu belirtilmiştir (Comhair ve Erzurum, 2005; Lei ve ark., 2007).

GST; organizmayı araşidonik asit gibi lipid peroksitlerine karşı savunmada görevlidir. Hem detoksifikasyon, hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevleri bulunmaktadır. Yabancı maddeleri glutatyonun yapısındaki sisteine ait kükürt grubu

ile bağlayarak elektrofilik bölgelerini nötralize etmekte, bu sayede suda daha fazla çözünen bir moleküle dönüştürerek vücuttan daha kolay atılmasını sağlamaktadır. GST'ler bu özellikleri ile vücutta daha az toksik madde oluşmasına yardımcı olmaktadır. Ek olarak GST; oksidatif stres ve ksenobiyotiklere karşı koruma sağlarken, kemoterapik ajanlara karşı direnç göstermektedir. Bu nedenle kanser tedavisinde oldukça büyük önem taşımaktadır (Bhagat ve ark., 2016; Rushmore ve Pickett, 1993).

Endojen antioksidanların yanı sıra kemoterapik ajanların ve özellikle CP'nin toksik etkilerini baskılayarak daha yüksek dozlarda ve daha etkin kullanılmasına olanak sağlayan çeşitli ekzojen antioksidan maddeler olabileceği yönünde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Cengiz ve ark., 2018; Patra ve ark., 2012; Tripathi ve Jena, 2009; Wei ve ark., 2012). Kemopreventif maddeler arasında, güçlü antioksidan özelliği nedeniyle en çok çalışılan antioksidanlar flavonoidlerdir. Son yıllarda flavonoid sınıfında sıklıkla çalışılan ve dikkat çeken antioksidan maddeler arasında QUE ve HSP yer almaktadır (Fouad ve ark., 2021; Kocahan ve ark., 2017).

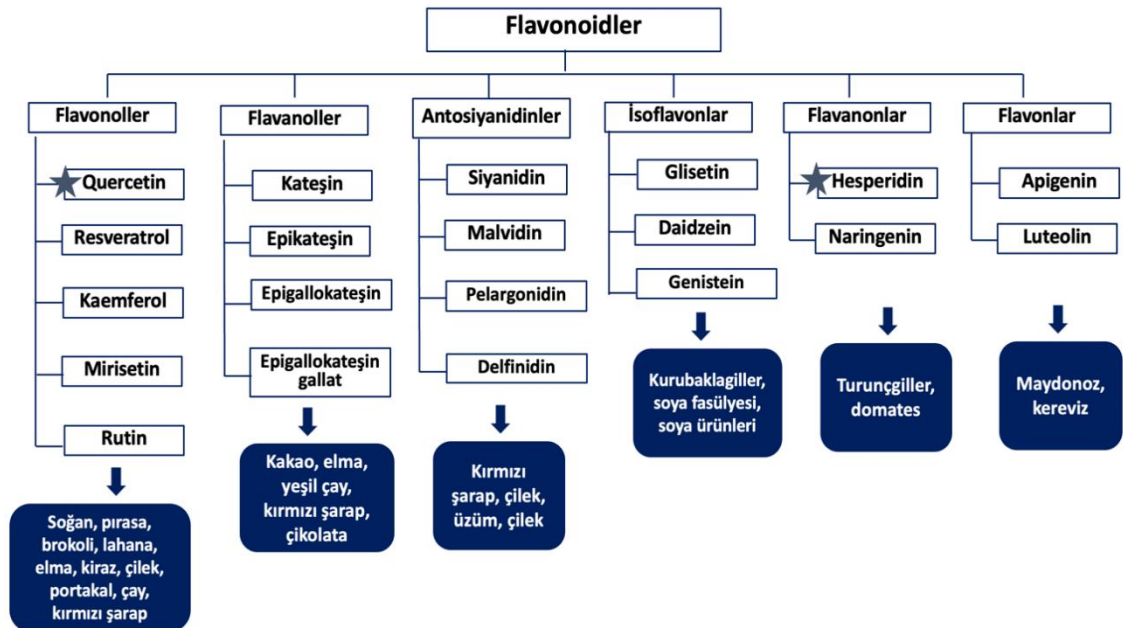


Şekil 1.5. QUE ve HSP'nin oksidatif stres üzerine antioksidan etkinliği (Xu ve ark., 2019'dan uyarlanmıştır)

1.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, insan sağılığı üzerinde olumlu etkilere sahip olan, yapısında benzo- γ - piron türevlerinden oluşmuş, geniş heterojen grupları içeren ve bitkilerde bulunan düşük molekül ağırlıklı doğal polifenolik bileşiklerin bir grubudur. (Karak, 2019). İlk olarak 1930 yılında portakaldan izole edilen bir maddenin yeni bir vitamin sınıfının üyesi olduğu düşünülerek, P vitamini olarak adlandırılmıştır. Amerikan Biyokimya Birliği ve Amerikan Beslenme Enstitüsü, 1950 yılında vitamin P terimini vitamin aktivitesi göstermediği gerekçesiyle kaldırmıştır. Günümüzde flavanoidler olarak bilinmekte olup, doğal biyolojik bileşikler olmaları nedeni ile biyoflavanoidler olarak da adlandırılmaktadır. Günümüze kadar devam eden araştırmalar sayesinde 6000'den fazla flavonoid çeşidi olduğu keşfedilmiştir (Martins ve ark., 2019).

Doğal olarak bulunan flavonoidler, kimyasal yapılarına göre altı gruba ayrılmaktadır. Bunlar; flavonoller, flavanoller, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar(flavanoller) ve antosiyaninlerdir (Şekil 1.6). Flavonoidler çoğunlukla meyve ve sebzeler, tıbbi ve aromatik bitkiler, sert kabuklu yemişler, kırmızı şarap, çay ve bitkilerin kök, gövde, yaprak gibi kısımlarında bulunmaktadır (Brodowska, 2017).



Şekil 1.6. Flavonoidlerin sınıflandırması ve besin kaynakları (Brodowska, 2017)

Flavonoidlerin zengin kaynakları arasında meyve ve sebzeler bulunmaktadır. Günlük alınan flavonoidlerin miktarının 20-200 mg kadar olduğu tahmin edilmektedir (Corcoran ve ark., 2012). Flavonoidlerin kaynakları arasında birçok tıbbi bitkinin de bulunduğu belirtilmektedir. Flavonoidleri içeren bitkisel ilaçlar dünya genelinde yaygın olarak bulunmasına rağmen, özellikle in’de fazlaca kullanılmaktadır (Fraga ve ark., 2019).

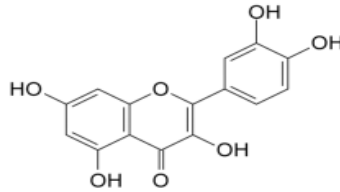
Flavonoidler; antioksidan, antienflamatuar, antiviral, antialerjik, antimutajenik, antiproliferatif, antitümör ve hipokolesterolemik aktivite gibi özellikleri olması yönüyle dikkat çekmektedir (Wang ve ark 2009b). Flavonoidlerin antioksidan ve antiradikal özellikleri *in-vitro* ve *in-vivo* koğullarda uzun yıllardır arağtırılmaktadır. Bu alığmalarda ROS’un ve α -tokoferil radikallerinin azaltılması, metal şelatlama aktivitesi ve ürik asit düzeyindeki artığ gibi özellikleri olduğu belirlenmiğtir (Angst ve ark., 2013; Ni ve ark., 2012). Bununla birlikte flavonoidlerin antioksidan enzimler üzerinde etkileri olduğu gsterilmiğtir. Sulu fazda flavonoidlerin, hidroksit ve süperoksit radikallerini temizlediği ve bazı antioksidan enzimlerin ekspresyonunu arttırarak organizmanın antioksidan kapasitesine önemli katkılar sağladığı bulunmuğtur. Bunların yanı sıra flavonoidlerin C vitamini ile birlikte kılcal damar dokusu bütünlüğünü ve direncini arttırdığı da bildirilmektedir (Panche ve ark., 2016).

Epidemiyolojik alığmalar, antioksidan özellikte ve serbest radikal yakalama fonksiyonları olan flavonoid bileğiklerinin özellikle kardiyovasküler hastalıklar ve kanser riskini azaltması bakımından önemini göstermektedir (Garcia-Lafuente, 2009; Wang ve ark., 2009b; Yıldız ve Turan, 2020). Flavonoidler antikanser etkilerini; seçici sitotoksisite, apoptoz ve antiproliferatif etkiler aracılığı ile sergilemektedir (Angst ve ark., 2013). Hücre kültürü alığmalarında da flavonoidlerin, kinaz aktivitesi ile proliferasyon inhibisyonu ve apoptosiz indüksiyonu gibi eğitli antikanser etkileri olduğu gsterilmiğtir (Angst ve ark., 2013; Li ve ark., 2007; Ni ve ark., 2012;). Bu konuda yapılan alığmalarda; kolon (Nalini ve ark., 2012), meme (Hui ve ark., 2010), gastrointestinal sistem (GİS) (Zarebczan ve ark., 2011), böbrek (Polukonova ve ark.,

2018), ovaryum (Huang ve ark., 2015) ve akciğer (Kasala ve ark., 2016) karsinoid hücre döngüsünü durdurarak hücreleri inhibe ettiği kanıtlanmıştır.

1.2.1.1. Quercetin (QUE)

Yapısal formülü 3,3,4,5,7-pentahidroksiflavon ve kapalı formülü $C_{15}H_{10}O_7$ olan, flavonoidlerin flavonol grubunda yer alan QUE; ilk kez 1936'da Szent-Gyorgyi tarafından izolasyonu ve tanımlanması yapılmıştır (Formica ve Regelson, 1995). Parlak sarı renkte, acı tadı olan kristalize katı bir madde olup, en yaygın bulunan flavonoid bileşiklerden ve en güçlü antioksidan özelliğe sahip polifenollerdendir. QUE, glikozidik bağlarla fenolik gruplara bir veya daha fazla şeker grubunun bağlanması ile oluşan glikozitler ya da aglikonlar şeklinde bitkinin temel olarak yapraklarında ve diğer bölümlerinde bulunmaktadır (Kalender ve ark., 2012). QUE'nin kimyasal yapısı Şekil 1.7'de verilmiştir.



Şekil 1.7. QUE'nin kimyasal yapısı (Thilakarathna ve Rupasinghe, 2013)

Quercetin soğuk suda çözünmemekte, sıcak suda çok az, alkolde kısmen, yağ, asetik asit ve sulu alkali solüsyonlarda ise oldukça iyi çözünen bir yapıya sahiptir. QUE rutin adlı flavonoid glikozidin hidrolizi ile elde edilebildiği gibi; kimyasal olarak da sentezlenebilmektedir. QUE'nin diğer flavonoidler gibi bitkilerin kendi ortamlarına karşı bir savunma yanıtı olarak sentezlendiği bilinmektedir (Cao ve ark., 2010).

Quercetin diyetle alınan flavonoidlerin %60-75'ini oluşturmakta, bu nedenle diyetteki majör bioflavonoid olarak belirtilmektedir. Günlük diyetle alım miktarının 25-1000 mg arasında olduğu tahmin edilmektedir (Inal ve Kahraman 2000). Soğan,

elma, kırmızı şarap başta olmak üzere, siyah çay, greyfurt, kiraz, çilek, yaban mersini, ahududu, böğürtlen, brokoli gibi sebze ve meyveler ile fındık, karabuğday gibi besinler zengin kaynakları arasında olup, günlük 25-30 mg alımının insanlar için yeterli olduğu belirtilmektedir (Amorati ve ark., 2017). Günlük flavonoid alımı beslenme alışkanlıkları ve coğrafi özelliklere göre değişiklik göstermektedir. Ülkemizde QUE kaynağı olarak en sık tüketilen içeceğin çay olduğu ve bunun diyetle alımın yaklaşık %60'nı oluşturduğu saptanmıştır (Çimen 1999). İtalya ve Akdeniz diyeti uygulayan ülkelerde kırmızı şarap, Japon ve Hollanda'da çay, ABD, Finlandiya, Yunanistan ve bazı Balkan ülkelerinde soğan ve elmanın QUE'nin birincil diyet kaynağı olduğu belirtilmektedir (David ve ark., 2016). Ülkemizde yapılan bir çalışmada QUE'nin kırmızı soğandaki miktarının 200-600 mg/kg gibi oldukça yüksek değerlerde olduğu gösterilmiştir (Taşçı ve Koca, 2019).

Diyetle alınan QUE'nin büyük miktarı glikozillenmiş olduğundan, biyoyararlanımı diyetteki diğer glikozitlerin türüne bağlıdır. Besinler ile alınan flavonoid glikozitlerin kolon ve çekumda bulunan enterobakteriler tarafından QUE ve şekere hidrolize edilmesi sonrasında, QUE enterohepatik sisteme aktarılmaktadır. Emilen QUE plazmada albümine bağlanarak portal dolaşım ile karaciğere taşınmakta ve metabolize olduktan sonra tüm vücuda dağılmaktadır. QUE plazmada pik düzeyine 7 saat içinde ulaşmakta olup, eliminasyon ömrü ortalama 25 saat kadar sürmektedir. QUE özellikle karaciğer, böbrek, kolon, beyin, akciğer ve kas dokularına dağılmakta olup aynı zamanda bu dokularda birikme özelliğine de sahiptir. QUE'nin yağlı bir diyetle tüketilmesinin, eliminasyonunda önemli ölçüde gecikmeye yol açtığı bildirilmektedir (Alrawaiq ve Abdullah, 2014; De Vries ve ark., 1998).

Quercetin'in birçok biyolojik aktif özelliği bulunmaktadır. Antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antibakteriyel, antitrombotik, antiaritmik, antihipertansif, antihumoral ve antitümoral aktiviteler ile klinik anlamda geniş bir etki spektrumu göstermektedir (Formica, 1995). Literatürde QUE ile yapılan çalışmalarla; antibakteriyel etkilerinin olduğu (Yi ve ark., 2011), antikanser etki gösterebileceği (Biswas ve ark., 2022; Massi ve ark., 2017), diyabetin komplikasyonlarını önleyebileceği (Shi ve ark., 2019), kolesterolü düşürücü etkilerinin olduğu (Zhang ve

ark., 2016), koroner kalp hastalıklarında ölüm riskini azalttığı (Lee ve ark., 2011), platelet agregasyonunu inhibe ettiği (Hubbard ve ark., 2006), nörodejeneratif hastalıklarda (Bayazid ve Lim, 2022) ve osteoporozda (Huang ve ark., 2020) koruyucu olabileceği, astım, alerji, ürtiker ve saman nezlesi tedavisinde faydalı olduğu (Cesarone ve ark., 2019; Jafarinia ve ark., 2020) ve artriti önleyebileceği (Javadi ve ark., 2017) bildirilmektedir. Ayrıca bunlara ek olarak; peptik ülser, gut hastalığı, göz rahatsızlıkları, artrit ve viral enfeksiyonlara karşı tedavi amaçlı kullanılabileceği düşünülmektedir (Jan ve ark., 2010).

Quercetin'in güçlü antioksidan aktivitesi ve radikal süpürücü özelliği öne çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2011). Flavonoid ailesi içerisinde QUE; NO, süperoksit ve peroksinitrit için potansiyeli en yüksek serbest radikal temizleyicisi olarak kabul edilmektedir (Cushine ve Lamb 2005). Bu antioksidatif kapasitesi nedeni ile, ksantin oksidaz'ı baskılamakta ve oksijen radikallerini inhibe etmektedir. Tek başına veya askorbik asit ile birleşerek, derideki nörovaskülatör yapılara zarar veren oksidatif hasarın insidansını azaltmaktadır (Boots ve ark., 2008; Schlachterman ve ark., 2008). Ayrıca QUE'nin lipid peroksit radikallerinin oluşumunu engelleyerek, metal iyonlarını bağlayarak lipidlerin oksidasyonunu engellediği ve radikallerin oluşumunda görev yapan enzim sistemlerini inhibe ettiği belirlenmiştir (Murillo ve ark., 2017). Pek çok *in-vivo* ve *in-vitro* hayvan çalışmaları QUE'nin antioksidan potansiyeli üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar, QUE'nin antioksidan etkilerinin beyin, kalp, karaciğer, böbrek ve diğer dokuları iskemi-reperfüzyon hasarı, toksik bileşikler ve oksidatif strese neden olan diğer faktörlere karşı koruduğunu ileri sürmektedir (Boots ve ark., 2008; Dehghani ve ark., 2021; Sudhakaran ve ark., 2019; Youl ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2021). Ultraviyole (UV) ışınıyla zarar verilen ve oksidatif stres oluşturulan sıçanlarda 50 mg/kg QUE'nin, UV sonrası artan MDA'yı düşürdüğü, SOD, CAT, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerini arttırarak koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Inal ve Kahraman, 2000).

Antikanser, antimitojenik, antianjiyogenik gibi özellikleri nedeni ile QUE'nin güçlü antikarsinojenik etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. QUE'nin antikanser ajan olma potansiyeli; apoptoz indüklemeye, hücre döngüsü regülasyonu, tirozin kinaz

aktivitesinin inhibisyonunu sağlama fonksiyonlarından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda beyin, karaciğer, kolon ve diğer dokulardaki tümörlerin büyümesini azalttığı ve malign hücrelerin yayılmasını önlediği belirtilmektedir (Akan ve Garip, 2013). Laboratuvar çalışmaları, QUE'nin meme kanseri hücrelerinin büyüme hızını %50'ye kadar düşürdüğünü göstermektedir (Ezzati ve ark., 2020; Tavana ve ark., 2020; Vafadar ve ark., 2020; Wu ve ark., 2018). Cruz-Correa ve ark.'nın (2006) yaptığı bir çalışmada, ailesel adenomatoz polipozis hastalarında QUE ve kurkumin kombinasyon tedavisinin etkileri araştırılmıştır. Hastalara 6 ay süresince günde 3 kez oral olarak 20 mg QUE ile 480 mg kurkumin uygulamasının, rektal ve ileal adenomların sayısı ve boyutunda anlamlı azalmalara neden olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan bir başka çalışmada QUE'nin, insan kolon kanseri Caco-2 hücrelerinde ROS üretimi, hücre görünürlük kaybı ve MicroRNA-21 yükselmesi gibi kimyasal kanserojen kaynaklı bir hücre dönüşümü olan heksavalent kromunu inhibe ettiği belirtilmektedir. (Han ve ark., 2016). *In-vitro* yöntem izlenerek yapılmış güncel bir çalışmada; CP nedenli SH-SY5Y hücre toksisitesi üzerine QUE'nin etkileri araştırılmıştır. Hücre hattı, MDA düzeyi, Tunnel testi, apoptotik genler (Bax, Cyt-c, Cas-3) ile yapılan analizler sonucunda; CP kaynaklı sitotoksikite, apoptotik hücre ölümleri ve oksidatif stresin QUE ile baskılanabildiği gözlemlenmiştir (Ayna ve ark.,2020).

Ayrıca QUE'nin karaciğer iskemi reperfüzyonuna da iyi geldiği bildirilmiştir (Uyulaş ve ark., 2018). Sıçanlarda karaciğer iskemi reperfüzyonunda 50 dakika öncesinde oral olarak verilen QUE (0.13 mmol/kg), serbest radikal ve oksidatif stres oranını azaltarak ve antioksidan seviyelerini arttırarak koruma sağlamıştır (Su ve ark., 2003). QUE'nin sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde lipit peroksidasyonunu azalttığı, antioksidan seviyelerini arttırdığı ve böylece oksidatif stresi azalttığı ve ayrıca β hücre hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2011). Anti-diyabetik etkisiyle ilgili olarak Bule ve ark.'nın (2019) yaptıkları meta-analiz çalışmasında; 10, 25 ve 50 mg/kg dozunda kullanılan QUE'nin, deney hayvanlarında serum glukoz seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir. Alzheimer hastalığında amiloid- β plaklarının oluşumunu baskıladığı, bununla birlikte deneysel Alzheimer hastalığı modellenmesi oluşturulmuş farelerde bilişsel bozuklukları önlediği gösterilmiştir (Molaei ve ark., 2020). QUE'nin antibakteriyel etkilerinin ele alındığı

bir çalışmada; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* bakteriyel patojenlerinin adezyonunu önleme, plazma zarını bozma, nükleik asit sentezini bloke etme gibi etkiler ile biofilm gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Memariani ve ark., 2019).

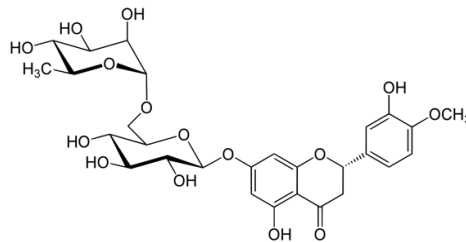
Literatürde QUE'nin nefrotoksisite üzerine etkilerini ele alan farklı çalışmalar mevcuttur (Behling ve ark., 2006; Casanova ve ark., 2021; Kocahan ve ark., 2017; Yadav ve ark., 2023; Yuksel ve ark., 2017). Çok yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada; Wistar cinsi erişkin ratlara tek sefer 200 mg/kg intraperitoneal (i.p.) CP uygulamasının neden olduğu renal oksidatif strese karşı 200 mg/kg QUE ve 80 mg/kg kurkuminin kombine tedavisinin antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda kombine takviyenin CP'nin tetiklediği kreatinin, kan üre azotu (BUN), MDA seviyesinde artışı ve vücut ağırlığı indeksleri, hematolojik parametreler, glutatyon (GSH) düzeyinde azalmayı engellediği bulunmuştur (Yadav ve ark., 2023). Bir başka çalışmada, 36 yetişkin dişi Wistar rata 27mg/kg tek doz CP (i.p.) ve 10 hafta süre ile 10 mg/kg/gün QUE takviyesi (oral gavaj) uygulanmıştır. QUE takviyesinin MDA seviyesinde azalmaya, GPx seviyesinde artışa neden olduğu ve böbrek dokusunda histopatolojik iyileşmeler sağladığı sonucuna varılmıştır (Kocahan ve ark., 2017). Konuyla ilgili yapılan diğer bir çalışmada, 3. gün tek doz (6,5 mg/kg) verilen Sisplatin kemoterapi ilacının 20 adet erkek Wistar cinsi yetişkin ratta 9 gün boyunca 50 ve 100 mg/kg QUE takviyelerinin biyokimyasal parametreler ve nefrotoksisite üzerine etkileri ele alınmıştır. Çalışma sonucunda her iki doz QUE takviyesinin de böbrek tübüler hasarının iyileşmesinde rol oynadığı, yüksek doz QUE takviyesinin üre ve kreatinin biyokimyasal parametrelerinin azalmasında daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Casanova ve ark., 2021). Bu çalışmaya benzer bir diğer çalışmada Sisplatin (5 mg/kg) verilen Wistar cinsi yetişkin erkek ratlarda oral gavaj ile uygulanan 50 mg/kg QUE'nin etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda Sisplatinin lipid peroksidasyonunu, idrar hacmini ve plazma kreatinin düzeylerini artırdığı, idrar osmolalitesini azalttığı, bununla birlikte QUE takviyesinin ise tüm bu bulgularda iyileşme sağladığı ve nefrotoksisitede koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur (Behling ve ark., 2006). Yedi gün süre ile i.p. QUE takviyesinin (50 mg/kg) 4 mg/kg Sisplatin verilen ratlarda nefrotoksisite üzerine benzer koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur

(Sanchez-Gonzalez ve ark., 2011). Bir diğerk çalışmada; 24 adet Sprague–Dawley cinsi ratta bir kemoterapik ajan olan Metotreksat’ın neden olduğu nefrotoksisite üzerine 9 gün süre ile oral 50 mg/kg QUE takviyesinin böbrek hasarında ve MDA seviyelerinde anlamlı azalmaya neden olduğu bulunmuştur (Yuksel ve ark., 2017).

Oral yolla alındığında iyi tolere edilebilen QUE’nin, en sık bildirilen yan etkileri bulantı gibi GİS semptomları, ekstremitelerde karıncalanmalar ve başağrısı olduğu belirtilmektedir. İntravenöz yol ile uygulandığında ise kusma, bulantı, dispne ve diaforeze yol açabilmektedir. QUE’nin toksik ve hatta mutajenik olabileceğine dair çelişkili çalışmalar (Caria ve ark., 1995; Meltz ve MacGregor, 1981; Rueff ve ark., 1986) olmasının yanı sıra; yüksek dozlarda bile güvenle alınabileceğini savunan çalışmalar da bulunmaktadır (Boots ve ark., 2007; Cunningham ve ark., 2022; Harwood ve ark., 2007). Yetişkin bireylerde QUE takviyesinin genellikle oral yolla 250-1000 mg/gün (en yaygın 500 mg/gün), en fazla 12 hafta süre ile verildiğı ve bu uygulama prosedürünün güvenilir olduğı bildirilmektedir (Andres ve ark., 2018).

1.2.1.2. Hesperidin (HSP)

Yapısal formülü 3,5,7-trihidroksi flavanon-7-rhamnoglucoside ve kapalı formülü $C_{28}H_{34}O_{15}$ olan, flavonoidlerin flavanon grubunda yer alan HSP; ilk kez 1927 yılında Fransız kimyager Lebreton tarafından tanımlanmıştır (Li ve Schluesener, 2017). Kimyasal olarak HSP, hesperetin, aglikon ve şeker rutinosisidinden oluşmaktadır. Sarı renkli, acı bir tada sahip olan HSP’nin kimyasal yapısı şekil 1.8’de verilmiştir (Kuntic ve ark., 2014).



Şekil 1.8. HSP’nin kimyasal yapısı (Pyrzynsk, 2022)

Hesperidin; benzen, eter, kloroform solüsyonlarında hiç çözünmezken, suda çok az, alkol ve yağda ise daha iyi çözünen bir yapıya sahiptir. HSP, OUE'de de olduğu gibi bitkilerin kendi ortamlarına karşı bir savunma yanıtı olarak sentezlendiği bilinmektedir (Cao ve ark., 2010; Nardarajah, 2014).

Hesperidin aglikozid yapısı nedeniyle bağırsaktan emilmektedir. Vücuda alındıktan 3 saat sonra plazmada görülmekte, 5-7. saatlerde pik düzeye ulaşmaktadır. HSP'nin dolaşımdaki formu %87 glukuronid ve %13 sulfaglukuronidlerdir. HSP'nin alımından yaklaşık 24 saat sonra idrarla atımının olduğu ve bu atımın alınan miktara bağlı gerçekleşmediği belirtilmektedir. HSP, oral yol ile alındığında kolonda hesperetine dönüştürülmekte ve daha sonra, proton-çiftli aktif nakil ve trans-sellüler pasif difüzyon yoluyla kolonosit tarafından absorbe edilmektedir. Hesperetin ve hesperetin-7 glukozit incebağırsak enterositleri tarafından direkt olarak emilebilmektedir (Ávila-Gálvez ve ark., 2021; Nectoux ve ark., 2019).

Hesperidin tatlı portakal ve limon başta olmak üzere turunçgillerde ve bu turunçgillerden yapılan meyve sularında bulunmaktadır. Bu meyvelerin özellikle zar ve kabuk kısımlarında HSP çok yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (Mauludin ve Müller, 2013). Turunçgillerin yenilebilir kısımlarının ortalama 15 mg/100 g HSP içerdiği ve buna ek olarak portakalın taze ağırlığının %14'ü, mandalina kabuğunun kuru kütlesinin %5-10' unun HSP olduğu bildirilmektedir (Mazzaferro ve Breccia, 2012). Yetişkin bireylerde önerilen HSP takviyesi miktarı ortalama 500 mg/gün (50-900 mg/gün) kabul edilmektedir. Bu değere kurutulmuş turunçgiller gibi zengin HSP kaynaklarının bol bulunduğu bir diyetle ulaşılabildiği bildirilmiştir. HSP'nin diyetteki başlıca kaynağı batı tarzı diyet modelinde portakal suyu iken, Akdeniz diyetinde taze meyvelerdir (Ohara ve ark., 2016; Xiong ve ark., 2019).

Hesperidin organizmada çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir. Kapillar permeabilite, sızıntı ve kırılabilirliği azaltabilme özelliği ile, C vitaminine benzer aktiviteye sahiptir (Jawien ve ark., 2017). *In-vivo* ve *in-vitro* çalışmalarda HSP'nin antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antihipertansif, hipolipidemik, antidiabetik,

anti-inflamatuvar, antialerjik, analjezik, antiülserojen, antineoplastik, antihepatotoksik vazodilatör özelliği ve kemik dansite kaybını azaltıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (Ahmadi ve ark., 2015; Akiyama ve ark., 2009; Amin ve ark., 2020; Ferraz ve ark., 2020; Guardia ve ark., 2001; Hajialyani ve ark., 2019; Ota-Kontani ve ark., 2020; Ozarowski ve Karpinski, 2021). Ratlarla yapılan bir çalışmada portakal ve mandalina suyundan elde edilmiş HSP'nin kolon ve akciğer kanserini azaltmasının yanı sıra ateroskleroz, kolesterol ve TG seviyelerini de azalttığı gösterilmiştir (Etcheverry ve ark., 2008). Bunlara ek olarak HSP'nin mikro sirkülasyonu ve venöz tonu geliştirdiği, venöz ülserlerin iyileşmesine yardımcı olduğu bildirilmektedir (Jawien ve ark., 2017).

Literatürde HSP'nin oksidatif/nitratif stres, inflamasyon ve apoptozu inhibe ettiği çalışmalar ön plana çıkmaktadır (Ahmad ve ark., 2012; Ahmadi ve Shadboorestan, 2016; Bhargava ve ark., 2019; Li ve Schluesener, 2017). HSP'nin antioksidan özelliği üzerine yapılan çalışmalarda; süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri, peroksinitrit ve NO radikalleri gibi ROS'ları nötralize ettiği ve enzimatik olmayan lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Garg ve ark., 2001; Kim ve ark., 2004; Suarez ve ark., 1998; Wilmsen ve ark., 2005). HSP'nin antiinflamatuvar etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; lipopolisakkarit uygulamasıyla oluşturulmuş inflamasyon modelinde, TNF- α (tümör nekrozis faktör- α), NO, IL-10 (interlökin-10) ve IL-12 (interlökin-12) düzeylerinde sırasıyla %63, %56, %47 ve %29 oranında azalma sağlayarak inflamasyonu baskılayıcı etki gösterdiği ifade edilmiştir (De Oliveira ve ark., 2013). Yakın zamanda yayınlanan bir meta-analiz / meta-regresyon çalışmasında, HSP'nin sağlıklı insanlar üzerindeki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri değerlendirilmiştir. HSP takviyesinin MDA, CRP, IL-6 (interlökin-6), IL-4 (interlökin-) seviyelerinde anlamlı düşümlere yol açtığı ve bu etkilerin verilen HSP dozundan bağımsız ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır (Buzdağlı ve ark., 2022). HSP'nin apoptoz üzerindeki etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, farelere (n:20) 20 mg/kg sisplatin ve 50 mg/kg HSP takviyesi verilmiştir. HSP takviyesinin, MDA düzeyini, serum kreatinin ve BUN seviyesini anlamlı şekilde azalttığı, SOD ve GSH seviyesini artırarak oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığı, sisplatin nedenli nefrotoksisiteyi önlediği ve çeşitli sinyal yollarını zayıflatarak apoptotik gen ekspresyonlarını inhibe ettiği bulunmuştur (Chen ve ark., 2019). Literatürde HSP'nin,

deneysel olarak indüklenen diabetes mellituslu (DM) fare ve sıçanlarda diyabetik nefropatiye karşı önemli ölçüde koruma sağladığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Iskender ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2018). Bu konuya benzer olarak yapılan bir çalışmada; streptozotosin ile indüklenmiş DM'li ratlarda HSP (100 mg/kg) ve QUE (100 mg/kg) takviyesinin; total kolesterol, TG, insülin, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) ve serum MDA seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir. Ayrıca HSP ve QUE takviyesi verilen ratlarda, DM grubuna göre daha yüksek TNF- α , IL-6 sitokin seviyeleri ve pankreas dokusunda daha az dejenere Langerhans adacık hücrelerinin olduğu tespit edilmiştir (Dokumacıoğlu ve ark., 2018). Literatürde tüm bunlara ek olarak HSP'nin sıçanlarda CP kaynaklı hepatotoksisite (Mahmoud, 2014), yumurtalık toksisitesi (Khedr, 2015) ve parotid (kulak altı tükürük bezi) toksisitesine (Mostafa ve ark., 2023) karşı koruduğu bildirilmiştir.

Siklofosfamid ile indüklenen nefrotoksisiteye karşı HSP'nin koruyucu etkilerinin değerlendirildiği çalışma sayısı ise oldukça sınırlıdır. Bu konuda yayınlanmış bir çalışmaya ulaşılmış ve bu çalışmada, 40 adet yetişkin erkek fareye tek doz (i.p.) 200 mg/kg CP verilerek, 10 gün süre ile 100 ve 200 mg/kg/gün HSP takviyesinin nefrotoksisite ve antioksidan kapasite üzerine etkileri değerlendirilmiştir. HSP takviyesinin CP kaynaklı serum kreatinin ve sistatin C artışlarını önemli ölçüde azalttığı, aynı zamanda MDA, NO, TNF- α seviyesinde anlamlı bir düşüşe, total antioksidan seviyesi (TAS) ve IL-10 seviyesinde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artışa neden olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte HSP takviyesinin CP nedenli nefrotoksisite ve böbrek hasarı molekül-1 ekspresyonunu önemli ölçüde önlediği tespit edilmiştir (Fouad ve ark., 2021). CP nedenli karaciğer ve ovaryum toksisitesi üzerine HSP'nin koruyucu etkileri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Khedr, 2015; Mahmoud, 2014). HSP'nin ratlarda CP'den farklı olarak; sisplatin (Kaltalıoğlu ve Coşkun-Cevher, 2016; Kumar ve ark., 2017), sodyum arsenit (Turk ve ark., 2019), akrilamid (Hamdy ve ark., 2017), trikloretilen (Siddiqi ve ark., 2015) ve demir (Pari ve ark., 2015) tarafından indüklenen nefrotoksisiteye karşı önemli ölçüde koruma sağladığı gösterilmiştir. Farklı bir kemoterapik ajan olan Paklitaksel (5 gün süre ile; 2 mg/kg) verilen ratlarda, 10 gün boyunca oral yolla 100 ve 200 mg/kg HSP takviyesinin biyokimyasal parametreler, nefrotoksisite ve hepatoksisite üzerine etkilerinin ele

alındığı bir çalışmada, HSP takviyesinin her iki dozunun da lipid peroksidasyonu, serum üre, kreatinin, AST, ALT, ALP, TNF- α , IL-1 (interlökin-1), IL-6 seviyesini azalttığı bulunmuştur. Ayrıca HSP'nin farklı dozlarının, kemoterapi ilacının neden olduğu oksidatif stres, inflamasyon, apoptoz ve otofaji sonucunda meydana gelen hepatorenal toksisiteye karşı koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Gur ve ark., 2022).

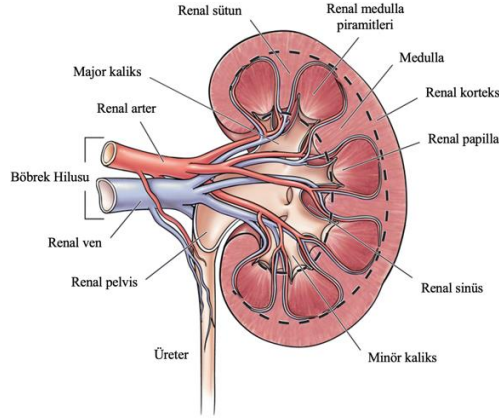
Quercetin ile benzer olarak HSP'nin de oral alımında iyi tolere edildiği belirtilmiş olup, literatürde HSP alımı sonrası meydana gelen herhangi bir yan etkiye rastlanılmamıştır (Araujo-León ve ark., 2022; Nardarajah, 2014). HSP'nin oral toksisitesini değerlendirmek amacıyla dişi ratlara akut (14 gün) 50, 300 ve 2000 mg/kg/gün tek doz ve subkronik (28 gün) 161 mg/kg/gün HSP içeren HPS/naringenin karışımı MIX-160 tabletler verilmiştir. Çalışmada, total bilirubin, AST, ALT biyokimyasal parametreleri ile böbrek, karaciğer ve kolon dokularında histopatolojik incelemeler sonucunda akut ve subkronik uygulamaların herhangi bir toksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Bunun yanı sıra HSP'nin özellikle 161mg/kg/gün dozunun en fazla 12 hafta olacak şekilde uzun süreli klinik kullanımda güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır (Cicero-Sarmiento ve ark., 2022).

1.3. Böbrek ve Nefrotoksisite

Böbrek, vücut homeostazının sağlanmasında, sıvı dengesini sağlayarak kan pH değerinin ve elektrolit dengenin düzenlenmesinde, endojen ve ekzojen toksik maddelerin ve metabolizma ürünü atıkların organizmadan uzaklaştırılmasında görevli, hayati öneme sahip bir organdır (Hu ve Layton, 2021). Bu atık maddelerin başında; üre, ürik asit, kreatinin, bilirubin, hormon yıkım ürünleri ve ksenobiyotikler yer almaktadır (Finco, 1997). Böbreklerin aynı zamanda; ekstraselüler sıvı bileşiminin düzenlenmesinde, vücut sıvılarının pH dengesinin sağlanmasında, arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde, D vitamini metabolizmasında, eritropoietin üretiminde ve glukoneogenez metabolizmasında fonksiyonları bulunmaktadır (Mahadevan, 2019).

Böbrek, anatomik olarak columna vertebralisin her iki tarafında üst üç lomber vertebra ile aynı seviyede, 12. torasik vertebra hizasında, karın bölgesinin arka tarafında bulunan bir çift organdır (Mahadevan, 2019). Yetişkin bir insanın böbreği ortalama 14 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2,5-3 cm kalınlığındadır. Sağ böbrek sol böbreğe göre 1-2 cm daha aşağıda olup, yapısal olarak daha kısa ve dardır (Moinuddin ve Dhanda, 2015).

Böbrek histolojik açıdan incelendiğinde; farklı özelliklere sahip iki bölge olduğu görülmektedir. Bunlar; medulla ve korteks kısımlarıdır. Medulla kısmı; böbreğin iç kısmını oluşturmakta olup, temel olarak Henle halkaları ve renal piramitlerin yer aldığı kısımdır. Medulla sırasıyla bir dış ve bir iç kısımdan oluşmaktadır. Dış kısım, korteksten medulla kısmına doğru uzanan çok sayıda tübülden dolayı çizgili bir görünüme sahiptir. Tübüller, böbrek piramitleri adı verilen koni biçimli yapılarda toplanmaktadır. Her böbrek tipik olarak bu renal piramitlerden 8-10 adet içermektedir. Renal piramitlerin yuvarlak şekilli tepesi papilla olarak isimlendirilmiş olup, minör kalikslere açılmakta, tabanı ise böbreğin dış yüzüne paralel şekilde uzanmaktadır (Moinuddin ve Dhanda, 2015; Wallace, 1998). Diğer kısım olan korteks kısmı, böbrek kapsülünün hemen altında, piramitlerin tabanları ile renal kapsül arasında kalan kısımda bulunup, böbrek kan damarlarının yaklaşık %90'ını içerdiğinden kırmızı-kahverengi renkli ve granüler bir görünüme sahiptir. Korteksin granüler yapısı glomerüllerin yoğun olmasından kaynaklanmakta ve bu kısım aynı zamanda Bertini kolonlarını oluşturmaktadır. Damarların parankime giriş çıkış yaptığı bölge burasıdır. İki veya daha fazla minör kaliks, bir major kaliks oluşturmak için birleşmektedir. İki ya da üç major kaliksin bir araya gelmesiyle pelvis renalis oluşur. Nihayetinde böbrekler mesaneye üreterler vasıtasıyla bağlanmaktadır. Böbreklere dakikada 1 litreden fazla kan gelmektedir. Her böbrek abdominal aorttan ayrılan renal arterler tarafından beslenmektedir. (Mahadevan, 2019; Randall Thomas, 2009). Böbreğin yapısı ve histolojisi Şekil 1.9'da verilmiştir.



Şekil 1.9. Böbreğin yapısı ve histolojisi (McBride, 2016'dan uyarlanmıştır)

Böbreğin en küçük ve temel fonksiyon birimi nefronlardır. Nefron; Bowman kapsülü, proksimal tübül, Henle kulpu ve distal tübül kısımlarından oluşmaktadır. Her bir böbrekte yaklaşık 1 ila 4 milyon kadar nefron bulunmaktadır. Nefronlar dolaşım yoluyla böbreğe gelen kanın tübüllerden geçerek ihtiyaç duyulmayan kısmının atılmasını, yeniden absorbe edilen maddelerin dolaşıma verilmesini ve oksijen ile metabolik ürünlerin nefrona dağılmasını sağlamaktadır (Vural, 2005). Daha ayrıntılı ele alınacak olursa; nefron renal korpüskülden ve tübül sisteminden oluşmaktadır. Renal korpüskül glomerülüs denen kapiller ağ ve onu çevreleyen çift tabakalı epitel Bowman kapsülü bulunmaktadır. Glomerülüsden geçen kan filtrasyona uğrayarak ultrafiltrat oluşur. Buradan sonra tübül sistemleri denen kısma gelen filtrat ilk olarak proksimal tübüle geçmekte, absorbe edilecek maddeler emildikten sonra geri kalan filtrat henle kulpuna oradan da distal tübüle geçerek son olarak toplama kanalına boşalmaktadır (Randall Thomas, 2009). Özetle kapiller ağdan geçen kanın süzülüp tübüllere gelmesi, absorbe edilecek olan maddelerin emilip atılacak olanın toplama kanalına geçmesi nefronların yüksek fonksiyonları sayesinde olmaktadır (Mahadevan, 2019). Yapılan çalışmalarda, nefronların bu önemli fonksiyonlarının nefrotoksinlerden kaynaklı hasar görüp işlevlerini yitirebildikleri ifade edilmiştir (Naughton, 2008; Ozbek, 2012; Vural, 2005).

Böbrekler pek çok ilaçta olduğu gibi kemoterapi ilaçlarının da vücuttan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Ancak ilaçların metabolitleri böbreklerin duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır (Mahadevan, 2019). Ayrıca diğer organlara kıyasla,

yavaş bölünmelerine rağmen böbrek hücrelerinin yüksek kan akımı ile karşılaşması ve tübüler epitelde spesifik taşıyıcılarının olması nedeniyle, toksik etkilere ve gelişebilecek hasarlara karşı daha hassas olduğu belirtilmektedir (Lock, 2020; Oun ve ark., 2018). Böbreklerin duyarlı hale gelmesi ile glomerul, tübül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde işlev bozukluğu gelişebilmektedir (Mahadevan, 2019).

Nefrotoksisite tanım olarak; böbrek yapısını ve/veya fonksiyonunu olumsuz yönde etkileyen herhangi bir etki olarak tanımlanabilmektedir (Patzer, 2008). Çeşitli risk faktörleri arasında; nefrotoksik potansiyele sahip kemoterapik ajanlara maruziyet, yaşlılık, hipertansiyon, kalp yetmezliği, diyabet ve çoklu ilaç (non-steroid anti-inflamatuvar ilaç vs.) kullanımı sayılmaktadır (Perazella ve Rosner, 2022). Nefrotoksisite kavramı neredeyse bir asırdır bilinmesine rağmen, nefrotoksinlere olan ilginin artışı son yirmi yılda olmuştur. Nefrotoksisite aslında doğal kaynaklı maddelerle oluşabilmesine karşın, farmasötik ajanlar veya iyatrojenik zararlara yol açan maddeler olan nefrotoksinler de buna yol açmaktadır (Uber ve Sutherland, 2020).

Kemoterapik ajanlar nedeniyle gelişen nefrotoksisite, kemoterapi tedavisinin çok sık karşılaşılan bir yan etkisidir. CP'nin güçlü bir nefrotoksin madde olduğu, böbrek dokusu ve işlevlerini doğrudan etkilediği bilinmektedir (Temel ve ark., 2020). CP'nin nefrotoksik etki mekanizmasının arkasında aktif metaboliti olan akroleinin glutatyon ile bağlandıktan sonra hücresel hasara neden olması ve hücre içinde glutatyon düzeylerinin azalması yatmaktadır (Lash, 2018; Rehman ve ark., 2012). Akrolein, glutatyon bağımlı antioksidan sistemi bozmakta ve serbest oksijen radikallerinin üretimini artırmaktadır. Bu serbest radikaller damar içinde nitrik oksit/nitrik oksit sentaz (NO/NOS) sisteminin bozulmasından dolayı artmaktadır. Bu durum üriner epitel hasarın oluşmasına neden olmaktadır. Böbrek epitel hücreleri kendini yenileme işlevini ya çok yavaş biçimde gerçekleştirmekte ya da gerçekleştirememektedir. Bu nedenle üst üste meydana gelen hasarlar; elektrolit dengesizlikleri, idrar sediment anomalileri, çok yaygın olarak görülen glomerüler filtrasyon hızında azalma, hatta akut ve kronik böbrek yetmezliği ve nefrotik sendrom

gibi çok ciddi sorunların oluşmasına da neden olabilmektedir (Gunes ve ark., 2018; Takehiko ve ark., 1992).

Siklofosamid uygulanmış farelerin böbrek dokularında glomerüler nefrit, kortikal tübül hücrelerinde vakualizasyon ve interstisyel ödem görüldüğü bildirilmektedir (Bhat ve ark., 2018; Fouad ve ark., 2021). CP uygulanan ratların ise böbrek dokularında lizozomal enzim aktivitelerinin azaldığı ve protein içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Abraham ve ark., 2007; Kocahan ve ark., 2017). Lizozomal enzim aktivitelerinin azalması renal hasara yol açmaktadır. Lipid peroksidasyonu, akrolein üretiminden dolayı CP kaynaklı toksisitelerin ana nedenlerinden birisidir. Malondialdehid (MDA) bir reaktif aldehid ve oksidatif stresin belirteçlerinden biri olup, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (Kim ve ark., 2012). CP toksisitesi organizmada iki mekanizmanın birleşmesi ile oluşmaktadır. Bunlar; akrolein ile glutatyonun etkileşimi ile meydana gelen nükleofil düzeylerinin azalması ve nitrik oksit (NO) ile oksijenin birleşerek, hücrede protein ve lipid hasarına neden olan peroksinitrit oluşturmalarıdır. Makrofaj, monosit ve nötrofiller; inflamatuvar hücreler olup, ROS üretilmesine neden olurlar. Bu ROS'lar yüksek reaktivitelerinden kaynaklı olarak, nükleik asitler ve proteinler ile etkileşime girerek doku hasarının gelişmesine yol açarlar (Ohno ve Ormstad, 1985; Singh ve ark. 2014).

Siklofosamid'in böbrek dokusu başta olmak üzere toksik etkilerini inhibe etmek ve etkin yüksek terapötik dozların güvenle kullanılabilmesini sağlamak amacıyla son yıllarda yapılan çalışmalar arttırılsa da henüz çok az yol alınabilmiştir. CP kaynaklı nefrotoksisite, hepatoksisite, nörotoksisite, sitotoksisite ve akciğer toksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda ağırlıklı olarak incelenen besin bileşenlerinden; E vitamini (Attia ve ark., 2023; Estakhri ve ark., 2013), Se (Gunes ve ark., 2018), çinko (Torabi ve ark., 2017), resveratrol (El-Sheikh ve ark., 2017), Koenzim Q₁₀ (Al-Johani ve ark., 2022), melatonin (Torabi ve ark., 2017), gallik asit (Ayza ve ark., 2022), propolis (Akyol ve ark., 2016) ve bazı esansiyel yağ asitlerinin (Sheweita ve ark., 2016) koruyucu etkilerine odaklandığı görülmektedir. CP ile indüklenmiş deney hayvanlarında; QUE'in etkilerinin kalp (Gelen ve ark., 2021), akciğer (Şengül ve ark., 2017), karaciğer (Gedikli ve Şengül, 2019), yumurtalık

dokularında (Barberino ve ark., 2022), HSP'nin etkilerinin ise; karaciğer (El-Beheiry ve ark., 2023; Fouad ve ark., 2014; Mahmoud, 2014), beyin (Elhelaly ve ark., 2019), kalp (Shrivastava ve ark., 2013), yumurtalık (Khedr, 2015), tükürük bezleri (Mostafa ve ark., 2023) dokularında daha yoğun olarak çalışıldığı görülmektedir. Literatürde CP'nin neden olduğu böbrek hasarı ve disfonksiyonuna karşı QUE ve HSP'nin ayrı ayrı olası savunma mekanizmasını araştıran çalışmalar sınırlı sayıda mevcuttur (Fouad ve ark., 2021; Kocahan ve ark., 2017). Bu konuda yapılan bir çalışmada, CP (200 mg/kg) uygulanan farelere 10 gün süreyle 100 ve 200 mg/kg/gün HSP verilerek nefrotoksisite ve oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Yalnız CP verilen gruba kıyasla HSP+CP verilen gruplarda TAS'nin korunmasını sağladığı, MDA ve NO artışlarını önlediği, IL-10 ve TNF-a arasındaki dengeyi koruduğu için önemli antioksidan, antinitratif ve antienflamatuar etkilere neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca histopatolojik inceleme, CP'nin fare böbreklerinde böbrek yapısında belirgin bozulmaya, renal tübüler dilatasyona, renal tübüler epitelde nekroz ve deskuamasyona, interstisyel ödem ve koagülatif nekroza neden olduğu gösterilmiştir. HSP verilen gruplarda ise CP'nin neden olduğu patolojik değişiklikleri en aza indirdiği ve fare böbreğinin normal histolojik yapısını koruduğu bildirilmiştir. Bu etkinin HSP'nin oksidatif/nitrozatif stresi, inflamasyonu ve apoptozu baskılaması sonucunda böbrek yapısını ve fonksiyonunu korumasından ileri geldiği belirtilmiştir (Fouad ve ark., 2021). Bir diğer çalışmada, CP (27 mg/kg) ve bir diğer kemoterapi ajanı olan doksorubisin (1.8 mg/kg)'e maruz bırakılmış Wistar cinsi 36 adet rata 10 hafta süre ile 10 mg/kg/gün QUE takviyesi verilerek oksidatif stres parametreleri, hepatoksik ve nefrotoksik etkileri incelenmiştir. Çalışma sonunda hem CP hem de doksorubisin maruziyeti karaciğer ve böbrek dokusunda yüksek MDA seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Doksorubisin tedavisi ile karaciğer GPx azalması pozitif anlamlı ilişkilendirilirken, QUE verilen gruplarda, MDA birikiminin baskılandığı ve GPx düzeylerinin arttığı belirtilmiştir. Çalışma sonucunda, doksorubisin ve CP alan hastalarda QUE takviyesinin, antioksidan parametrelerin homeostatik ekspresyonunun terapötik restorasyonu ile sonuçlanabileceği, karaciğer ve böbrekteki oksidatif hasarın azalmasına katkı sağlayacağı kanısına varılmıştır (Kocahan ve ark., 2017).

Bu nedenle, bu tez kapsamında sınırlı sayıdaki mevcut çalışma ile tam olarak netleşmemiş olan “QUE ve HSP takviyesinin CP ile indüklenen ratlarda gelişen nefrotoksisite ve oksidatif stres üzerine etkisi var mıdır?” sorusuna cevap aranmıştır. Literatürde CP’nin neden olduğu nefrotoksisite üzerine QUE ve HSP’nin birlikte ele alındığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasının amacı; ratlarda CP ile indüklenen oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı QUE ve HSP’nin etkilerini incelemek ve histopatolojik açıdan değerlendirmektir.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

Siklofosfamid ile indüklenen nefrotoksisitede oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı QUE ve HSP takviyelerinin etkilerini incelemek amacıyla; 6 gruptan oluşan toplam 36 adet rat üzerinde yürütülen bu çalışmanın etik onayı Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmış olup (Toplantı No: 2021-14, Karar No: 2021-14-121) onay yazısı ekte sunulmuştur (Ek 1). Bu araştırmada ratlardan alınan kan ve böbrek dokusu örnekleri ile biyokimyasal analizler, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarının belirlenmesi ve böbrek dokusunda histolojik incelemeler yapılmıştır. Bu çalışmanın bütçesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı bütçesi ve araştırmacının kendi imkanları ile karşılanmıştır.

2.1. Gereç

Bu bölümde, çalışmada kullanılan test organizması, hammaddeler ve kimyasal maddeler verilmiştir.

2.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 350-500 g ağırlığında, 10-12 haftalık, 36 adet *Wistar albino* cinsi erkek rat kullanılmıştır. Deney süresince ratlarda herhangi bir kayıp yaşanmamıştır. Ratlar Ankara Üniversitesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'ndan (AÜDEHAL) temin edilmiş ve çalışmanın supleman uygulama ve numunelerin temini aşamaları da burada yapılmış, oksidatif stres parametreleri ve histolojik analizler kısmı Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Mikroteknik Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Rat bakımları, uzman veteriner hekimler tarafından, Laboratuvar Hayvanları Kullanım ve Bakım Kılavuzu'na (NRC, 2010) uygun olarak yapılmıştır. Ratlar kafeslerde, 22 gün süre ile 12 saat aydınlık, 12 saat karanlıkta, %30-40 nem oranında ve 22-25°C

sıcaklıkta, altışarlı şekilde tutulmuştur. Su olarak şehir şebeke suyu, yem olarak standart pelet yem verilmiş olup içeriği Çizelge 2.1’de gösterilmiştir. *Ad-libitum* olarak beslenen ratlara yemler günde iki defa saat 09.00 ile 19.00’da verilmiş, kafeslerdeki altlıklar ise gün aşırı değiştirilmiştir.

Çizelge 2.1. Ratlara verilen standart pelet yeminin besin ögesi içerikleri

Besin Ögesi	İçerik (%)
Ham protein	23.50
Ham yağ	3.10
Ham selüloz	5.90
Ham kül	6.35
Kalsiyum	0.85
Sodyum	0.05
Fosfor	0.97
Metionin	0.43
Lizin	1.32

Çalışma süresince tüm ratlar eşit çevresel koşullar altında tutulmuştur (Şekil 2.1). Araştırmaya başlamadan 7 gün önce gözlem altına alınan ratların, deney ortamına adaptasyonu sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan hayvanların daha önce herhangi bir çalışmada kullanılmamış olmasına dikkat edilmiştir. Bunlara ek olarak araştırmanın tamamı Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni doğrultusunda, Helsinki Hayvan Hakları deklarasyonuna uygun olarak ve 3R (Replacement, Reduction and Refinement) kuralı takip edilerek yürütülmüştür.



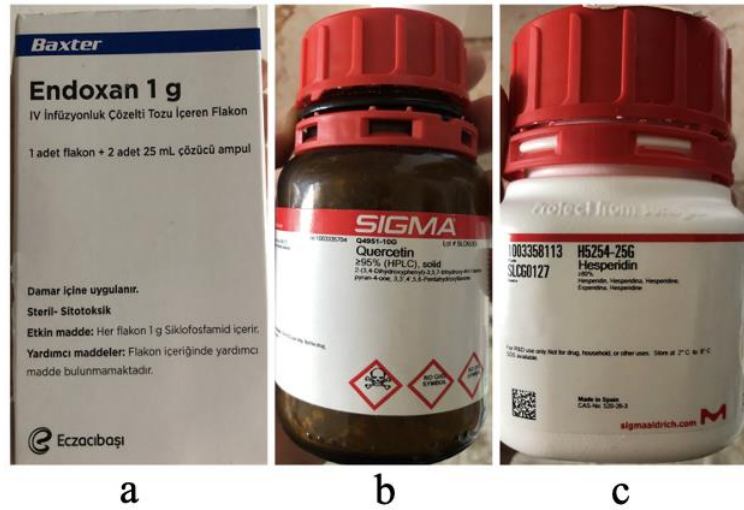
Şekil 2.1. Ratların kafes yerleşimi ve deney gruplarının oluşturulması

2.1.2. Test Hammaddeleri ve Kimyasallar

Bu deneyde 3 tane test hammaddesi kullanılmıştır. Bunlar:

- QUE,
- HSP ve
- CP'dir (Şekil 2.2).

Araştırmada kullanılan QUE (10g) (Cas No: 117-39-5) Sigma firmasından, HSP (25g) (Cas No: 520-26-3) Merck'ten ve CP piyasa ismiyle Endoxan (1g-IV infüzyonluk çözelti tozu içeren flakon) formunda temin edilmiştir. Etil alkol (C_2H_5OH , Cas No: 64-17-5) ve NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Hidrojen Fosfat) (CAS No: 2646-71-1) Merck firmasından tedarik edilmiştir. Ayrıca çalışma sonunda ratların anestezi altında sakrifiye edilmesini sağlamak amacıyla kullanılan Xylazine (Katalog No: 23076-35-9), ketamin HCl (hidroklorür) (Katalog No: 1867-66-9) isimli anestezik kimyasallar Sigma firmasından alınmıştır.



Şekil2.2. Deneyde kullanılan test hammaddeleri

- a: Siklofosamid etkenli ilaç Endoxan
b: Quercetin
c: Hesperidin

2.2. Yöntem

Bu bölümde deney protokolü ve verilerin analizi ana başlıkları yer almaktadır.

2.2.1. Deney Protokolü

Bu çalışmadaki deney protokolü literatür baz alınarak yapılmıştır (Fouad ve ark., 2021; Gelen ve ark., 2021; Gedikli ve Şengül, 2019; Şengül ve ark., 2017). Çalışmanın örneklem sayısının belirlenmesinde “*OECD Test Guidelines Programme*” (Organization for Economic Cooperation and Development *Test Guidelines Programme*) kuralları baz alınmıştır (OECD, 1993). Her grupta 6 adet rat olacak şekilde; kontrol grubu (K), 100 mg/kg/gün QUE verilen grup (QUE), 100 mg/kg/gün HSP verilen grup (HSP), 15. Günde tek doz (i.p.) 200 mg/kg CP uygulanan grup (CP), CP ile birlikte QUE (100 mg/kg/gün) verilen grup (QUE+CP) ve CP ile birlikte HSP (100 mg/kg/gün) verilen grup (HSP+CP) olmak üzere 5 deney ve 1 kontrol grubu olmak üzere toplam 6 grup oluşturulmuştur (Çizelge 2.2). QUE ve HSP dozları literatür esas alınarak belirlenmiştir (Fouad ve ark., 2021; Gelen ve ark., 2021; Khedr, 2015; Kocahan ve ark., 2017).

Çizelge 2.2. Deney protokolü ve grupların oluşturulması

GRUP ADI	n	UYGULAMA SÜRESİ	UYGULAMA ŞEKLİ	UYGULAMA
Kontrol Grubu	6	15 gün	İntragastrik gavaj	1 ml/kg/gün mısır yağı
QUE Grubu	6	15 gün	İntragastrik gavaj	100 mg/kg/gün QUE 1 ml/kg/gün mısır yağı
HSP Grubu	6	15 gün	İntragastrik gavaj	100 mg/kg/gün HSP 1 ml/kg/gün mısır yağı
CP Grubu	6	Tek doz 15 gün	İntraperitoneal İntragastrik gavaj	200 mg/kg CP 1 ml/kg/gün mısır yağı
QUE+CP Grubu	6	Tek doz 15 gün	İntraperitoneal İntragastrik gavaj	200 mg/kg CP 100 mg/kg/gün QUE 1 ml/kg/gün mısır yağı
HSP+CP Grubu	6	Tek doz 15 gün	İntraperitoneal İntragastrik gavaj	200 mg/kg CP 100 mg/kg/gün HSP 1 ml/kg/gün mısır yağı

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

Deneyde mısır yağı içinde çözdürülmüş OUE ve HSP (1 ml/kg (vücut ağırlığı)/gün) hazırlanarak 15 gün boyunca 15 ga (gauge)'lık çelik oral gavaj kanülü kullanılarak, oral gavaj yöntemi ile günde bir kez ve aynı saatte (sabah 09:00) verilmiştir. Saat 19:00'daki ikinci öğünde ise sadece yem verilmiştir. Kontrol grubuna ise aynı yöntemle ve hacimde mısır yağı verilmiştir. Çalışmada ratlara uygulanan CP için; ülkemizde Endoxan (1 g IV infüzyonluk çözelti tozu içeren flakon) piyasa ismi ile bulunan ve etken maddesi CP olan ilaç kullanılmış olup, bu uygulama deneyin 15. yani son gününde tek doz olarak yapılmıştır. Uygulanan CP dozunda da literatür baz alınmıştır (Fouad ve ark., 2021; Gelen ve ark., 2021; Liu ve ark., 2016; Mahmoud, 2014; Temel ve ark., 2020).

Kontrol Grubu (n=6): Kontrol grubunun amacına uygun olarak bu grupta yer alan ratlara 15 gün boyunca 1 ml/kg/gün olacak şekilde çözücü madde olarak kullanılan mısır yağı intragastrik yöntemle verilmiştir.

QUE Grubu (n=6): Bu grupta bulunan ratlara 15 gün süre ile intragastrik yöntem ile 1 ml/kg/gün mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg (vücut ağırlığı) dozunda QUE takviyesi verilmiştir.

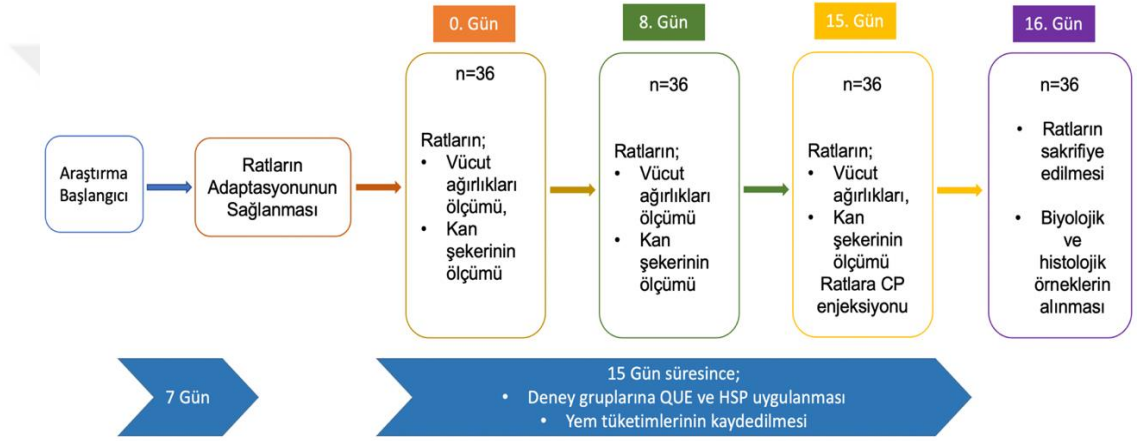
HSP Grubu (n=6): Bu grupta yer alan ratlara 15 gün süre ile 1 ml/kg/gün mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg (vücut ağırlığı) dozunda HSP takviyesi intragastrik yöntemle verilmiştir.

CP Grubu (n=6): Bu grupta bulunan ratlara 15 gün süre ile intragastrik olarak 1 ml/kg/gün olacak şekilde mısır yağı verilmiş ve buna ek olarak CP ilacı i.p. yolla 200 mg/kg (vücut ağırlığı) çalışmanın son gününde (15. gün) tek doz olarak uygulanmıştır.

OUE+CP Grubu (n=6): Bu grupta bulunan ratlara 15 gün süre ile intragastrik yöntem ile 1 ml/kg/gün mısır yağında çözdürülmüş 100 mg/kg (vücut ağırlığı) dozunda QUE verilmiş ve buna ek olarak i.p. yolla 200 mg/kg (vücut ağırlığı) CP ilacı çalışmanın son gününde (15. gün) tek doz olarak uygulanmıştır.

HSP+CP Grubu (n=6): Bu grupta yer alan ratlara 15 gün süre ile 1 ml/kg/gün mısır yağında çözündürülmüş 100 mg/kg (vücut ağırlığı) dozunda HSP takviyesi intragastrik yöntemle verilmiş ve buna ek olarak i.p. yolla 200 mg/kg (vücut ağırlığı) CP ilacı çalışmanın son gününde (15. gün) tek doz olarak uygulanmıştır.

Deney 16. günde sona ermiş ve ratlardan araştırma için gereken biyokimyasal ve histolojik numuneler alınmıştır. Deney planı şeması Şekil 2.3'te verilmiştir.



Şekil 2.3. Deney planı şeması

2.2.2. Verilerin Analizi

Bu bölümde çalışmada yapılan biyokimyasal analiz, antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarının belirlenmesi, histolojik incelemeler ve istatistiksel analizler verilmiştir.

2.2.2.1. Ratların Vücut Ağırlığı ve Açlık Kan Glukozu Tayini

Ratların vücut ağırlıkları deneyin 0., 8. ve 15. günü olacak şekilde 3 defa Balance marka XPR504S model 0.1 g'a duyarlı hassas tartı ile sabah saat 08:30'da ölçülmüş

ve değerleri kaydedilmiştir. Açlık kan glukoz düzeyleri ise, yine deneyin 0., 8. ve 15. günlerinde sabah saat 08:30'da ratların yemleri verilmeden yani a oldukları saatte kuyruk venlerinden 1-2 damla kan alınarak Accu-Chek Active marka glukometre yardımı ile ölçülmüştür. lm prensibi, ölçüm çubuğundaki glukoz dehidrogenaz kinon proteinin mutant varyantı *Acinetobacter calcoaceticus* enziminin kan örneğindeki glukozu glukonolaktona dönüştürmesi ve bu reaksiyon sonucu oluşan değişimin fotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır. Sonuçlar mg/dL olarak verilmiştir.

2.2.2.2. Biyokimyasal Analiz

Biyokimyasal analizlerde gereken kan numunelerinin alınabilmesi için ratlara 10 mg/kg Xylazine ve 100 mg/kg Ketamin HCl intramuskuler yolla enjekte edilerek (Wellington ve ark., 2013) genel anestezi altına alınmıştır. Kan rnekleri genel anestezi altındaki ratlardan intrakardiyak yöntemle alınmıştır. Bunun için ratlar sırt üstü yatırılarak kalp vuruşunun en güçlü olduğu nokta işaret parmağıyla saptanmış ve iğne orta hattın hafifçe solunda ksifoid kıkırdağın altına batırılmıştır. Kalbe girmek için enjektör horizontal akstan sternuma 20-30 derecede ilerletilerek hafifçe aspire edilmiş, kan yavaşça ekilmıştir (şekil 2.4). Her bir rattan 3-5 ml kan alınmış, alınan örnekler enjektör yardımıyla serum tüplerine aktarılmıştır. Yaklaşık 20 dk pıhtılaşma süresini takiben Nüve NF 400 model tezgh üstü santrifüj cihazında 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, üstte kalan serum kısmı pastör pipeti yardımıyla alınmış ve ependorf tüplere aktarılmıştır (şekil 2.5).

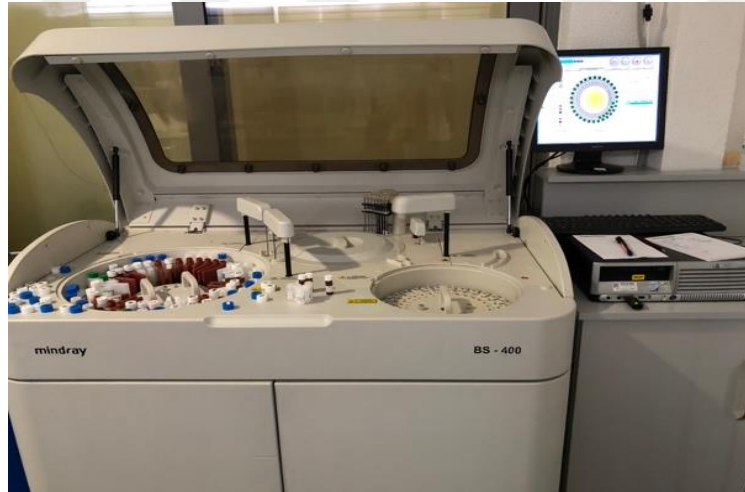


Şekil 2.4. İntrakardiyak kan alınımı



Şekil 2.5. Santrifüj yapılan kan örneği

Ependorf tüpler, analizler yapılana kadar -20 °C’de bekletilmiş ve alınan kan örnekleri soğuk zincir korunarak özel bir laboratuvara götürülmüştür. Numunelerde; serum üre (mg/dL), ürik asit (mg/dL), kreatinin (mg/dL), BUN (mg/dL), albümin (g/dL) ve total protein (g/dL) düzeyleri Mindray BS-400 (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, China) otomatik analiz cihazında ticari kit kullanılarak enzimatik metotla ölçülmüştür (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Biyokimyasal parametrelerin otoanalizator ile analiz edilmesi

2.2.2.3. Böbrek Dokusu Antioksidan Enzim Aktiviteleri ve MDA Miktarının Belirlenmesi

Ratlardan alınan böbrek dokularındaki antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, GPx ve GST) aktiviteleri ve MDA miktarının belirlenmesi aşaması Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Mikroteknik Laboratuvarı'nda yapılmış ve bu süreçte kullanılan tüm kimyasal malzemeler prosedürlere uygun olacak şekilde deneye başlamadan önce hazırlanarak, bu laboratuvarda bulunan buzdolabı koşullarında saklanmıştır.

2.2.2.3.1. SOD Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD enzim aktivitesini belirlemek için Marklund ve Marklund'un (1974) geliştirdiği yöntemden yararlanılmıştır. Ölçüm için plastik küvetlere Tris-EDTA, pyrogallol, enzim örneği ve distile su konarak sırayla spektrofotometrede 440 nm'de 180 saniye sürede kinetik olarak absorbans ölçümü yapılmıştır (Şekil 2.7). Yapılan hesaplamalardan sonra SOD aktivitesi U/mg protein olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.7. Spektrofotometrede analizlerin yapılması

2.2.2.3.2. CAT Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

CAT aktivitesinin belirlenmesi için Aebi (1984) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Hayvanlardaki CAT enzimi öncelikle peroksizomlarda bulunmaktadır. Bu enzimi ölçmek için quartz küvetlere numune örneği, Triton-X-100 distile su ve fosfat tamponu eklenerek 60 saniye süre ile 240 nanometrelik kinetik absorbans ölçümü yapılmıştır. Yapılan hesaplamalardan sonra katalazın enzim aktivitesi nmol/mg protein olarak gösterilmiştir.

2.2.2.3.3. GPx Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Paglia ve Valentine (1987) tarafından geliştirilmiş olan yöntem ile GPx aktivitesi tayin edilmiştir. Sitoplazma ve mitokondrilerde bulunan bu enzimin aktivitesini ortaya çıkarmak için cam (quartz) küvetlere numune, glutatyon redüktaz, redükte glutatyon, Tris HCl ve NADPH eklenerek 340 nanometrede 180 saniyede kinetik absorbans ölçümü yapılmıştır. Yapılan hesaplamalardan sonra GPx enzim aktivitesi nmol/mg protein olarak gösterilmiştir.

2.2.2.3.4. GST Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

GST enzim aktivitesi Habig ve ark.'nın (1974) belirttiği yöntem ile tayin edilmiştir. Ksenobiyotik biyotransformasyonunda görev alan bu enzimin aktivitesinin belirlenmesi için cam (quartz) küvetlere redükte glutatyon, fosfat tamponu, 1-chloro-2,4dinitrobenzen (CDNB) ve numune ilave edilerek 340 nanometrede 120 saniyede kinetik absorbans ölçümü yapılmıştır. Yapılan hesaplamalardan sonra GST enzim aktivitesi $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak gösterilmiştir.

2.2.2.3.5. MDA Miktarının Belirlenmesi

MDA miktarının saptanması; Ohkawa ve ark.'nın (1979) geliştirdiği, TBA ile lipid peroksidasyonunun reaksiyona girmesi ile son ürün olarak meydana gelen MDA miktarının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. MDA ölçümü için hazırlanan çözeltiye tiyobarbitürik asit eklenmiş olup, karışım spektrofotometrede 532 nm'de plastik küvetlerde fotometrik olarak absorbansı okutulmuştur. Yapılan hesaplama sonrasında oluşan MDA miktarı nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.2.2.4. Histolojik İncelemeler

Böbrek histolojisinin patoloji incelemeleri için örnekler ratlar disekte edildikten sonra muhafaza edilmiştir. Dokular %10'luk formalin ve bouin fiksatifi içinde 24 saat tespit işleminin ardından farklı konsantrasyondaki alkol çözeltilerinde dehidrasyon işlemine tabii tutulmuşlardır. Numuneler ksilol ile temizlendikten sonra parafine gömölme işlemi yapılmıştır. Parafin bloklar halinde gömülen böbrek dokularından mikrotom aleti aracılığıyla 5-6 mikron kalınlığında kesitler alınmıştır. Daha sonra doku kesitleri standart histolojik boyama metodu olan hemotoksilen-eozin ile boyanarak Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelenmiştir (şekil 2.8). İncelenen preparatlardan ışık mikroskobuna entegre Olympus-E-330 kamera ile bu doku örneklerinin fotoğrafları çekilmiştir. Tüm kesitler farklı histolojik değişiklikler ačíısından ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir. İncelenilen bu değeriklikler; glomerular dejenerasyon, tübüler dejenerasyon, glomerular atrofi, glomerular lobulasyon, hücre infiltrasyonu, Bowman kapsülünde genişleme, hemoraji, ödem, nekrozdur. Her grupta en az 20 adet böbrek dokusu preparatı incelenerek patolojik bulguların şiddetine göre yok (-), az (+), orta (++), çok (+++) olarak belirtilmiş ve çizelgeye kaydedilmiştir.



Şekil 2.8. Böbrek dokusundan mikroskop incelemeleri için alınan kesitler

2.2.2.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Her grupta verilerin parametrik koşulları yerine getirip getirmediğini inceleyebilmek için normal dağılıma uygunluk varyans homojenliği testi olan One-Sample Kolmogorov-Smirnov Testi ile yapılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde parametrik olan verilerin karşılaştırması yapılırken T-Testi ve One-Way ANOVA (tek yönlü varyans analizi) testi kullanılırken, post test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Non-parametrik verilerde ise Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Tekrarlı ölçümlerde (vücut ağırlığı ve açlık kan glukoz seviyesi) ANOVA Friedman testi kullanılarak; ölçüm zamanı, grup ve ölçüm zamanı-grup ortak etkisi bakımından anlamlı farklılıklar değerlendirilmiştir. Friedman testinde; Wilcoxon testi ve Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Sonuçlar %95'lik güven aralığında değerlendirilerek ortalama±standart sapma ($\bar{X} \pm SS$) olarak ifade edilmiş olup, $p < 0.05$ ve $p < 0.001$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Ratların Vücut Ağırlığı, Açlık Kan Glukozu ve Besin Tüketim Durumları

Ratların deney başlamadan önce (0. gün), deneyin ortasında (8.gün) ve deneyin son günü (15. gün) ölçülen vücut ağırlığı (g) ve açlık kan glukozu (mg/dL) miktarları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Deney başlangıcında her iki parametre de gruplar arasında homojen bir dağılım göstermektedir. Gruplar karşılaştırıldığında yalnızca 8. gün açlık kan glukozu seviyesinin kontrol grubu ile HSP grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği bulunmuştur ($p<0.05$). Bununla birlikte hem vücut ağırlığı hem de açlık kan glukozu parametrelerinin sıralı ölçümlerinde grup içindeki değişimlerine bakıldığında; HSP grubu dışındaki tüm gruplarda anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Vücut ağırlığı ölçümlerinde yalnızca ölçüm zamanına göre anlamlı fark bulunurken ($p_{\text{zaman}}<0.001$), gruplar arası ($p_{\text{grup}}>0.05$) ve ölçüm zamanı-grup ortak etkisi değerlendirildiğinde ise anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p_{\text{zaman} \times \text{grup}}>0.05$). Açlık kan glukozu ölçümlerinde hem ölçüm zamanı ($p_{\text{zaman}}<0.001$) hem de ölçüm zamanı-grup ortak etkisi bakımından anlamlı farklılık saptanmış olup ($p_{\text{zaman} \times \text{grup}}<0.001$), tek başına grup etkisinin ise anlamlı farklılığı bulunmamaktadır ($p_{\text{grup}}>0.05$). Tüm ratların araştırmanın başlangıcı, 8. gün ve 15. gündeki vücut ağırlığı ortalamaları ($p<0.05$) ve açlık kan glukozu ortalamalarının ($p<0.001$) arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Vücut ağırlığı değişim yüzdelere bakıldığında (15. gün ölçüm ile 0. gün ölçüm farkı) en çok ağırlık kaybının QUE grubunda (%-3.9), en az ise CP grubunda (%-1.7) olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.1. Ratların deneyin 0., 8. ve 15. günündeki vücut ağırlıkları ve açlık kan glukozu değerleri (Tek yönlü ANOVA, Friedman testi, Paired-sample t testi)

Gruplar	Parametre	0. gün $\bar{X} \pm SS$	8. gün $\bar{X} \pm SS$	15. gün $\bar{X} \pm SS$	Ortalama $\bar{X} \pm SS$	Değişim Yüzdesi (%)	P
Kontrol	Vücut Ağırlığı (g)	392.8±44.34	370.8±40.65	383.8±42.69	382.5±42.27	-2.3	<0.05
	AKG (mg/dL)	92.2±2.64	84.0±3.74 ^A	86.3±9.00	87.5±4.63		<0.05
QUE	Vücut Ağırlığı (g)	411.0±59.39	385.8±53.95	395.0±53.65	397.3±55.11	-3.9	<0.05
	AKG (mg/dL)	97.3±7.82	93.5±8.50 ^{AB}	90.3±5.35	93.7±7.06		<0.05
HSP	Vücut Ağırlığı (g)	427.8±40.74	398.5±58.11	423.3±58.70	416.6±50.40	-2.6	>0.05
	AKG (mg/dL)	98.7±9.67	96.8±8.54 ^B	93.0±9.92	96.2±8.70		>0.05
CP	Vücut Ağırlığı (g)	425.7±50.59	405.3±39.60	424.3±36.91	418.4±41.34	-1.7	<0.05
	AKG (mg/dL)	95.3±6.92	85.8±6.52 ^{AB}	101.2±12.37	94.1±8.32		<0.05
QUE+CP	Vücut Ağırlığı (g)	437.7±51.09	422.0±51.80	428.3±51.81	429.3±51.35	-1.9	<0.05
	AKG (mg/dL)	101.8±2.23	89.8±6.88 ^{AB}	98.5±8.46	96.7±5.75		<0.001
HSP+CP	Vücut Ağırlığı (g)	437.5±32.79	417.3±32.88	428.3±29.96	427.7±31.50	-2.2	<0.05
	AKG (mg/dL)	98.5±8.22	91.7±7.17 ^{AB}	96.2±5.27	95.4±6.44		<0.05
P	Vücut Ağırlığı (g)	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05		
	AKG (mg/dL)	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05		

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

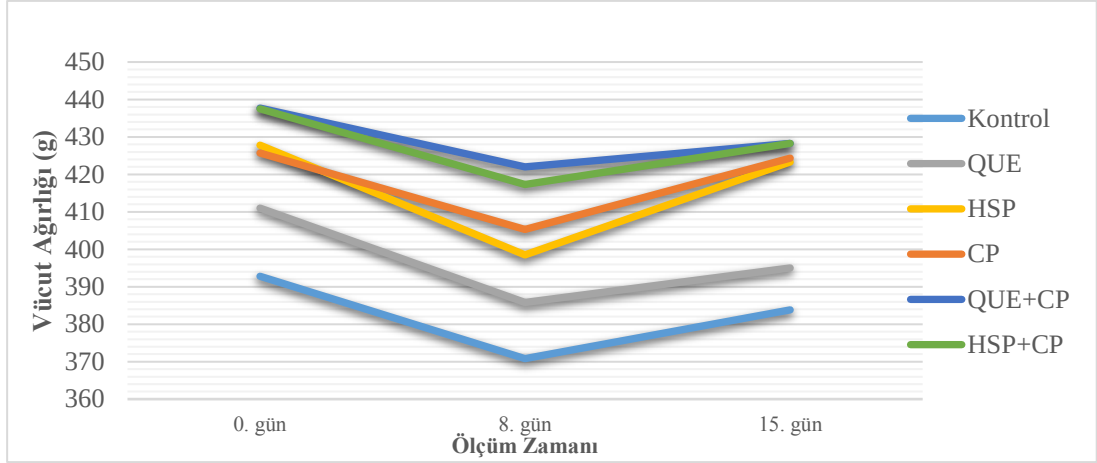
AKG: Açlık kan glukozu

A, B: gruplar arasındaki 8. gün açlık kan glukozu seviyesindeki anlamlı farklılığı göstermektedir.

Vücut ağırlığı ölçümlerinin deney süresince değişme durumu ikili karşılaştırma yöntemi ile değerlendirildiğinde; (Vücut ağırlığı ölçümü: VA, 0. gün: 1, 8. gün: 2, 15.gün: 3 olarak belirtilmiştir) $VA_{12}(35)=7.28$, $p:0.000$, $VA_{13}(35)=2.78$, $p:0.009$, $VA_{23}(35)=-6.96$, $p:0.000$ olacak şekilde anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur. Gruplar kendi içinde ikili karşılaştırma yöntemi ile analiz edildiğinde ise, kontrol grubunda; $VA_{12}(5)=5.50$, $p:0.003$, $VA_{13}(5)=2.78$, $p:0.039$, $VA_{23}(5)=-3.57$, $p:0.016$, QUE grubunda; $VA_{12}(5)=3.63$, $p:0.015$, $VA_{23}(5)=-4.26$, $p:0.008$, HSP grubunda; $VA_{23}(5)=-3.58$, $p:0.016$, CP grubunda; $VA_{12}(5)=3.67$, $p:0.014$, $VA_{23}(5)=-2.90$, $p:0.034$, QUE+CP grubunda; $VA_{12}(5)=4.44$, $p:0.007$, HSP+CP grubunda; $VA_{12}(5)=5.05$, $p:0.004$, $VA_{23}(5)=-5.75$, $p:0.002$ anlamlı farklılıklar bulunmuştur.

Açlık kan glukozu sıralı ölçümlerinde ikili karşılaştırma yöntemi ile istatistik analiz yapıldığında; (Açlık kan glukozu ölçümü: AKG, 0. gün: 1, 8. gün: 2, 15. gün: 3 olarak belirtilmiştir) $AKG_{12}(35)=8.39$, $p:0.000$, $AKG_{13}(35)=2.51$, $p:0.017$, $AKG_{23}(35)=-2.83$, $p:0.008$ olacak şekilde anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur. Gruplar kendi içinde ikili karşılaştırma yöntemi ile analiz edildiğinde ise, kontrol grubunda; $AKG_{12}(5)=6.54$, $p:0.001$, QUE grubunda; $AKG_{12}(5)=3.56$, $p:0.016$, $AKG_{13}(5)=4.09$, $p:0.009$, CP grubunda; $AKG_{12}(5)=7.40$, $p:0.001$, $AKG_{23}(5)=-5.10$, $p:0.004$, QUE+CP grubunda; $AKG_{12}(5)=5.86$, $p:0.002$, $AKG_{23}(5)=-9.83$, $p:0.000$ HSP+CP grubunda; $AKG_{12}(5)=3.97$, $p:0.011$, $AKG_{23}(5)=-2.88$, $p:0.035$ anlamlı farklılıklar bulunmuştur. HSP grubunda ise ölçümler arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

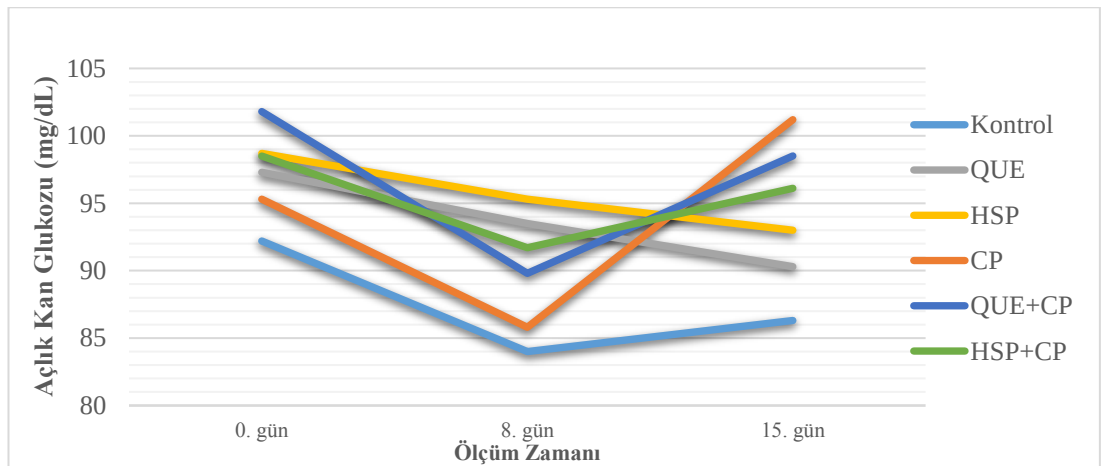
Çalışmada müdahale süresi boyunca ratların vücut ağırlığındaki ortalama değişim Şekil 3.1’de verilmiştir. Bu grafiğe göre, ratların 8. günde ağırlıklarında azalmalar olduğu, 15. günde ise artış olmasına rağmen başlangıç ağırlıklarına ulaşamadıkları görülmektedir.



Şekil 3.1. Ratların deney süresi boyunca ortalama vücut ağırlığı ölçümleri

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

Ratların deney süresi boyunca ortalama açlık kan glukoz değerleri Şekil 3.2’de verilmiştir. Kan glukoz seviyesinin 2. ölçümde (8.gün) tüm gruplarda azaldığı görülmektedir. QUE ve HSP grupları haricindeki diğer grupların 15. gün ölçümlerinde ise bir artış gerçekleşmiştir. QUE ve HSP takviyesi verilen grupların ise kan glukoz seviyesi son ölçümde düşmeye devam etmiştir. Yalnızca CP grubunda ilk ölçüme göre son kan glukoz seviyesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Son ölçümde en yüksek kan glukoz seviyesinin sırasıyla CP grubunda olduğu, bunu QUE+CP, HSP+CP, kontrol, QUE ve HSP gruplarının takip ettiği belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Ratların deney süresi boyunca ortalama açlık kan glukozu ölçümleri

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

Ratların deney süresince günlük tükettikleri ortalama besin miktarı (g/gün) ve enerji alımı miktarı (kkal/gün) ile çalışma sonunda belirlenen böbrek ağırlıkları Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Ratların deney süresince günlük besin tüketimi ve enerji alımı miktarları

	Yem Tüketim Miktarı (g/gün)*	Enerji Alımı (kkal/gün)*	Böbrek Ağırlığı (g)
	$\bar{X}$	$\bar{X}$	$\bar{X} \pm SS$
Kontrol	19.1	63.4	1.88±0.20
QUE	19.9	66.1	1.97±0.39
HSP	20.8	69.0	1.90±0.29
CP	20.9	69.4	2.03±0.16
QUE+CP	21.5	71.4	2.32±0.24
HSP+CP	21.4	71.1	2.33±0.22
Ortalama	20.6	68.4	2.07±0.31

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

* Her kafeste bulunan 6 hayvanın toplam besin tüketiminden hesaplanmıştır.

Gruplara göre günlük ortalama yem tüketim miktarları, en az kontrol grubunda 19.1 g, en fazla QUE+CP grubunda 21.5 g olarak bulunmuştur. Günlük ortalama enerji alımı miktarlarına bakıldığında, yem tüketim miktarlarına paralel olarak en az kontrol (63.4 kkal/gün), en fazla QUE+CP grubunun (71.4 kkal/gün) enerji aldığı hesaplanmıştır. Yem tüketim miktarı ve enerji alımı miktarı gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Ratların böbrek ağırlıklarına bakıldığında; en düşük ağırlığın kontrol grubunda (1.88 g), en yüksek ağırlığın ise HSP+CP grubunda (2.33 g) olarak bulunmuştur. Böbrek ağırlıkları bakımından grupların arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$).

3.2. Ratların Serum Biyokimyasal Parametrelerine İlişkin Bulgular

Ratların biyokimyasal parametrelerine ilişkin bulgular Çizelge 3.3’te verilmiştir. Bu çizelgeye göre albümin dışındaki tüm biyokimyasal parametrelerde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN

ve total protein düzeylerinin CP grubunda diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. En yüksek serum albümin düzeyi ise HSP+CP grubundadır. Ratların serum üre düzeyinin, CP grubu ile kontrol ($p<0.05$), QUE ($p<0.05$) ve HSP ($p<0.05$) grupları arasında; HSP+CP grubu ile kontrol ($p<0.05$), QUE ($p<0.05$) ve HSP ($p<0.05$) grupları arasında anlamlı farklılık gösterdiği bulunmuştur. Serum ürik asit düzeyine bakıldığında; CP grubu ile kontrol ($p<0.001$), QUE ($p<0.001$) ve HSP ($p<0.05$) grupları arasında; HSP grubu ile QUE+CP ($p<0.05$), HSP+CP ($p<0.05$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık olduğu bulunmuştur. Serum kreatinin düzeyi incelendiğinde; CP grubu ile kontrol ($p<0.05$), QUE ($p<0.05$) ve HSP ($p<0.05$) grupları arasında; HSP+CP grubu ile kontrol ($p<0.001$), QUE ($p<0.05$) ve HSP ($p<0.001$) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Serum BUN düzeyi açısından karşılaştırıldığında; CP grubu ile kontrol ($p<0.05$), QUE ($p<0.001$) ve HSP ($p<0.001$) gruplarının arasında ve HSP+CP grubu ile QUE ($p<0.05$) ve HSP ($p<0.05$) grupları arasında anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur. Serum albümin düzeyi bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır ($p>0.05$). Serum total protein düzeyine bakıldığında; CP grubu ile QUE ($p<0.05$) grubu arasında anlamlı farklılık olduğu görülmektedir.

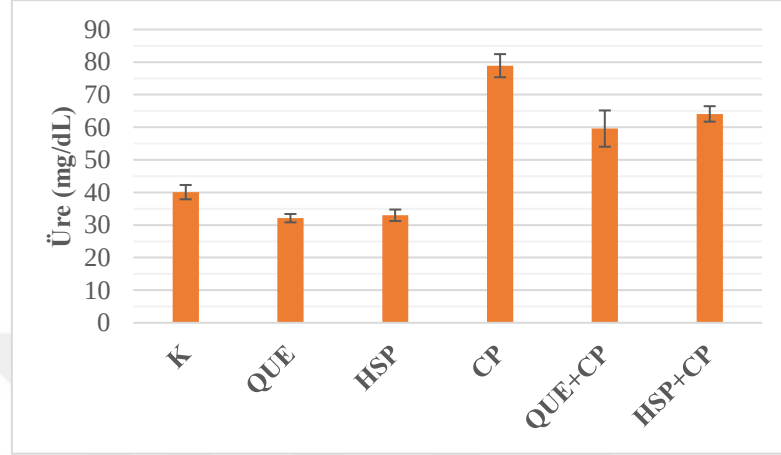
Çizelge 3.3. Ratların biyokimyasal parametre sonuçları (Tek yönlü ANOVA)

	Kontrol	QUE	HSP	CP	QUE+CP	HSP+CP	Ort	p
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Üre (mg/dL)	40.1 $\pm$ 5.39 ^a	32.1 $\pm$ 3.12 ^a	33.0 $\pm$ 4.32 ^a	78.9 $\pm$ 8.71 ^b	59.6 $\pm$ 13.65 ^{ab}	64.1 $\pm$ 5.80 ^b	51.3 $\pm$ 19.07	<0.05
Ürik asit (mg/dL)	0.78 $\pm$ 0.20 ^{ac}	0.68 $\pm$ 0.14 ^{ac}	0.62 $\pm$ 0.19 ^a	1.27 $\pm$ 0.35 ^b	1.00 $\pm$ 0.19 ^{bc}	1.03 $\pm$ 0.20 ^{bc}	0.90 $\pm$ 0.31	<0.05
Kreatinin (mg/dL)	0.98 $\pm$ 0.15 ^a	0.96 $\pm$ 0.08 ^a	0.94 $\pm$ 0.12 ^a	2.21 $\pm$ 0.36 ^b	1.55 $\pm$ 0.50 ^{ab}	1.89 $\pm$ 0.26 ^b	1.42 $\pm$ 0.57	<0.05
BUN (mg/dL)	18.7 $\pm$ 2.52 ^{ac}	15.8 $\pm$ 2.07 ^a	16.2 $\pm$ 2.42 ^a	39.3 $\pm$ 14.15 ^b	27.5 $\pm$ 7.27 ^{abc}	32.5 $\pm$ 12.89 ^{bc}	25.0 $\pm$ 11.94	<0.05
Albümin (g/dL)	3.04 $\pm$ 0.50	3.00 $\pm$ 0.39	3.08 $\pm$ 0.22	3.04 $\pm$ 0.19	3.26 $\pm$ 0.54	3.28 $\pm$ 0.26	3.12 $\pm$ 0.36	>0.05
Total protein (g/dL)	6.14 $\pm$ 0.56 ^{ab}	5.81 $\pm$ 0.62 ^a	6.39 $\pm$ 0.66 ^{ab}	7.27 $\pm$ 0.75 ^b	6.54 $\pm$ 0.62 ^{ab}	6.74 $\pm$ 0.76 ^{ab}	6.48 $\pm$ 0.77	<0.05

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

a, b, c; gruplar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

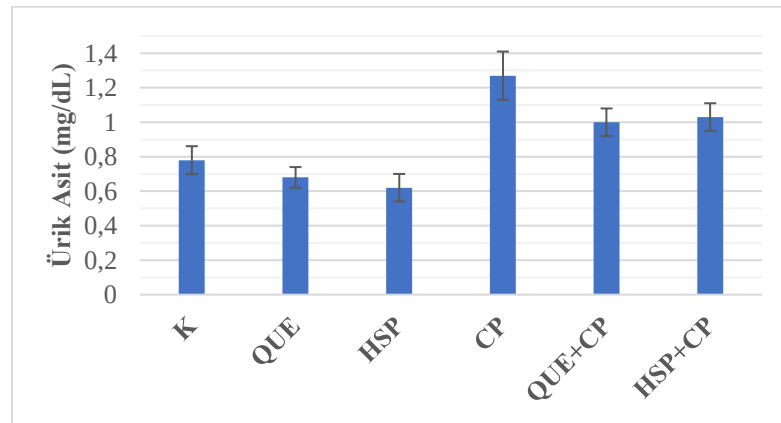
Ratların serum üre düzeyi Şekil 3.3'te verilmiştir. Buna göre en yüksek üre düzeyi CP grubunda bulunurken, onu sırasıyla HSP+CP ve QUE+CP grupları takip etmektedir. En düşük serum üre düzeyi ise QUE grubundadır.



Şekil 3.3. Ratların serum üre düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

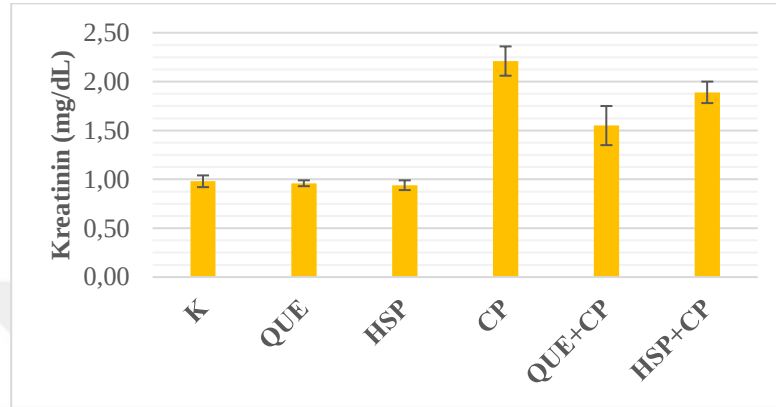
Şekil 3.4'te ratların serum ürik asit düzeyine ait grafik verilmiştir. Bu grafiğe göre en yüksek serum ürik asit düzeyi CP grubunda bulunurken, onu sırasıyla HSP+CP ve QUE+CP grupları takip etmektedir. En düşük serum üre düzeyi ise sırasıyla HSP ve QUE grubunda bulunmuştur.



Şekil 3.4. Ratların serum ürik asit düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

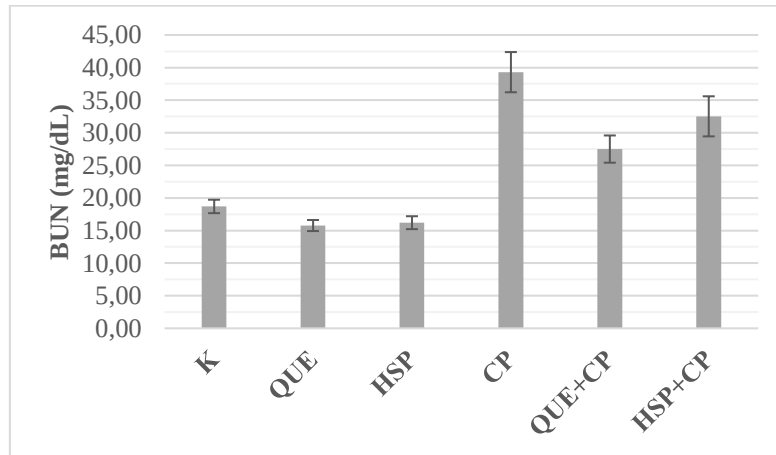
Ratların serum kreatinin düzeyine ait grafik Şekil 3.5'te verilmiştir. Buna göre en yüksek serum kreatinin düzeyi CP grubunda bulunurken, onu sırasıyla HSP+CP ve QUE+CP grupları takip etmektedir. En düşük serum kreatinin düzeyinin ise sırasıyla HSP ve QUE gruplarında olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.5. Ratların serum kreatinin düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

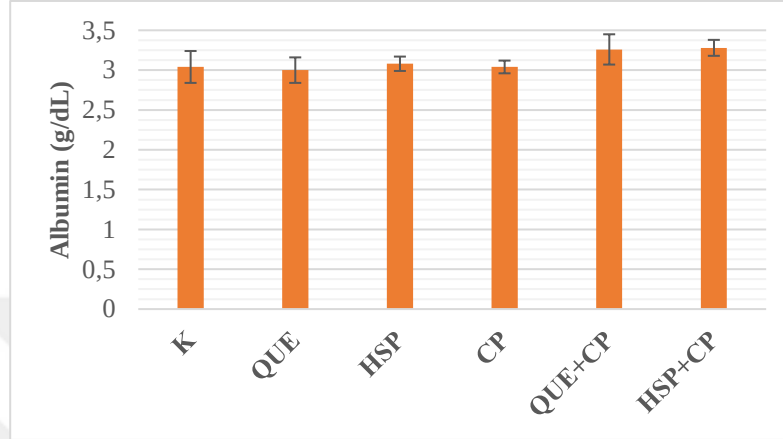
Şekil 3.6'da ratların serum BUN düzeyine ait grafik yer almaktadır. Bu grafiğe göre en yüksek serum BUN düzeyi sırasıyla CP, HSP+CP ve QUE+CP grubunda, en düşük serum BUN düzeyi ise QUE ve HSP grubundadır.



Şekil 3.6. Ratların serum BUN düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

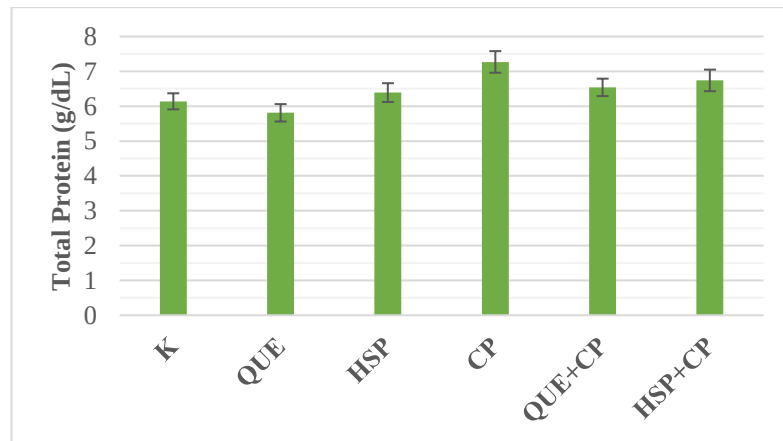
Ratların serum albümin düzeyine ait grafik Şekil 3.7’de verilmiştir. Değerler birbirine oldukça yakın olup, en yüksek serum albümin düzeyinin HSP+CP ve QUE+CP gruplarında olduğu, en düşük serum albümin düzeyinin ise QUE grubunda olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.7. Ratların serum albümin düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

Şekil 3.8’de ratların serum total protein düzeyine ait grafik yer almaktadır. Bu grafiğe göre en yüksek serum total protein düzeyi sırasıyla CP, HSP+CP ve QUE+CP gruplarında bulunmuştur. En düşük serum total protein düzeyi ise QUE ve kontrol grubunda olduğu görülmektedir.



Şekil 3.8. Ratların serum total protein düzeyi

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

3.3. Ratların Böbrek Dokusundaki Antioksidan Enzim Aktivitesi ve MDA Miktarı Sonuçlarına İlişkin Bulgular

Ratların böbrek dokusundaki antioksidan enzim düzeyi ve MDA miktarı sonuçlarına ait veriler Çizelge 3.4'te verilmiştir. Bu çizelgeye göre, tüm parametrelerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardır. SOD ve CAT seviyesi en yüksek HSP grubunda, en düşük CP grubunda bulunurken, GPx ve GST seviyesi en yüksek QUE grubunda ve en düşük CP grubunda bulunmuştur. MDA seviyesi en yüksek CP grubunda, en düşük ise HSP grubunda tespit edilmiştir.

Çizelge 3.4. Ratların böbrek dokusundaki antioksidan enzim ve MDA miktarları (Tek yönlü ANOVA)

	Kontrol	QUE	HSP	CP	QUE+CP	HSP+CP	Ort	p
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	
SOD	69 $\pm 10^{-3}$ ab	86 $\pm 2 \times 10^{-3}$ a	89 $\pm 4 \times 10^{-3}$ a	32 $\pm 4 \times 10^{-3}$ b	55 $\pm 10^{-3}$ ab	60 $\pm 2 \times 10^{-3}$ ab	65 $\pm 3 \times 10^{-3}$ ab	<0.05
CAT	113 $\pm 10^3$ ac	172 $\pm 3 \times 10^3$ a	188 $\pm 6 \times 10^3$ ac	19 $\pm 5 \times 10^2$ b	94 $\pm 2 \times 10^3$ c	98 $\pm 2 \times 10^3$ c	114 $\pm 6 \times 10^3$	<0.05
GPx	29 $\pm 3 \times 10^{-6}$ ac	63 $\pm 22 \times 10^{-6}$ ac	62 $\pm 17 \times 10^{-6}$ a	7 $\pm 4 \times 10^{-6}$ b	23 $\pm 5 \times 10^{-6}$ c	24 $\pm 6 \times 10^{-6}$ c	35 $\pm 24 \times 10^{-6}$	<0.001
GST	45 ± 1.13 acde	67 ± 0.96 a	62 ± 2.30 ac	22 ± 0.65 be	42 ± 0.96 ce	40 ± 0.49 de	46 ± 1.88	<0.001
MDA	56 $\pm 6 \times 10^2$ a	50 $\pm 75 \times 10^2$ a	41 $\pm 15 \times 10^2$ a	122 $\pm 38 \times 10^2$ b	72 $\pm 37 \times 10^2$ a	68 $\pm 41 \times 10^2$ a	68 $\pm 37 \times 10^2$	<0.001

QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

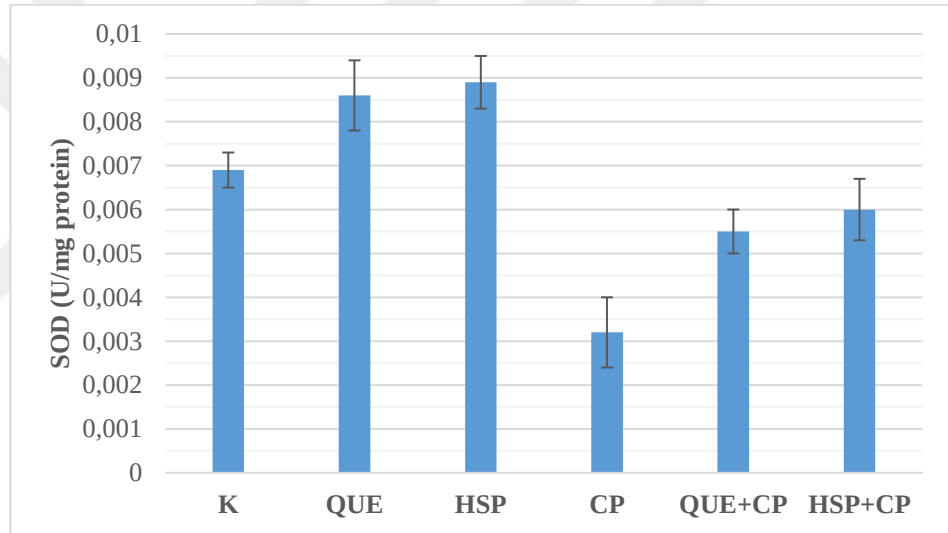
Ortalama değerleri SOD:10⁻⁴U/mg protein, CAT:10²mmol/mg protein, GPx:10⁻⁶nmol/mg protein, GST:10⁻¹µmol/mg protein ve MDA:10²nmol/mg protein olarak verilmiştir.

a, b, c, d, e; gruplar arasındaki anlamlı farklılıkları göstermektedir.

Çizelge 3.4'ten görüldüğü gibi; SOD enzim seviyesinin CP grubu ile QUE (p<0.05) ve HSP (p<0.05) grubu arasında, CAT enzim seviyesinin CP grubu ile kontrol (p<0.001), QUE (p<0.05), HSP (p<0.05), QUE+CP (p<0.05), HSP+CP (p<0.001) grubu arasında ve QUE grubu ile QUE+CP (p<0.05), HSP+CP (p<0.05) grubu arasında anlamlı farklılıklar vardır. GPx enzim seviyesi bakımından; CP grubu ile kontrol (p<0.001), QUE (p<0.05), HSP (p<0.05), QUE+CP (p<0.05), HSP+CP (p<0.05) grubu arasında ve HSP grubu ile QUE+CP (p<0.05), HSP+CP (p<0.05) grubu arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir. GST enzim seviyesinin; CP grubu ile kontrol (p<0.05), QUE (p<0.001), HSP (p<0.001) grubu arasında; QUE

grubu ile QUE+CP ($p<0.05$), HSP+CP ($p<0.05$) grubu arasında ve HSP grubu ile HSP+CP ($p<0.05$) grubu arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur. MDA seviyesinin ise; CP grubu ile kontrol ($p<0.05$), QUE ($p<0.001$), HSP ($p<0.001$), QUE+CP ($p<0.05$), HSP+CP ($p<0.05$) grubu arasında istatistiksel anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

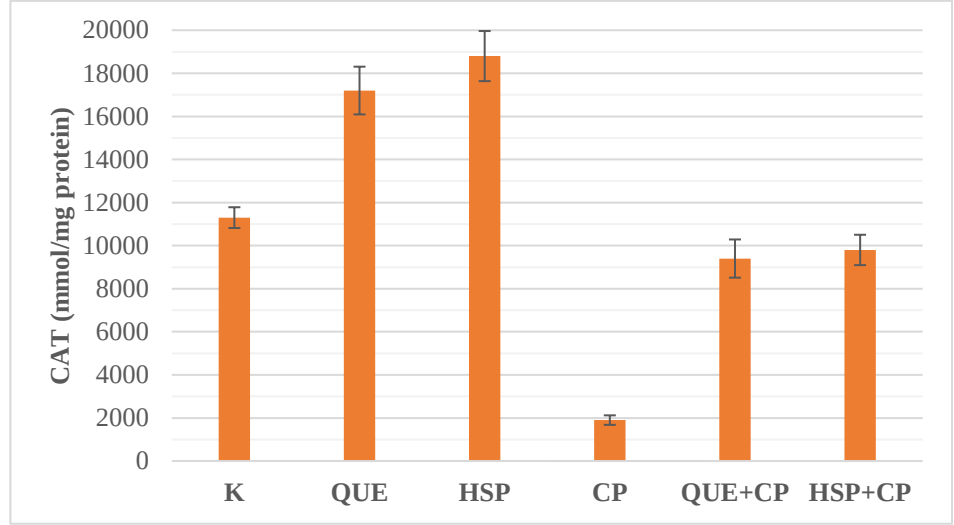
Ratların böbrek dokusundaki antioksidan enzim düzeyi ve MDA miktarı sonuçlarına ait grafikler aşağıda verilmiştir. SOD enzim miktarına ait grafiğe bakıldığında; en düşük CP grubunda, en yüksek HSP grubunda olduğu ve onu QUE grubunun takip ettiği görülmektedir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Ratların böbrek dokusundaki SOD enzim miktarı

K:Kontrol, **QUE:** Quercetin, **HSP:** Hesperidin, **CP:** Siklofosfamid, **QUE+CP:** Quercetin+Siklofosfamid, **HSP+CP:** Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

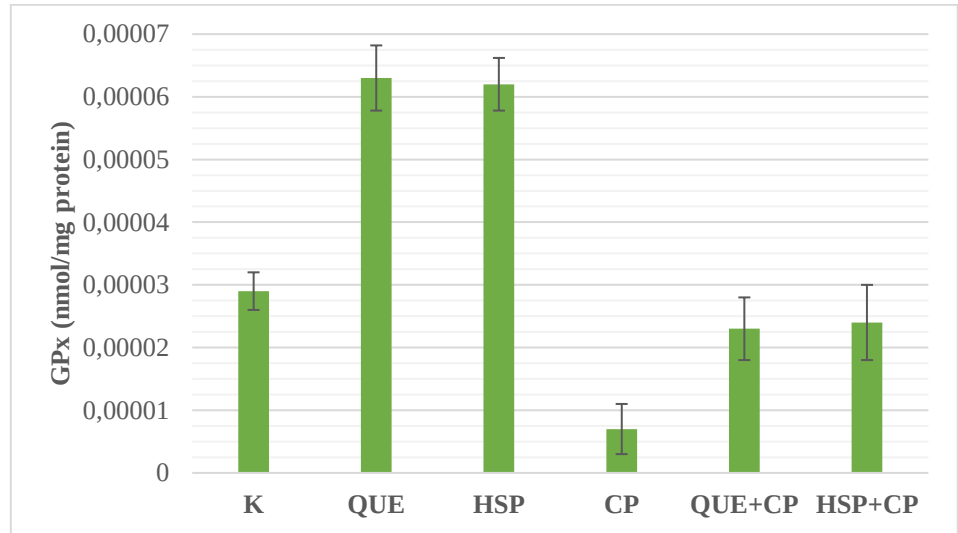
Şekil 3.10'da ratların böbrek dokusundaki CAT enzim düzeyleri verilmiştir. Bu grafiğe göre CAT seviyesi CP grubunda ve onu takip eden QUE+CP ve HSP+CP grubunda en düşükken, HSP grubu ve QUE grubunda en yüksektir.



Şekil 3.10. Ratların böbrek dokusundaki CAT enzim miktarı

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

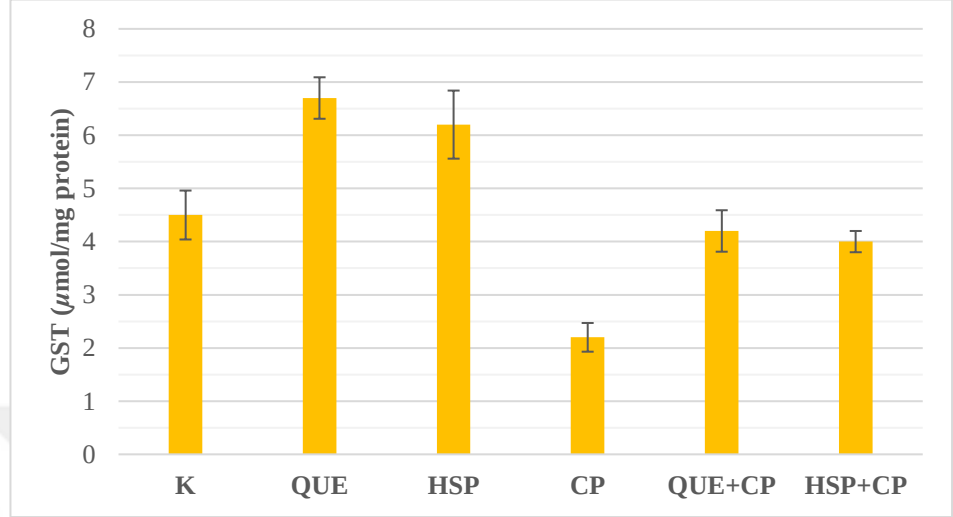
Şekil 3.11’de ratların böbrek dokusundaki GPx enzim düzeyleri verilmiştir. Bu grafiğe göre GPx seviyesi CP grubunda en düşük olup, bunu QUE+CP ve HSP+CP grubunun takip ettiği, QUE grubunda ise en yüksek olduğu ve HSP grubunun takip ettiği görülmektedir.



Şekil 3.11. Ratların böbrek dokusundaki GPx enzim miktarı

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

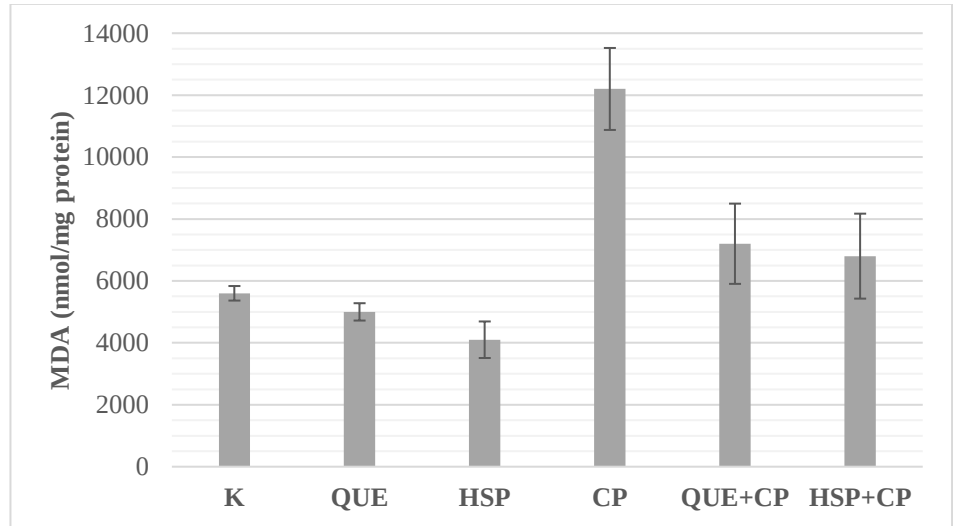
Şekil 3.12’de ratların böbrek dokusundaki GST enzim düzeyleri verilmiştir. Bu grafiğe göre GST enzim seviyesi CP grubunda en düşük, QUE ve HSP grubunda en yüksektir.



Şekil 3.12. Ratların böbrek dokusundaki GST enzim miktarı

K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

Şekil 3.13’te verilen ratların böbrek dokusundaki MDA düzeylerine bakıldığında; HSP ve QUE grubunda en düşük olduğu, sırasıyla CP, QUE+CP ve HSP+CP grubunda en yüksek olduğu görülmektedir.

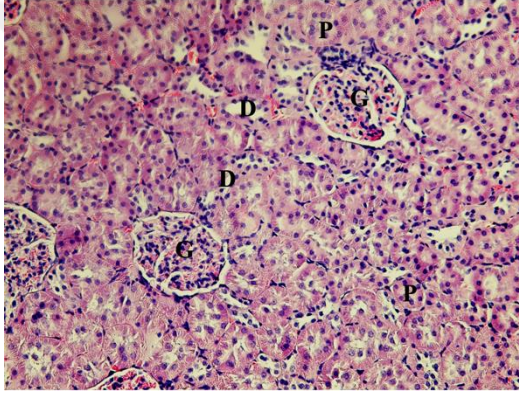


Şekil 3.13. Ratların böbrek dokusundaki MDA miktarı

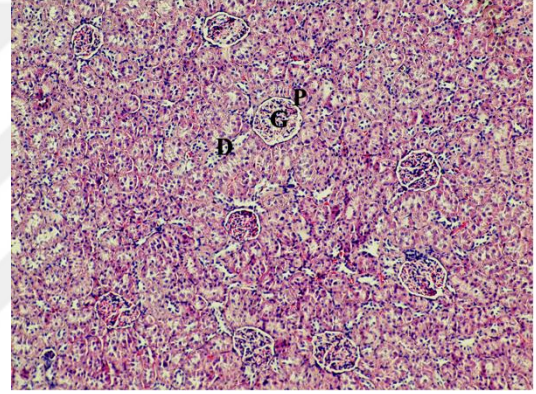
K:Kontrol, QUE: Quercetin, HSP: Hesperidin, CP: Siklofosfamid, QUE+CP: Quercetin+Siklofosfamid, HSP+CP: Hesperidin+Siklofosfamid verilen gruptur.

3.4. Ratların Böbrek Dokusuna Ait Histopatolojik Analizlere İlişkin Bulgular

Deneyin tamamlanmasının ardından ratlardan alınan böbrek dokusu kesitleri ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Bu incelemeler sonucunda kontrol grubunda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Glomerulus, Bowman kapsülü, distal ve proksimal tübüller ve kan damarlarının histolojik açıdan normal görünümde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.14 ve Şekil 3.15). QUE grubu ile HSP grubunun histopatolojik incelemelerinin kontrol grubuna benzer olarak normal bir görünüme sahip olduğu bulunmuştur (Şekil 3.16-3.19).

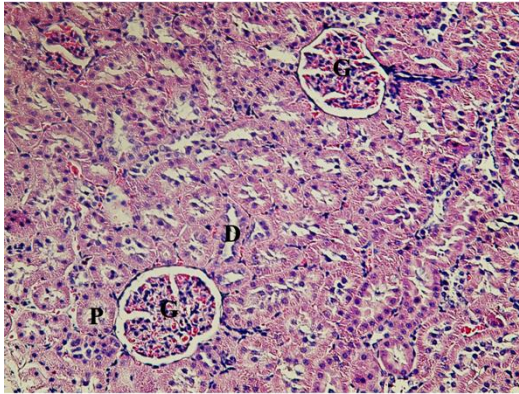


Şekil 3.14. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)

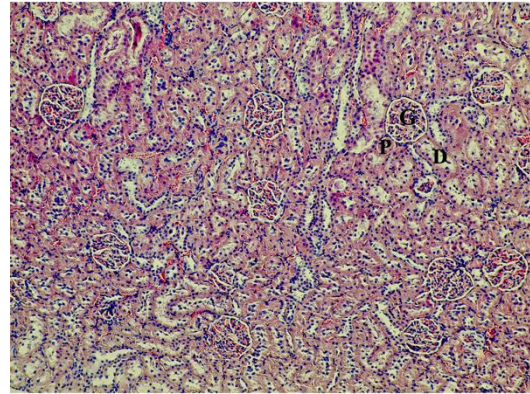


Şekil 3.15. Kontrol grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x100)

(G : Glomerulus, P : Proksimal tübül, D : Distal tübül)

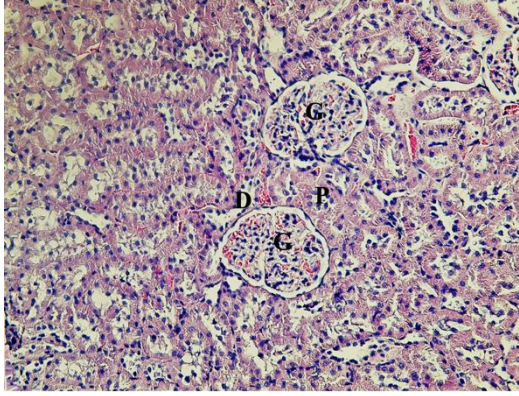


Şekil 3.16. QUE grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)

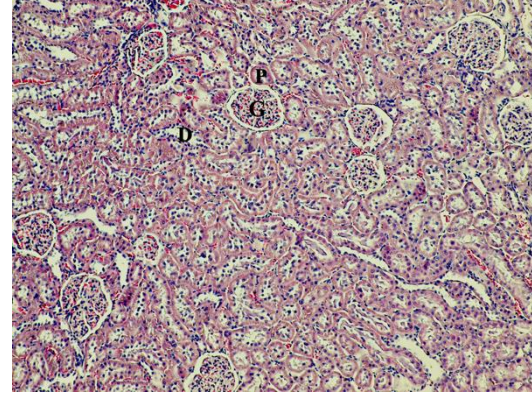


Şekil 3.17. QUE grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x100)

(G : Glomerulus, P : Proksimal tübül, D : Distal tübül)



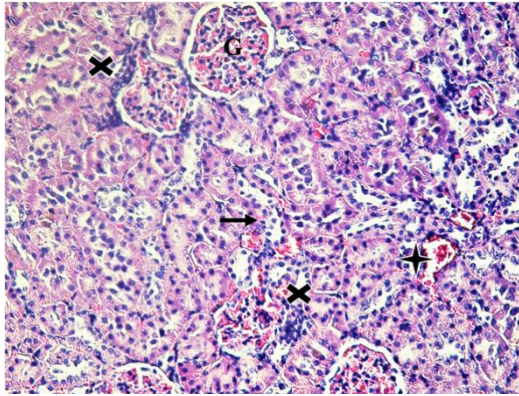
Şekil 3.18. HSP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)



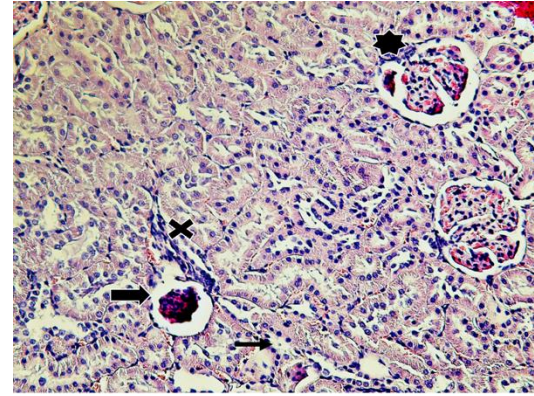
Şekil 3.19. HSP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x100)

(G : Glomerulus, P : Proksimal tübül, D : Distal tübül)

CP verilen ratların böbrek dokularında oldukça şiddetli ve çeşitli histopatolojik değişiklikler olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan incelemelerde hemoraji (Şekil 3.20,3.22-3.25), hücre infiltrasyonu (Şekil 3.20-3.21 ve Şekil 3.24-3.25), glomerular atrofi (Şekil 3.21, Şekil 3.23-3.24), tübüler dejenerasyon (Şekil 3.20-3.22 ve Şekil 3.24), glomerular dejenerasyon (Şekil 3.23), glomerular lobulasyon (Şekil 3.21) olduğu tespit edilmiştir.

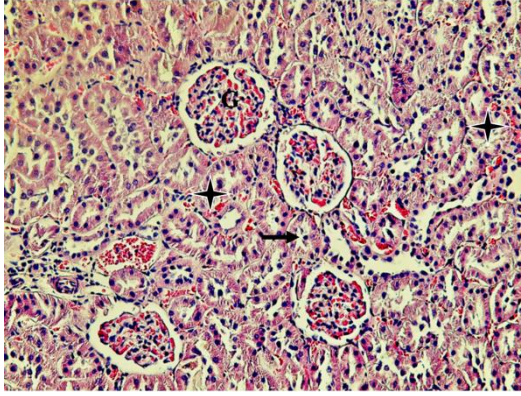


Şekil 3.20. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)

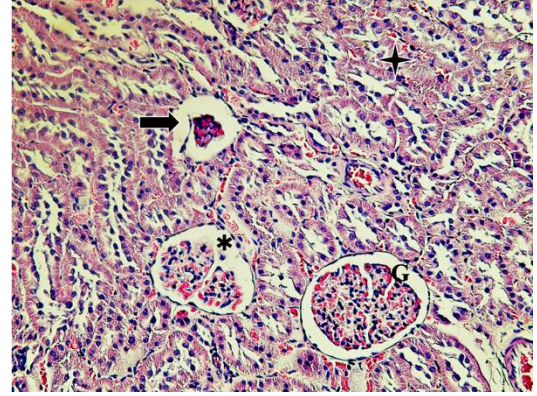


Şekil 3.21. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x200)

(G : Glomerulus, → : Glomerular atrofi, X : Hücre infiltrasyonu, ★ : Glomerular lobulasyon, ✦ : Hemoraji, → : Tübüler dejenerasyon)

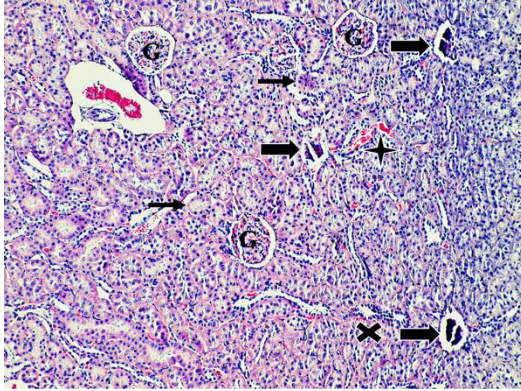


Şekil 3.22. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III (H&E, x200)

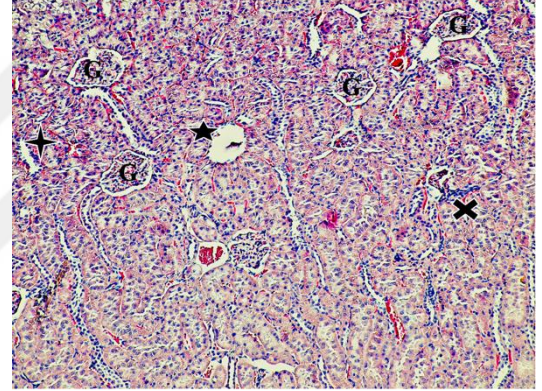


Şekil 3.23. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV (H&E, x200)

(G : Glomerulus, * : Glomerular dejenerasyon, ➡ : Glomerular atrofi, ➡ : Tübüler dejenerasyon, ✦ : Hemoraji)



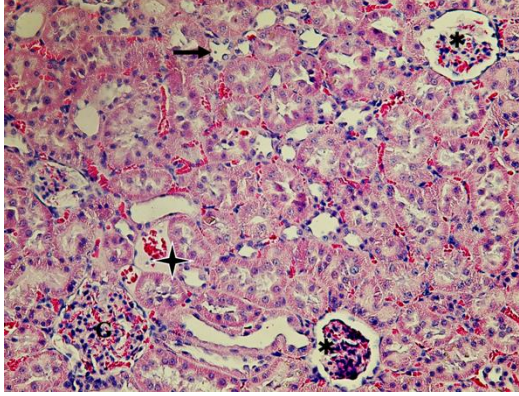
Şekil 3.24. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-V (H&E, x100)



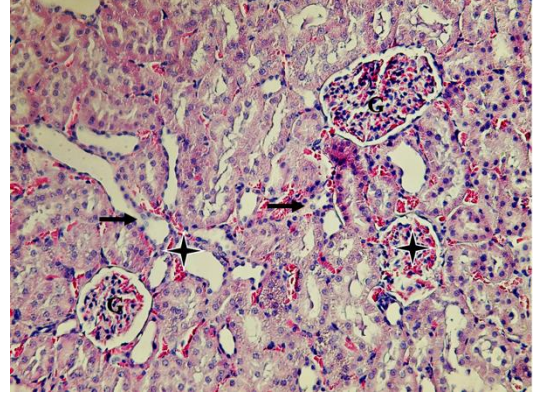
Şekil 3.25. CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-VI (H&E, x100)

(G : Glomerulus, ➡ : Glomerular atrofi, ✕ : Hücre infiltrasyonu, ➡ : Tübüler dejenerasyon, ✦ : Hemoraji, ★ : Nekroz)

QUE+CP grubunda CP grubundaki ratlara benzer ama daha az sayıda ve çeşitlilikte histopatolojik değişiklikler olduğu görülmüştür. Glomerular dejenerasyon (Şekil 3.26), tübüler dejenerasyon (Şekil 3.26-3.29), hemoraji (Şekil 3.26-3.29), hücre infiltrasyonu (Şekil 3.29), ödem (Şekil 3.28) olduğu tespit edilmiştir.

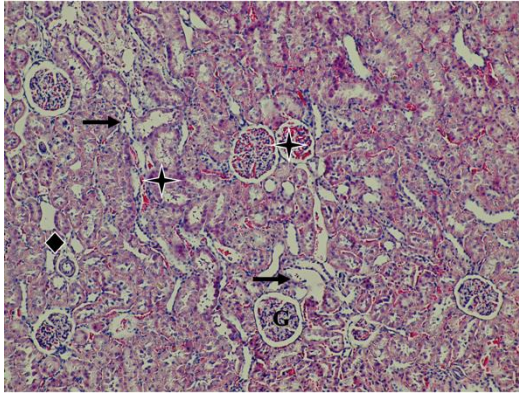


Şekil 3.26. QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)

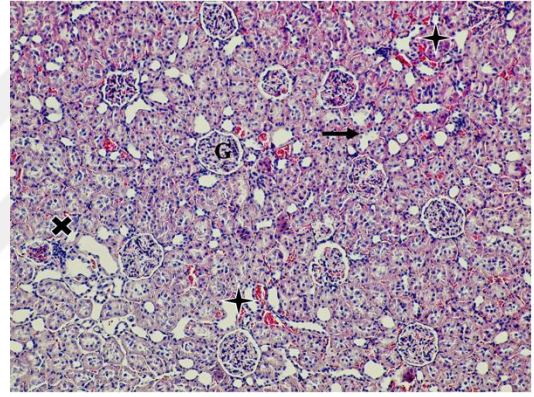


Şekil 3.27. QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x200)

(G : Glomerulus, → : Tübüler dejenerasyon, * : Glomerular dejenerasyon, ★ : Hemoraji)



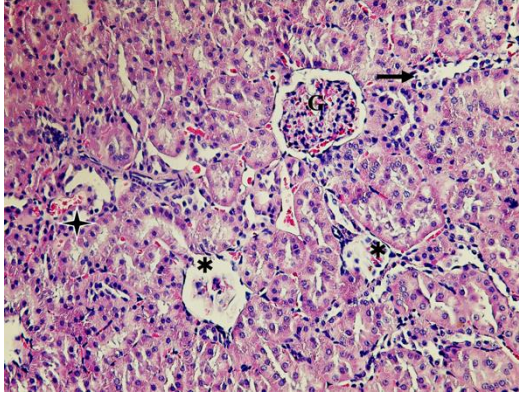
Şekil 3.28. QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III (H&E, x100)



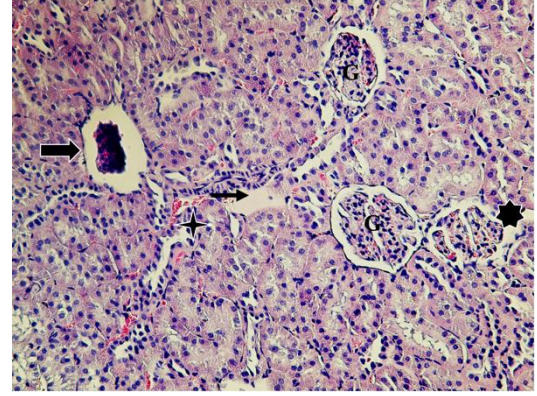
Şekil 3.29. QUE+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV (H&E, x100)

(G : Glomerulus, → : Tübüler dejenerasyon, X : Hücre infiltrasyonu, ★ : Hemoraji, ◆ : Ödem)

HSP+CP grubunda QUE+CP grubuna benzer sayıda ve çeşitlilikte histopatolojik değişiklikler olduğu görülmüştür. Glomerular dejenerasyon (Şekil 3.30 ve Şekil 3.33), tübüler dejenerasyon (Şekil 3.30-3.33), glomerular lobulasyon (Şekil 3.31), glomerular atrofi (Şekil 3.31), hemoraji (Şekil 3.30-3.33), nekroz (Şekil 3.32) olduğu tespit edilmiştir.

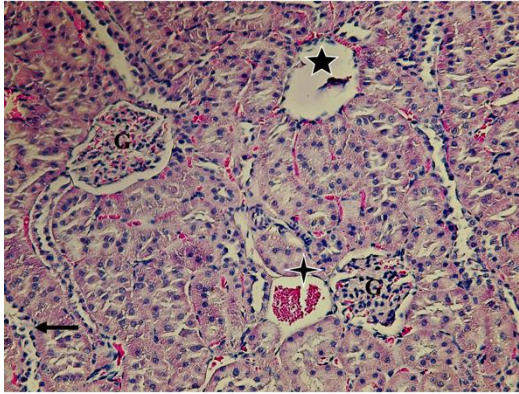


Şekil 3.30. HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-I (H&E, x200)

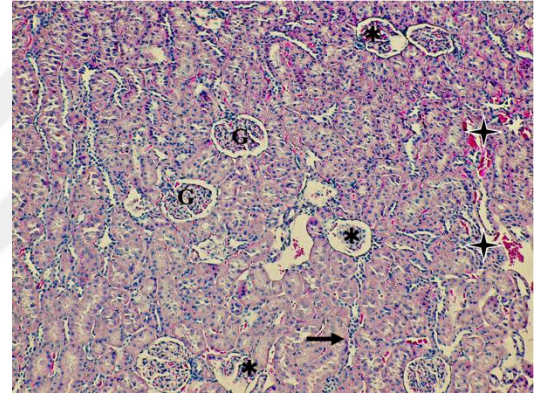


Şekil 3.31. HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-II (H&E, x200)

(G : Glomerulus, * : Glomerular dejenerasyon, ✦ : Glomerular lobulasyon, ➔ : Tübüler dejenerasyon, ✦ : Hemoraji, ➡ : Glomerular atrofi)



Şekil 3.32. HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-III (H&E, x200)



Şekil 3.33. HSP+CP grubundaki ratların böbrek histolojik yapısı-IV (H&E, x100)

(G: Glomerulus, * : Glomerular dejenerasyon, ➔ : Tübüler dejenerasyon, ✦ : Hemoraji, ★ : Nekroz)

Ratların böbrek dokusundaki histopatolojik değişikliklerin derecelendirilmesi çizelge şeklinde verilmiştir (Çizelge 3.5). Buna göre en çok histopatolojik değişiklik CP grubunda bulunurken, bunu QUE+CP ve HSP+CP grupları takip etmiştir. Kontrol grubu, QUE grubu ve HSP grubun da ise herhangi bir histopatolojik değişiklik olmadığı görülmüştür.

Çizelge 3.5. Ratların böbrek dokusundaki histopatolojik değişikliklerin derecelendirilmesi

Histopatolojik Değişiklikler	K	QUE	HSP	CP	QUE+CP	HSP+CP
Glomerular dejenerasyon	-	-	-	++	++	++
Tübüler dejenerasyon	-	-	-	+++	++	++
Glomerular atrofi	-	-	-	+++	-	+
Glomerular lobulasyon	-	-	-	+	-	+
Hücre infiltrasyonu	-	-	-	+++	+	-
Bowman kapsülünde genişleme	-	-	-	+	-	-
Hemoraji	-	-	-	+++	++	++
Ödem	-	-	-	++	+	-
Nekroz	-	-	-	++	-	+

K:Kontrol, **QUE:** Quercetin, **HSP:** Hesperidin, **CP:** Siklofosamid, **QUE+CP:** Quercetin+Siklofosamid, **HSP+CP:** Hesperidin+Siklofosamid verilen gruptur.

-: yok, +: az, ++: orta, +++: çok

4. TARTIŞMA

Bu çalışma *in-vivo* bir çalışma olup, araştırmanın örneklemini 36 adet Wistar albino cinsi rat oluşturmaktadır. Çalışma CP ile indüklenen oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı QUE ve HSP'nin etkilerini incelemek ve histopatolojik açıdan değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Bu çalışmada beslenme ile ilişkili olarak ratların yem tüketim miktarları (g/gün), vücut ağırlıkları (g) ve açlık kan glukozu seviyesinin (mg/dL) yanı sıra plazma biyokimyasal parametrelerinden; serum üre (mg/dL), ürik asit (mg/dL), kreatinin (mg/dL), BUN (mg/dL), albümin (g/dL) ve total protein (g/dL), oksidatif stresin değerlendirilmesi için ise; SOD (U/mg protein), CAT (mmol/mg protein), GPx (nmol/mg protein), GST (µmol/mg protein) antioksidan enzim miktarları ile MDA (nmol/mg protein) düzeyi ve böbrek dokusu fotoğrafları histopatolojik olarak incelenmiştir.

Alkilleyici, güçlü immünosüpressif bir ajan olan CP, kemoterapide sıklıkla kullanılan bir ajandır. CP; meme, mesane, deri, pediatrik maligniteler ve lenfoid dahil olmak üzere farklı kanserlerin tedavisinin yanı sıra; kan ve kemik iliği transplantasyonlarında da yaygın olarak kullanılmaktadır (Chamorro-Cevallos ve ark., 2008; Yu ve ark., 2014). Tümörlerin kemoterapi ilaçlarına karşı geliştirdiği direnç veya bu ilaçların kullanım dozlarının yetersiz kalması durumlarında başta CP olmak üzere pek çok kemoterapi ajanlarının yüksek dozda kullanılması elzem hale gelmektedir. Bu kemoterapi ajanlarından CP'nin yüksek terapötik aktivitesini kısıtlayan en önemli etken oluşturduğu toksik yan etkilerdir. Bu ajan, karaciğerde sitokrom P-450 sisteminde aktivasyon edilmesi gereken prekürsör bir ajandır. İlk olarak 4-hidroksi-siklofosfamid'e aktiflendikten sonra aldofosfamide izomerize edilmektedir. Aldofosfamid vücutta fosforamid hardalı ve akrolein olmak üzere iki ana bileşiğe dönüştürülmektedir. CP'nin toksik etkisi aktif metaboliti olan bu akrolein maddesi ile doğrudan ilişkilidir. Çünkü akrolein organizmada yüksek miktarda serbest radikal oluşumuna, bu da hemorajik sistit başta olmak üzere nefrotoksisite, kardiyotoksisite, gonadal toksisite ve kemik iliği supresyonu gibi pek çok toksisitenin

gelişmesine neden olmaktadır (Atalay, 2014; Hamzeh ve ark., 2018; Rehman ve ark., 2012; Schirmacher, 2019; Sheth ve ark., 2018; Slordal, 2006; Wei ve ark., 2012).

Siklofosamid'in toksisiteye neden olduğu hücresel ve biyokimyasal mekanizmalar tam anlaşılamamakla birlikte, çok sayıda araştırma CP maruziyetinin hücre içi ROS üretimini arttırdığını göstermektedir (Chakraborty ve ark., 2016; Jeelani ve ark., 2017; Liu ve ark., 2019). ROS, organizmada aşırı miktarda üretildiğinde, DNA fragmentasyonunu ve mitokondri ile plazma zarını peroksidatif hasara uğratmakta ve böylece toksisitenin gelişmesine neden olmaktadır (Rehman ve ark., 2012). Çeşitli çalışmalarda CP ile indüklenen oksidatif hasar üzerine bazı antioksidanların etkileri rapor edilmiştir. CP kaynaklı nefrotoksisite, hepatoksisite, nörotoksisite, akciğer toksisitesi ve renal toksisite üzerine yapılan çalışmalarda ağırlıklı olarak incelenen besin bileşenlerinden; E vitamini, Se, çinko, resveratrol, Koenzim Q₁₀, melatonin, propolis ve bazı esansiyel yağ asitlerinin koruyucu etkilerine odaklandığı görülmektedir (Akyol ve ark., 2016; Attia ve ark., 2023; Ayza ve ark., 2022; Estakhri ve ark., 2013; Gunes ve ark., 2018; Sheweita ve ark., 2016; Torabi ve ark., 2017). Bunlara ek olarak; Temel ve ark., (2020) tarafından CP'nin neden olduğu böbrek ve karaciğer hasarında flavon madde olan krisin'in koruyucu etkilerinin olduğu ve Çelebi ve ark., (2014) tarafından CP kaynaklı mesane dokusu hasarında rutin koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada kullanılan antioksidan maddeler olan QUE ve HSP ile yapılan çalışmaların ağırlıklı olarak böbrek dokusundan farklı dokular üzerindeki etkilerin incelenmesi amacıyla yapıldığı görülmektedir. Literatürde CP ile indüklenmiş deney hayvanlarında; QUE'in etkilerinin kalp, akciğer, karaciğer, yumurtalık dokularında (Barberino ve ark., 2022; Gedikli ve Şengül, 2019; Gelen ve ark., 2021; Şengül ve ark., 2017), HSP'nin etkilerinin ise; beyin, akciğer, mesane ve karaciğer dokularında daha yoğun olarak çalışıldığı görülmüştür (El-Beheiry ve ark., 2023; Elhelaly ve ark., 2019; Fouad ve ark., 2014; Khedr, 2015; Mahmoud, 2014). Literatürde CP'nin neden olduğu böbrek hasarı ve disfonksiyonuna karşı QUE (Kocahan ve ark., 2017) ve HSP'nin (Fouad ve ark., 2021) koruyucu mekanizmasını araştıran yalnız iki çalışma bulunabilmektedir.

Siklofosfamid'in de içinde yer aldığı alkilleyici tipte antineoplastik ajanlar sınıfı çoğunlukla böbrek fonksiyonlarını doğrudan etkilemektedir (Dos Santos ve ark., 2020). Serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN, albümin ve total protein böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan parametrelerdir (Anandan ve Subramanian, 2012). Üre; protein katabolizmasının son ürünüdür (Dabla, 2010). BUN; serum veya plazmadaki kan üre nitrojen konsantrasyonunu kantitatif olarak belirlemek için kullanılan bir parametre olup, organizmada böbreklerden atılan bir metabolik atık ürünüdür (Dobrek ve ark., 2017). BUN için üst sınırın 30 mg/dL olduğu bilinmektedir. Kandaki artan üre ve dolayısıyla artan BUN düzeyi; organizmada protein katabolizmasının arttığı ve böbrek fonksiyonlarında bozukluk olduğunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (Temel ve ark., 2020). Bununla birlikte yüksek kan üre ve BUN düzeyinin; artmış doku hasarı veya bozulmuş idrar atılımından kaynaklandığı bildirilmektedir (Mahipal ve Pawar, 2017).

Ürik asit; normal referans aralıklarında, insan sağlığı için antioksidan ve proinflamatuvar özelliklere sahip faydalı bir moleküldür ve hatta sitokinler ile büyüme faktörleri salgılanmasını teşvik etmektedir (Khichar ve ark., 2017). Ürik asitin serum seviyesi eşik değer düzeyi olan 7 mg/dL'yi geçtiği zaman negatif etkiler gösterdiği ve böbrek hastalıklarına neden olduğu bildirilmektedir (Ayyıldız, 2016). Böbrek hastalıklarında serum ürik asit seviyesindeki artış, çok sık karşılaşılan klinik bir bulgudur (Şengül ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda ürik asit seviyesinin serumdaki yüksekliğinin böbrek hasarını ilerlettiği ifade edilmiştir (Borges ve ark., 2010). Çeşitli kimyasalların glomerüler filtrasyonda azalmaya neden olarak böbrek rahatsızlıkları oluşturduğu ve hiperürisemi tablosunun gelişmesine neden olduğu belirtilmiştir (Choudhary ve ark., 2013; Su ve ark., 2014). Hiperürisemi nedeniyle ürik asit kristalleri meydana gelmekte, bu durum böbrek taşı oluşumuna yol açmakta (Becker ve Jolly, 2006), renal vasküler yapı ve renal kan akışı bozulabilmekte ve tüm bunlar sonunda oksidatif stresin tetiklendiği gözlenmektedir (Maiuolo ve ark., 2016).

Kreatinin; serum seviyesindeki artışlarının klinik açıdan oldukça önemli bir gösterge olduğu bildirilmektedir (Sayed-Ahmed, 2010). Kreatinin nefronun fonksiyonel kapasitesini, böbrekteki aktif lezyonların varlığını ve ayrıca vücutta kas

yıkımının olup olmadığını göstermede büyük önem arz etmektedir (Senthilkumar ve ark., 2006). Üre, ürik asit ve kreatinin organizmada böbrekler aracılığıyla dışarı atıldığından, böbreklerde hücre hasar oluşması durumunda atılamamakta ve kanda tutulmaya başlandığından serum seviyeleri yükselmektedir (Ota-Kontani ve ark., 2020; Khichar ve ark., 2017). Yapılan çalışmalarda üre ve ürik asit seviyesinin beslenme, dehidrasyon ve antidiüretik ilaçlar gibi birçok faktör ile değişkenlik gösterdiği, fakat kreatinin böbrek için daha spesifik bir parametre olduğu bildirilmektedir. Çünkü böbrek hasarı serum kreatinin seviyesini artıran tek önemli faktör olarak ortaya çıkmaktadır (Mahipal ve Pawar, 2017; Olayinka ve ark., 2015; Senthilkumar ve ark., 2006). Sonuçta bu dört parametrenin de renal bozukluk ve/veya hasar durumunda serum seviyelerinde artış meydana geldiği bildirilmektedir (Anandan ve Subramanian, 2012; Padmini ve Kumar, 2012). Yapılan bu çalışmada 200 mg/kg (i.p.) tek doz CP uygulanan ratların serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN ve total protein seviyesinin diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 3.3). Özellikle üre, ürik asit ve kreatinin seviyelerindeki artış CP toksisitesi nedeni renal hasardan kaynaklanmakta; QUE ve HSP takviyelerinin ise histopatolojik olarak böbrek dokularında koruma ve iyileşmeler sağlaması nedeniyle bu parametrelerde düşüş sağladığı düşünülmektedir.

Diğer bir yandan ratlara ait böbrek dokularının ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu CP verilen grupta; glomerular atrofi, glomerular dejenerasyon, tübüler dejenerasyon, glomerular lobulasyon, Bowman kapsülünde genişleme, hemoraji, hücre infiltrasyonu, nekroz ve ödem gibi fazla çeşitlilikte ve çok sayıda histopatolojik hasarlar olduğu görülmüştür (Şekil 3.20-25). QUE+CP ve HSP+CP gruplarında CP verilen gruba kıyasla patolojilerin çeşidi ve sayısında ciddi azalmalar görülmüş olup (Şekil 3.26-33), bunun nedeni olarak; QUE ve HSP takviyelerinin CP maruziyetinin tetiklediği histopatolojik hasarlardan güçlü antioksidan aktiviteleri ile büyük oranda koruduğu sonucuna ulaşılmıştır. QUE+CP ile HSP+CP grupları kıyaslandığında; QUE takviyesinin HSP'ye göre patoloji oluşumunda daha fazla koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 3.5). Nefrotoksik etkileri olduğu bilinen kemoterapik ajan olan CP'nin neden olduğu bu ağır patolojik durumların, artmış olan ROS ve yetersiz kalmış antioksidan enzim savunmasından kaynaklandığı,

QUE ve HSP takviyesi ile artan antioksidan savunma mekanizmasından kaynaklı koruyucu etkiler görüldüğü düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer yöntemle yapılan bir çalışmada; 200 mg/kg CP uygulanan farelerde 10 gün süre ile 100 ve 200 mg/kg HSP takviyesinin serum kreatinin seviyeleri ve tübüler hasar skorunu anlamlı olarak azalttığı ve bu azalmanın yüksek doz HSP takviyesi verilen grupta daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır (Fouad ve ark., 2021). Literatürde aynı doz ve yöntem CP uygulaması yapılan farelerde tek doz 200 mg/kg (i.p), CP'nin renal toksisitesine karşı paeoniflorinin koruyucu etkisini araştırdıkları başka bir çalışmada, CP uygulanan farelerin böbrek dokusunda nekroz ve inflamatuvar hücre göçleri olduğu gözlenmiş, serum ürik asit ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2016). Bu çalışmada da CP verilen gruplarda bu parametrelerin yüksek olması böbrek dokusunda hasar geliştiğinin kanıtıdır.

Abraham ve Sugumar (2008) tarafından CP nefrotoksitesinin lizozomal enzimler üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, 150 mg/kg tek doz (i.p.) CP uygulanan ratların kreatinin seviyesinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve ayrıca böbreklerin histopatolojik incelemesinde, glomerüler nefrit, kortikal tübüler vakuolizasyon ve interstisyel ödem olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada da literatüre benzer şekilde; CP grubunda kreatinin seviyesinin yüksek olduğu ve histopatolojik incelemelerde özellikle tübüler dejenerasyon, glomerular atrofi, hücre infiltrasyonu ve hemorajinin çok fazla sıklıkta, glomerüler lobulasyonun ise nispeten daha az sayıda olduğu tespit edilmiştir. Buna benzer olarak bir diğer çalışmada, sisplatin verilen ratlarda 10 gün süre ile 50 ve 100 mg/kg HSP takviyesinin BUN ve kreatinin miktarlarını anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur. Fakat farklı olarak bu çalışmada; HSP takviyesi verilen gruplarda sisplatin grubuna göre albümin miktarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada ise gruplar arasında albümin seviyesi bakımından anlamlı fark bulunamamıştır (Çizelge 3.3). Serum albümini, kanda transport ve onkotik basıncı sağlamaktan sorumlu önemli bir proteindir. Yetersiz beslenme durumu ve inflamasyon varlığında düşen negatif bir akut faz reaktanıdır (Yılmaz ve Karacan, 2021). Bu çalışmada gruplar arasında albümin bakımından farklılık bulunamamasının nedeni olarak ratlarda inflamasyon ve yetersiz beslenme durumunun görülmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Serum total

protein miktarlarına bakıldığında anlamlı farklılık yalnızca CP grubu ile QUE grubu arasındadır (Çizelge 3.3). CP'nin organizmada protein katabolizmasında artışa yol açmasının buna neden olabileceği düşünülmüştür.

Gunes ve ark.'nın (2018) CP kaynaklı nefrotoksisiteye karşı Se'nin koruyucu etkilerinin araştırdıkları bir çalışmada, Sprague-Dawley cinsi ratlara 150 mg/kg CP uygulaması ile Bowman boşluğunun daraldığı ve bazı tübüllerde hiyalin madde biriktiği belirlenmiştir. Bu çalışmada ise, hiyalin madde birikimine rastlanmamakla birlikte özellikle CP grubunda Bowman kapsülünde genişlemeler olduğu görülmüştür. Saqib ve ark.'nın (2019) yaptığı ratlarda tek doz (i.p.) 200 mg/kg CP enjeksiyonu sonrası n-asetilsisteinin koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmada, histopatolojik incelemelerde CP'nin böbrek dokularında yaygın hemorajik odaklar oluşturduğu bulunmuştur. Bu çalışmada da buna benzer olarak CP verilen ratların böbrek dokusunda hemoraji oldukça sık gözlemlenmiştir. El-Naggar ve ark., (2015) tarafından farelerde CP'nin neden olduğu toksisiteye karşı propolis'in olası koruyucu etkilerini araştırmak amacı ile yapılan farklı bir çalışmada; 100 mg/kg CP (i.p.) verilen farelerde tübüller dejenerasyon, glomerullerde büzülme ve tübül epitel hücrelerinde vakuolizasyon olduğu, üre ve kreatinin değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulguların propolis takviyesi ile azaldığı ve renal korteks doku görünümünün düzeldiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları da daha önce yapılan çalışma bulgularına benzer olup; CP uygulaması ile birlikte antioksidan madde verilen veya yalnız antioksidan madde verilen gruplarda sadece CP uygulanan gruba kıyasla böbrek dokusundaki histopatolojik hasarların sayısı ve çeşidinin daha az olduğu, biyokimyasal parametrelerin normal seviyelere daha yakın olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla hem QUE hem HSP takviyesinin CP'nin neden olduğu böbrek dokusundaki yıkımları azalttığı ve böbrek fonksiyonlarının göstergesi olan biyokimyasal parametrelerin normal seviyesini koruduğu görülmüştür. Bu beklenen bir etki olup, bu araştırmanın hipotezini desteklemektedir.

Siklofosfamid'in neden olduğu ROS artışı, organizmada oksidatif stresin tetiklenmesine neden olmaktadır. Buna ek olarak oksidatif stresin; CP toksisitesi başta olmak üzere kanser, böbrek hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok

hastalıkta rolü olduğu da bilinmektedir (Burton ve Jauniaux, 2011; De Sá Junior ve ark., 2017; Liguori ve ark., 2018). Oksidatif stres durumunda MDA, süperoksit, H_2O_2 gibi birçok radikal rol oynamaktadır (Czerska ve ark., 2015; Tsang ve ark., 2014). MDA artmış radikaller ve oksidan-antioksidan dengenin bozulumu sonucunda gelişen lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak oldukça önemli bir belirteç olup, bu konuda en çok incelenilen parametreler arasında yer almaktadır (Czerska ve ark., 2015). Dokular ile kompleks halinde bulunabilmekte olan MDA, serbest radikal oluşumun bir ürünü olarak sentezlenmektedir. Aynı zamanda doymamış yağ asidi peroksidasyonunun ana kaynağı olarak bilinmekte ve hücre hasarı durumlarında seviyesi artmaktadır (Tsang ve ark., 2014). CP'nin indüklediği renal hasardan kaynaklı gelişen oksidatif stres sonucunda böbrek dokusunda MDA seviyesinin arttığı gösterilmiştir (Abraham ve Rabi, 2011; Ayhancı ve ark., 2016; Sentilkumar ve ark., 2006). Diğer taraftan oksidatif stresin baskılanması ve olası negatif etkilerinden organizmanın korunması antioksidan maddeler tarafından sağlanmaktadır (Yoshikawa ve Naito, 2002).

Antioksidan savunma; başlıca antioksidan kapasitenin artırılması, serbest radikal kaynaklarının süpürülmesi ve antioksidanların dışarıdan alınmasını içeren kompleks bir süreçtir (Naito ve ark., 2010). Antioksidanlar içerisinde SOD, CAT, GPx, GST gibi birçok enzim, A, C, E gibi vitaminler, glutatyon ve α -lipoik asit gibi maddeler ve sistemler bulunmaktadır. Bu antioksidanlar serbest radikallere doğrudan tepki verebilme özelliğine sahiptir. Serbest radikalleri yok etme özelliklerinden dolayı radikal süpürücü antioksidanlar olarak da adlandırılmaktadırlar (Naito ve ark., 2010; Stoia ve Oancea, 2022).

SOD, süperoksit radikalının H_2O_2 'ye katalize edilmesinin dismutasyonunu sağlayan metalloprotein grubu bir enzimdir (Salehi ve ark., 2018). SOD'nin başlıca görevi, hücrelerin sitozol, endoplazmik retikulum ve mitokondrisinde üretilen, O_2 'nin H_2O_2 'ye katalize edilmesini sağlamaktadır. Ancak, H_2O_2 'nin de hücreler için toksik etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle, pro-oksidan etkiye sahip olan SOD ile birlikte CAT, GPx ve GST gibi enzimlere ihtiyaç duyulmaktadır (Carillon ve ark., 2013).

GPx ve CAT, H_2O_2 'yi temizleyen sistemlerdir. Bunlardan GPx, GSH kullanarak H_2O_2 ve GSH'yi, oksitlenmiş glutatyon ve suya dönüştürmekle görevlidir (Ighodaro ve Akinloye, 2018). CAT, GPx ile birlikte H_2O_2 'yi moleküler oksijen ve suya çevirmektedir (Irato ve Santovito, 2018). CAT enzimi hücrelerin daha çok peroksizom organelinde bulunmaktadır (Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).

GST; karaciğer, böbrek ve diğer dokuları kimyasallarla indüklenmiş zararlardan koruyan ve hücre detoksifikasyonda görev alan çok önemli antioksidan bir enzimdir. Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin aldehit şeklinde eliminasyonunda direkt görevlidir (Salehi ve ark., 2018). GST'nin böbreklerin distal ve proksimal tübüllerinde yer alan epitelyum hücrelerinde çok miktarda bulunduğu, bundan dolayı renal hasarların değerlendirilmesinde uzun yıllardır kullanılan protein belirteçleri arasında yer aldığı bildirilmektedir (Gullner ve ark., 2018).

Yapılan bu çalışmada, CP'nin ratlarda MDA seviyesini anlamlı olarak arttırdığı, SOD, CAT, GPx ve GST antioksidan enzimlerin miktarını ise anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur (Çizelge 3.4). CP ile birlikte QUE ve HSP takviyesi yapılan gruplarda CP grubuna kıyasla; SOD ve GST enzim miktarlarında anlamlı bir farklılık bulunmazken, CAT ve GPx enzim miktarlarında ve MDA seviyesinde anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.4). Sadece antioksidan takviyesi verilen gruplarda CP grubu ile karşılaştırıldığında antioksidan enzim miktarlarının daha yüksek, MDA seviyesinin ise daha düşük olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.4). Bu durum CP uygulaması ile birlikte QUE veya HSP (her ikisinin de ayrı ayrı) takviyesinin CP'nin neden olduğu oksidatif hasarı azaltmada etkili olduğu sonucuna ulaştırmaktadır. MDA seviyesinde görülen artışın; CP'nin neden olduğu ROS artışı ve artan lipid peroksidasyonundan kaynaklanan hücre hasarından dolayı olduğu öngörülmüştür. SOD enzim miktarındaki düşüklük; CP'nin SOD enzimidaki iyonların yerine geçmesine bağlanmıştır. CAT enzim düzeyindeki azalmanın ise; CP uygulaması sonucunda artan lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. GPx enzim miktarındaki azalmanın nedeni GPx'in aktif merkezinde yer alan Se ile CP ve onun metabolik konjugatlarının yer değiştirmesi sonucudur. GST enzim düzeyinde görülen azalmanın CP'nin GST yapısında bulunan sülfidril gruplarını etkileyerek,

enzimin –SH grubuna bağlanmalarından kaynaklanabileceği öngörülmüştür. Fouad ve ark., (2021) aynı doz ve yöntemle CP uygulanan farelerde 10 gün süre ile 100 ve 200 mg/kg HSP takviyesinin MDA seviyelerinde anlamlı azalmalara neden olduğu ve bu azalmanın en fazla, yüksek doz HSP takviyesi verilen grupta olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer sonuçlar bulan başka bir çalışmada, akrilamid'in neden olduğu böbrek dokusu hasarına 4 ay süre ile HSP (50 mg/kg) takviyesinin etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda HSP verilen grupta MDA, üre ve kreatin seviyesinin anlamlı olarak daha düşük; SOD, CAT, GPx ve glutatyon miktarının ise daha yüksek olduğu bulunmuştur (Hamdy ve ark., 2017). Yine yapılan başka bir çalışmada, sisplatin verilen ratlarda 10 gün süre ile 50 ve 100 mg/kg HSP takviyesinin böbrek dokusu ve oksidatif stres parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada özellikle 100 mg/kg HSP takviyesinin sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında, MDA seviyesi ve böbrek hasar skorunun düşük olduğu; SOD, CAT ve glutatyon miktarlarının ise yüksek olduğu görülmüştür. Benzer etkilerin düşük doz HSP takviyesinde de olduğu fakat yüksek doz HSP'nin etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha belirgin olduğu görülmektedir. Ayrıca histopatolojik incelemelerde HSP takviyesi verilen gruplarda sisplatin grubuna göre tübüller hasar, inflamatuvar hücre birikimi ve nekrotik hasar gelişiminin daha az olduğu belirtilmiştir (Kumar ve ark., 2017).

Ratlarda QUE takviyesinin CP'nin neden olduğu böbrek hasarındaki etkilerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 3 haftada bir sıklıkta 27 mg/kg (i.p.) CP enjekte edilen ratlara 10 hafta süresince oral gavaj yöntemi ile 10 mg/kg QUE takviyesi verilmiştir. Çalışma sonunda; QUE takviyesi verilen ratlarda MDA seviyesinin anlamlı olarak daha düşük olduğu bulunmuştur (Kocahan ve ark., 2017). Fakat yapılan bu çalışmadan farklı olarak; QUE+CP grubunun MDA seviyesinin sadece QUE verilen gruptan anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise QUE+CP grubunun QUE grubuna göre; HSP+CP grubunun HSP grubuna göre MDA seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.4). Yine aynı çalışmada bu çalışmanın sonuçlarından farklı olarak; SOD, CAT ve GPx enzim seviyelerinin QUE takviyesi verilen gruplarda CP uygulanan gruba göre daha düşük olduğu bulunmuş fakat bu farkın gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlılık göstermediği belirtilmiştir (Kocahan ve ark., 2017). Yapılan bu çalışmada ise, QUE ve HSP takviyesi verilen grupların CP grubuna göre antioksidan enzim seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 3.4). Belirtilen çalışmada elde edilen sonuçların bu çalışmanın sonuçlarından farklı olmasının nedeni, kullanılan antioksidan madde ve ilacın uygulama süresi ve doz miktarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Ratlarda karbon tetraklorid'in beyin dokusunda oluşturduğu hasar üzerindeki koruyucu etkilerinin değerlendirilmesi amacı ile yapılan bir çalışmada bu çalışma ile aynı doz (100 mg/kg) QUE verilmiş, kullanılan oksidan madde ve çalışılan doku farklı olsa da; QUE'nin koruyucu etkileri benzerdir. Sonuçta QUE takviyesi verilen grubun lipid peroksidasyon düzeyi ve buna bağlı olarak MDA seviyesinin anlamlı olarak daha düşük, SOD, CAT ve redükte glutatyon miktarlarının ise anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Aynı etkilerin yalnız QUE verilen grup değil, QUE+karbon tetraklorid grubunda da görüldüğü bildirilmiştir (Zargar ve Wani, 2021). Bu çalışmada da CP grubu ile karşılaştırıldığında, yalnız QUE verilen grupla değil QUE+CP verilen gruplar arasında CAT ve GPx enzimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık olduğu bulunmuştur. Ratlarda kadminyum (Cd)'un testis dokusu üzerinde neden olduğu oksidatif hasara karşı 4 hafta süresince oral gavaj ile 50 mg/kg QUE takviyesi verilmesinin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, Cd ile birlikte QUE takviyesi verilen grupta yalnız Cd verilen gruba kıyasla SOD, CAT ve GPx enzim seviyelerinin anlamlı olarak daha yüksek, MDA seviyesinin daha düşük olduğu bulunmuştur (Wang ve ark., 2020). Her ne kadar farklı doku ve toksik madde ile çalışılmış olsa da, QUE takviyesinin artan oksidatif hasarı önlediği ve doku hasarlarını azalttığına yönelik bulgular bu çalışmanın bulgularını destekler niteliktedir.

Oksidatif stres parametreleri ve biyokimyasal belirteçlerin yanı sıra; deney süresi boyunca ratların serum AKG seviyesi (mg/dL) ve vücut ağırlıkları (g) ölçülmüş, yem tüketim miktarları (g/gün), enerji alımları (kkal/gün) ve böbrek ağırlıkları (g) kaydedilmiştir. Ratların ağırlık ölçümleri deneye başlamadan hemen önceki gün (0.gün), 2. ölçüm deneyin ortasında (8.gün) ve son ölçüm deneyin son günü (15. gün)

olacak şekilde 3 defa ölçülmüştür. Gruplar arasında ağırlık ölçümleri açısından anlamlı farklılık bulunmazken ($p>0.05$), tüm grupların kendi içindeki tekrarlı ağırlık ölçümleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 3.1). Tüm gruplarda 2. ölçümde vücut ağırlığında azalma, 3. ölçümde ise artış eğiliminde olduğu görülmüştür (Şekil 3.1). Bunun nedeninin; intragastrik gavaj yönteminin ratlarda strese neden olması ve buna bağlı olarak tüm gruplarda ağırlık kayıplarının yaşandığı düşünülmektedir. Sekizinci günden sonra ise oral gavaj yöntemine adaptasyon geliştirdikleri ve bu nedenle ağırlık kayıplarının durduğu hatta pozitif ağırlık değişimlerinin kaydedildiği fakat yine de ratların başlangıç ağırlıklarının üzerine çıkamadıkları görülmüştür (Şekil 3.1).

Hamdy ve ark.'nın (2017) yaptığı çalışmada, oral gavaj yöntemi ile 4 ay boyunca HSP (50 mg/kg) takviyesinin verildiği ratlarda çalışma sonunda, başlangıcına göre ağırlık artışları meydana geldiği, bunun en fazla HSP verilen grupta, sonra akrilamid+HSP verilen grupta, en az ise akrilamid verilen grupta olduğu belirtilmiştir. Yukarıda belirtilen çalışmada sürenin bu çalışma süresine göre oldukça uzun olması, ratların gavaj yöntemine adapte olmalarına ve dolayısıyla ağırlık artışına yol açtığı düşünülmektedir. Buna benzer olarak bir diğer çalışmada, sisplatin verilen ratlarda 10 gün süre ile 50 ve 100 mg/kg HSP takviyesinin ratların vücut ağırlıklarında anlamlı artışlara, böbrek ağırlıklarında ise azalmalara neden olduğu bulunmuştur (Kumar ve ark., 2017). Yapılan bu çalışmada ratların vücut ağırlığı ve böbrek ağırlıkları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$) (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2). Diğer bir çalışmada, Cd uygulanan ratlara kıyasla 4 hafta süresince oral gavaj yöntemi ile 50 mg/kg QUE takviyesi verilen ratların vücut ağırlıklarının anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve bu farkın 3 ile 4. haftalarda pik yaptığı belirtilmiştir (Wang ve ark., 2020). Yapılan bu çalışmada gruplar arasında vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel bir farklılık görülememesinin nedeni deney süresinin 2 hafta ile sınırlı olması ve deneyde kullanılan toksik ajanın farklı olması durumundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Siklofosamid maruziyetinin, yenilenemeyen β -hücrelerinin geniş çapta yıkımı nedeni ile diyabeti indüklediği ve bunun sonucunda hiperglisemiye neden olduğu

bildirilmiştir (Wang ve ark., 2002; Reddy ve Ross, 2003). CP kaynaklı olan β -hücre yıkımı ve gelişen diyabetin, adacık içi makrofajlar tarafından belirli proinflamatuvar sitokinlerin (TNF α ve IL-1 β) üretiminin indüklenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Reddy ve ark., 2002). Çalışmamızda ratların serum AKG seviyesi ölçümleri deneye başlamadan hemen önceki gün (0.gün), deneyin 8.gününde ve deneyin son gününde (15. gün) olacak şekilde 3 defa yapılarak kaydedilmiştir. HSP grubu dışındaki tüm grupların kendi içlerindeki tekrarlı ölçümleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 3.1). Tekrarlı ölçümlere bakıldığında; QUE ve HSP verilen grupların AKG seviyesinin her ölçümde düştüğü, diğer gruplardaysa ikinci ölçümde düştüğü son ölçümde yeniden yükseldiği görülmüştür (Şekil 3.2). Serum AKG seviyesinin 15.gün ölçümlerine bakıldığında en düşük kontrol grubunda, en yüksek ise CP ile onu takiben QUE+CP ve HSP+CP gruplarında olduğu görülmektedir (Şekil 3.2). Üç ölçümün ortalamalarına göre QUE+CP grubunda AKG seviyesi en yüksek, kontrol grubunda en düşüktür (Çizelge 3.1). Bu konuyla ilgili olarak yapılan bir çalışmada; 200 mg/kg (i.p.) CP enjekte edilen Wistar cinsi erkek ratlara 12 gün süre ile timokinon (10 mg/kg/gün) takviyesi verilmiştir. CP verilen ratların AKG seviyeleri anlamlı olarak daha yüksek bulunmuşken, antioksidan takviyesinin ratlarda AKG seviyelerini düzenlediği bulunmuştur (Alenzi ve ark., 2010). Literatür çalışmalarına uygun olarak bu çalışmada da; CP maruziyeti ratlarda hiperglisemi gelişimini tetiklemiş, QUE ve HSP takviyelerinin kan şeker regülasyonunun sağlanmasında rolü olduğu tespit edilmiştir.

Tüm bu literatür bilgileri ışığında; ratlarda CP uygulaması ile böbrek fonksiyonları üzerine QUE ve HSP'nin etkilerini tek bir çalışmada ele alan bu araştırmanın sonuçlarının literatürdeki diğer çalışma bulguları ile paralellik gösterdiği; böbrek fonksiyonları, beslenme ve biyokimyasal parametreler, oksidatif stres parametreleri üzerine, alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan, antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinojenik antiapoptotik, antiosteoporosis, antiülser gibi pek çok biyolojik etkilere sahip QUE ve HSP takviyelerinin hem oksidatif stres parametreleri hem biyokimyasal belirteçler hem de böbrek histolojisi üzerinde protektif etkileri olduğu tespit edilmiş olup, çalışmanın bu bağlamda literatüre katkı sağlaması beklenmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda CP ile indüklenen nefrotoksisitede oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı QUE ve HSP'in etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılan bu tez çalışmasından elde edilen bulgular doğrultusunda; CP uygulamasının rat böbreklerindeki biyokimyasal parametreler; serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN ve total protein seviyelerini yükselttiği ve enzimatik savunma hattını oluşturan antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerini düşürdüğü gösterilmiştir.

CP maruziyetinin böbrek dokusu üzerinde ciddi patolojik bulgular geliştirdiği bu nedenle nefrotoksik bir ajan olduğu, ayrıca lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Çalışmada 15 gün süre ile 100 mg/kg/gün dozunda QUE ve HSP takviyesinin, CP maruziyetinden kaynaklı oluşan serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN ve total protein seviyelerindeki artışı önlediği, SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerini artırdığı ve böbrek dokusundaki patolojik bulgularda düzelmeler sağlayarak nefrotoksisiteyi azalttıkları gözlemlenmiştir. Bu nedenle hem CP'nin hem de CP'nin dahil olduğu kemoterapik ajanlar sınıfının diğer türevlerinin oksidatif stres ve böbrek dokusu hasarındaki etkileri göz önünde bulundurularak, bu grup ajanların kullanıldığı hastalarda oksidatif stres ve nefrotoksisite gibi organ toksisitetlerine karşı QUE ve HSP başta olmak üzere antioksidan takviyelerinin faydalı olabileceği fakat daha önemlisinin özellikle kanser hastalığı teşhisi konulmadan önce bu antioksidanlardan zengin bir diyet örüntüsünün oluşturulması gerektiği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında deney hayvanlarında CP maruziyetinin neden olduğu oksidatif stres, böbrek dokusu hasarları ve biyokimyasal parametrelerdeki anormallik tablosunun akut dönem antioksidan takviyesi ile olumlu yönde çevrilmesinin klinikte CP uygulanan hastalarda sıklıkla görülen yan etkiler ve kullanım dozundaki kısıtlamalara yönelik umut verici bir çözüm olabileceği düşünülmektedir. Hem ülkemizde hem dünyada CP en çok kullanılan kemoterapik ajan olup, bu çalışma

sonuçlarının da geniş bir yelpazede değerlendirilmesi muhtemeldir. Klinikte özellikle yüksek doz CP kullanılması gereken durumlarda hastaların tıbbi beslenme tedavisinde; kişiye özel diyetle bağlı olarak QUE ve HSP antioksidanların dahil olduğu flavonoidler sınıfından zengin içeriğe sahip olan elma, üzüm, kiraz, çilek, yaban mersini, böğürtlen, turuncgiller, soğan, pırasa, brokoli, lahana başta olmak üzere taze meyve ve sebzelerin, fındık, karabuğday gibi besinlerin tüketimini artırmak önerilebilir, daha sonrasında ise hekim kontrolünde bunlara ek antioksidan takviyeler ile organizmada artan oksidanların zararlarını minimize etmek ve toksik etkilerini azaltmak gerekmektedir.

QUE ve HSP'nin CP'nin tetiklediği serbest radikal toksisitesi üzerine olan koruyucu etkilerinden dolayı, hem bu antioksidan maddelerden zengin besinleri içermesi hem de sağlıklı beslenme alışkanlıklarının oluşturulması ve sürdürülebilir bir diyet olması bakımından sağlıklı bireylerde olduğu gibi, CP maruziyeti olan bireylerde de önerilebilecek en uygun diyet örüntüsünün Akdeniz diyeti olduğu düşünülmektedir.

Ayrıca bu çalışmada yaşanan bazı kısıtlıklar bulunmakta olup hem bu kısıtlıklar hem de bunlara yönelik öneriler aşağıda verilmiştir:

- QUE ve HSP takviyesinin CP'nin tetiklediği serbest radikal toksisitesi ve doku hasarı üzerine olan etkilerinin daha net anlaşılabilmesi için daha uzun süreli çalışmalar planlanması gerektiği düşünülmektedir.
- Çalışmanın kimyasal madde ve diğer kullanılan malzemelerin temin sürecinin pandemi dönemine denk gelmesi hem ekonomik koşullar hem de kur farkı olması sonucunda bazı sıkıntılarla karşılaşılmasına neden olmuştur. Daha sonrasında yapılacak çalışmalarda bu durumun göz önünde bulundurularak araştırma planının yapılması önerilir.

- Bu çalışmanın bütçesi Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı bütçesi ve araştırmacının kendi imkanları ile karşılanmıştır. Farklı projelere başvurularda bulunulmuş fakat onay alınamamıştır. Bu nedenle çalışma bütçesinin kısıtlı olması sonucunda deney protokolü bu şekilde yapılmış fakat bu çalışmanın bir adım daha ileriye alınması için metodolojik olarak ilaçla aynı anda, daha önce ve daha sonra antioksidan takviyesi yapılarak ya da deneysel kanser oluşturulmuş ratlarda aynı deney protokolü uygulanarak sonuçların karşılaştırılması ve daha net önerilerde bulunulmasının önemli olacağı düşünülmektedir.
- Bu çalışmada ratların diyetlerine müdahale edilmeyerek standart rat yemi ile beslenilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının insanlara uyarlanabilmesinde; bireylerin diyetlerinin farklı olması, besin ögesi-ilaç etkileşimi, besin ögesi-besin ögesi etkileşimlerinin olması durumları karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda insanlarda genel bir öneri yapılması yerine bireysel farklılıklar göz önünde bulundurularak kişiye özel beslenme programlarının oluşturulması ve önerilerin de bireye özgü yapılması önem arz etmektedir.

ÖZET

Ratlarda Siklofosfamid ile İndüklenen Nefrotoksisitede Oksidatif Stres ve Böbrek Hasarına Karşı Quercetin ve Hesperidin'in Etkilerinin İncelenmesi

Siklofosfamid (CP) kemoterapide çok yaygın olarak kullanılan güçlü bir ajandır. CP'nin ciddi yan etkilerinden nefrotoksisite üzerine flavonoidlerin olumlu etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, ratlarda CP ile indüklenen nefrotoksisitede oksidatif stres ve böbrek hasarına karşı Quercetin (QUE) ve Hesperidin (HSP)'in olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Deneyde 36 adet Wistar cinsi erkek rat 15 gün intragastrik yöntemle QUE (100 mg/kg/gün) ve HSP (100 mg/kg/gün) takviyesi verilmiş, 15. gün tek doz (i.p.) CP (200 mg/kg/gün) uygulandıktan sonra sakrifiye edilmiştir. Uygulama süresince yem tüketim miktarları günlük olarak, vücut ağırlıkları ve açlık kan glukoz seviyesi üç defa ölçülerek kaydedilmiştir. Uygulamaların sonunda ratlardan intrakardiyak yöntemle alınan kan örneklerinden serum üre, ürik asit, kreatinin, kan üre azotu (BUN), albümin ve total protein uygun ticari kitler kullanılarak analiz edilmiştir. Deney sonunda böbrek dokusu kesitleri histopatolojik değişiklikler açısından ışık mikroskobu ile incelenmiş ve bu dokudaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) düzeyleri analiz edilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS programı kullanılmıştır.

CP uygulamasının rat böbreklerindeki biyokimyasal parametreler; serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN ve total protein seviyelerini yükselttiği ($p<0.05$) ve enzimatik savunma hattını oluşturan antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerini düşürdüğü ($p<0.05$) gösterilmiştir. CP maruziyetinin böbrek dokusu üzerinde ciddi patolojik bulgular geliştirdiği bu nedenle nefrotoksik bir ajan olduğu, ayrıca lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA miktarını arttırdığı tespit edilmiştir ($p:0.001$). QUE ve HSP takviyelerinin CP maruziyetinden kaynaklı oluşan serum üre, ürik asit, kreatinin, BUN ve total protein seviyelerindeki artışı önlediği ($p<0.05$), SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerini artırdığı ($p<0.05$) ve böbrek dokusundaki patolojik bulgularda düzelmeler sağlayarak nefrotoksisiteyi azalttıkları gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak CP'nin oksidatif stres ve böbrek dokusu hasarındaki etkileri göz önünde bulundurularak, bu etken maddeyi içeren ilacın kullanıldığı hastalarda oksidatif stres ve nefrotoksisite gibi organ toksisitelerine karşı QUE ve HSP başta olmak üzere antioksidanlardan zengin beslenme alışkanlıklarının oluşturulması ve gerekli olduğu durumlarda hekim kontrolünde takviyelerin yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Hesperidin, Nefrotoksisite, Oksidatif Stres, Quercetin, Siklofosfamid

SUMMARY

Investigation of the Effects of Quercetin and Hesperidin on Oxidative Stress and Kidney Damage on Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity in Rats

Cyclophosphamide (CP) is a potent agent that is widely used in chemotherapy. It is thought that flavonoids may have positive effects on nephrotoxicity, one of the serious side effects of CP. In this study, it was aimed to investigate the possible protective effects of Quercetin (QUE) and Hesperidin (HSP) against oxidative stress and kidney damage in CP-induced nephrotoxicity in rats.

In the experiment, 36 Wistar male rats were given QUE (100 mg/kg/day) and HSP (100 mg/kg/day) supplementation by intragastric method for 15 days. It was sacrificed after a single dose (i.p.) CP (200 mg/kg/day) was administered on the 15th day. During the application, the amount of feed consumption was recorded daily, body weights and fasting blood glucose levels were measured three times. At the end of the experiment, serum urea, uric acid, creatinine, blood urea nitrogen (BUN), albumin and total protein were measured from the blood samples taken from the rats by intracardiac method using appropriate commercial kits. When the experiment was completed, kidney tissue sections were examined with a light microscope in terms of histopathological changes, and superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S-transferase (GST) enzyme activities and malondialdehyde (MDA) levels in this tissue were examined. SPSS program was used in the statistical evaluation of the findings obtained as a result of the research.

It has been shown that CP injection increases the biochemical parameters: serum urea, uric acid, creatinine, BUN and total protein levels in the rat kidneys ($p < 0.05$) and decreases the activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx and GST) forming the enzymatic defense line ($p < 0.05$). It has been determined that CP exposure develops serious pathological findings on kidney tissue, therefore it is a nephrotoxic agent and also increases the amount of MDA, which is a product of lipid peroxidation ($p: 0.001$). It has been observed that QUE and HSP supplements prevent the increase in serum urea, uric acid, creatinine, BUN and total protein levels caused by CP exposure ($p < 0.05$), increase SOD, CAT, GPx and GST activities ($p < 0.05$), and reduce nephrotoxicity by improving pathological findings in kidney tissue.

As a result, considering the effects of CP on oxidative stress and renal tissue damage, it is thought that it may be useful to establish dietary habits rich in antioxidants, especially QUE and HSP, against oxidative stress and organ toxicities such as nephrotoxicity in patients using drugs containing this active substance, and supplements under the control of a doctor when necessary.

Keywords: Cyclophosphamide, Hesperidin, Nephrotoxicity, Oxidative Stress, Quercetin

KAYNAKLAR

- ABD EL TAWAB AM, SHAHIN NN, ABDELMOHSEN MM (2014). Protective effect of *Satureja montana* extract on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. *Chemico-Biological Interactions*, **224**:196-205.
- ABRAHAM P, INDIRANI K, SUGUMAR E (2007). Effect of cyclophosphamide treatment on selected lysosomal enzymes in the kidney of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **59**(2):143-149.
- ABRAHAM P, RABI S (2011). Protective effect of aminoguanidine against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats. *Redox Report*, **16**(1):8-14.
- ABRAHAM P, SUGUMAR E (2008). Increased glutathione levels and activity of PON1 (phenyl acetate esterase) in the liver of rats after a single dose of cyclophosphamide: a defense mechanism?. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **59**(5):301-306.
- AEBI H (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, **105**:121-126.
- AĞIRMAN E, GENÇER MZ, ARICA S (2019). Sağlık çalışanlarının kanseri önlemeye yönelik bilgi, tutum ve davranışları. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, **6**(2):220-227.
- AHMAD ST, ARJUMAND W, NAFEEES S, SETH A, ALİ N, RASHİD S, SULTANA S (2012). Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in Wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. *Toxicology Letters*, **208**(2):149-161.
- AHMADI A, SHADBOORESTAN A (2016). Oxidative stress and cancer; the role of hesperidin, a citrus natural bioflavonoid, as a cancer chemoprotective agent. *Nutrition and Cancer*, **68**(1):29-39.
- AHMADI A, SHADBOORESTAN A, NABAVI SF, SETZER WN, NABAVI SM (2015). The role of hesperidin in cell signal transduction pathway for the prevention or treatment of cancer. *Current Medicinal Chemistry*, **22**(30):3462-3471.
- AKAN Z, GARIP AI (2013). Antioxidants may protect cancer cells from apoptosis signals and enhance cell viability. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **14**(8):4611-4614.
- AKIYAMA S, KATSUMATA SI, SUZUKI K, NAKAYA Y, ISHIMI Y, UEHARA M (2009). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of hesperidin and cyclodextrin-clathrated hesperetin in Goto-Kakizaki rats with type 2 diabetes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **73**(12):2779-2782.
- AKYOL S, GULEC MA, ERDEMLİ HK, AKYOL O (2016). Can propolis and caffeic acid phenethyl ester be promising agents against cyclophosphamide toxicity?. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, **5**(1):105-107.
- ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P (2008) *Molecular Biology of The Cell*, Ed.: Anderson M, Granum S, Garland Science, 5th Ed., New York. p.:206-207.
- ALENZI FQ, EL-BOLKINY YES, SALEM ML (2010). Protective effects of *Nigella sativa* oil and thymoquinone against toxicity induced by the anticancer drug cyclophosphamide. *British Journal of Biomedical Science*, **67**(1):20-28.
- ALI N, RASHID S, NAFEEES S, HASAN SK, SHAHID A, MAJED F, SULTANA S (2017). Protective effect of Chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. *Chemico-biological Interactions*, **272**:80-91.
- AL-JOHANI, NS, AL-ZHARANI M, ALJARBA NH, ALHOSHANI NM, ALKERAISHAN N, ALKAHTANI S (2022). Antioxidant and anti-inflammatory activities of coenzyme-Q10 and piperine against cyclophosphamide-induced cytotoxicity in HuH-7 cells. *BioMed Research International*, **2022**:1-10.
- ALRAWAIQ NS, ABDULLAH A (2014). A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *International Journal of PharmTech Research*, **6**(3):933-941.

- AMERICAN CANCER SOCIETY. A guide chemotherapy. Erişim Adresi: [http://jgh.ca/uploads/gynonc/chemo/guide%20to%20chemotherapy_ACS.pdf]. Erişim Tarihi: 27/02/2022.
- AMIN AR, KASSAB RB, ABDEL MONEIM AE, AMIN HK (2020). Comparison among garlic, berberine, resveratrol, Hibiscus sabdariffa, genus zizyphus, hesperidin, red beetroot, catha edulis, portulaca oleracea, and mulberry leaves in the treatment of hypertension and type 2 DM: a comprehensive review. *Natural Product Communications*, **15**(4):19-28.
- AMORATI R, BASCHIERI A, COWDEN A, VALGIMIGLI L (2017). The antioxidant activity of quercetin in water solution. *Biomimetics*, **2**(3): 9-17.
- ANANDAN R, SUBRAMANIAN P (2012). Renal protective effect of hesperidin on gentamicin-induced acute nephrotoxicity in male Wistar albino rats. *Redox Report*, **17**(5):219-226.
- ANDRES S, PEVNY S, ZIEGENHAGEN R, BAKHIYA N, SCHÄFER B, HIRSCH-ERNST KI, LAMPEN A (2018). Safety aspects of the use of quercetin as a dietary supplement. *Molecular Nutrition & Food Research*, **62**(1):170-177.
- ANGST E, PARK JL, MORO A, LU QY, LU X, LI G, HINES OJ (2013). The flavonoid quercetin inhibits pancreatic cancer growth in vitro and in vivo. *Pancreas*, **42**(2):223-231.
- ARAUJO-LEÓN JA, ORTIZ-ANDRADE R, HERNÁNDEZ-BALTAZAR E, HERNÁNDEZ-NÚÑEZ E, RIVERA-LEYVA JC, YÁÑEZ-PÉREZ V, SEGURA-CAMPOS MR (2022). A pharmacokinetic study of Mix-160 by LC-MS/MS: Oral bioavailability of a dosage form of citroflavonoids Mixture. *Molecules*, **27**(2):391-401.
- ASGHARIAN P, TAZEKAND AP, HOSSEINI K, FOROUHANDEH H, GHASEMNEJAD T, RANJBAR M, CHO WC (2022). Potential mechanisms of quercetin in cancer prevention: focus on cellular and molecular targets. *Cancer Cell International*, **22**(1):1-20.
- ATTIA AA, SOROUR JM, MOHAMED NA, MANSOUR TT, AL-EISA RA, EL-SHENAWY NS (2023). Biochemical, histological, and ultrastructural studies of the protective role of vitamin E on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in male rats. *Biomedicines*, **11**(2):390-402.
- ÁVILA-GÁLVEZ MÁ, GIMÉNEZ-BASTIDA JA, GONZÁLEZ-SARRIAS A, ESPIN JC (2021). New insights into the metabolism of the flavanones eriocitrin and hesperidin: A comparative human pharmacokinetic study. *Antioxidants*, **10**(3):435-444.
- AYALA A, MUÑOZ MF, ARGUELLES S (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2014**:128-159.
- AYHANCI A, ACAR Ö, ŞAHİNTÜRK V, GÜNEŞ S, ŞAHİN İK, MUSMUL A, USLU S (2016). Selenyum siklofosamid nedenli hepatotoksisiteyi iyileştirebilir. *Osmangazi Tıp Dergisi*, **38**(3): 34-39.
- AYHANCI A, UYAR R, ARAL E, KABADERE S, APPAK S (2008). Protective effect of zinc on cyclophosphamide-induced hematotoxicity and urotoxicity. *Biological Trace Element Research*, **126**(1):186-193.
- AYNA A, OZBOLAT SN, DARENDELIOGLU E (2020). Quercetin, chrysin, caffeic acid and ferulic acid ameliorate cyclophosphamide-induced toxicities in SH-SY5Y cells. *Molecular Biology Reports*, **47**(11):8535-8543.
- AYYILDIZ SN (2016). Ürik Asit Yüksekliğinin Analizi. *Journal of Academic Research in Medicine*, **6**(2):74-77.
- AYZA MA, ZEWDIE KA, YIGZAW EF, AYELE SG, TESFAYE BA, TAFERE GG, ABRHA MG (2022). Potential protective effects of antioxidants against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity. *International Journal of Nephrology*, **2022**:218-230.
- BAJEER IA, KHATRI S, TRESA V, HASHMI S, MUBARAK M, LANEWALA AA (2018). Histopathological Spectrum and short-term outcome of treatment with cyclophosphamide in relapsing steroid-sensitive nephrotic Syndrome. *Journal of College of Physicians and Surgeons Pakistan*, **28**(6):436-439.

- BARBERINO RS, SILVA RLS, PALHETA JUNIOR RC, SMITZ JE, MATOS MHT (2023). Protective effects of antioxidants on cyclophosphamide-induced ovarian toxicity. *Biopreservation and Biobanking*, **21**(2):121-141.
- BAYAZID AB, LIM BO (2022). Quercetin is an active agent in berries against neurodegenerative diseases progression through modulation of Nrf2/HO1. *Nutrients*, **14**(23):5132-5144.
- BAYIK A (1989). Kanser Epidemiyolojisi. *Ege Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, **5**(3):58-71.
- BECKER MA, JOLLY M (2006). Hyperuricemia and associated diseases. *Rheumatic Disease Clinics*, **32**(2):275-293.
- BEHLING EB, SENDÃO MC, FRANCESCATO HD, ANTUNES LM, COSTA RS, BIANCHI MDLP (2006). Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacological Reports*, **48**:526-532.
- BENSID A, EL ABED N, HOUICHER A, REGENSTEIN JM, OZOGUL F (2022). Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **62**(11):2985-3001.
- BHAGAT J, INGOLE BS, SINGH N (2016). Glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and lipid peroxidation as biomarkers of oxidative stress in snails: A review. *Invertebrate Survival Journal*, **13**(1):336-349.
- BHARGAVA P, VERMA VK, MALIK S, KHAN SI, BHATIA J, ARYA DS (2019). Hesperidin regresses cardiac hypertrophy by virtue of PPAR- γ agonistic, anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant properties. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **33**(5):283-294.
- BHAT N, KALTHUR SG, PADMASHALI S, MONAPPA V (2018). Toxic effects of different doses of cyclophosphamide on liver and kidney tissue in Swiss albino mice: a histopathological study. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, **28**(6):331-340.
- BISWAS P, DEY D, BISWAS PK, RAHAMAN TI, SAHA S, PARVEZ A, KIM B (2022). A comprehensive analysis and anti-cancer activities of quercetin in ROS-mediated cancer and cancer stem cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(19):746-762.
- BOOTS AW, HAENEN GR, BAST A (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, **585**(2-3):325-337.
- BOOTS AW, LI H, SCHINS RP, DUFFIN R, HEEMSKERK JW, BAST A, HAENEN GR (2007). The quercetin paradox. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **222**(1):89-96.
- BORGES RL, RIBEIRO AB, ZANELLA MT, BATISTA MC (2010). Uric acid as a factor in the metabolic syndrome. *Current Hypertension Reports*, **12**(2):113-119.
- BRODOWSKA KM (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, **7**(2):108-123.
- BULE M, ABDURAHMAN A, NIKFAR S, ABDOLLAHI M, AMINI M (2019). Antidiabetic effect of quercetin: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Food and Chemical Toxicology*, **125**:494-502.
- BURTON GJ, JAUNIAUX E (2011). Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, **25**(3):287-299.
- BUZDAĞLI Y, EYİPINAR CD, KACI FN, TEKİN A (2022). Effects of hesperidin on anti-inflammatory and antioxidant response in healthy people: a meta-analysis and meta-regression. *International Journal of Environmental Health Research*, **3**:1-16.
- CAMARGO CQ, BRUNETTA HS, NUNES EA (2018). Effects of cotreatment with omega-3 polyunsaturated fatty acids and anticancer agents on oxidative stress parameters: a systematic review of in vitro, animal, and human studies. *Nutrition Reviews*, **76**(10):765-777.
- CAO J, ZHANG Y, CHEN W, ZHAO X (2010). The relationship between fasting plasma concentrations of selected flavonoids and their ordinary dietary intake. *British Journal of Nutrition*, **103**(2):249-255.

- CARIA H, CHAVECA T, LAIRES A, RUEFF J (1995). Genotoxicity of quercetin in the micronucleus assay in mouse bone marrow erythrocytes, human lymphocytes, V79 cell line and identification of kinetochore-containing (CREST staining) micronuclei in human lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, **343**(2-3):85-94.
- CARILLON J, ROUANET JM, CRISTOL JP, BRION R (2013). Superoxide dismutase administration, a potential therapy against oxidative stress related diseases: several routes of supplementation and proposal of an original mechanism of action. *Pharmaceutical Research*, **30**:2718-2728.
- CASANOVA AG, PRIETO M, COLINO CI, GUTIÉRREZ-MILLÁN C, RUSZKOWSKA-CIASTEK B, DE PAZ E, LÓPEZ-HERNÁNDEZ FJ (2021). A micellar formulation of quercetin prevents cisplatin nephrotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(2):729-742.
- CENGİZ M (2018). Hematoprotective effect of boron on cyclophosphamide toxicity in rats. *Cellular and Molecular Biology*, **64**(5):62-65.
- CENGİZ M, YEŞİLDAĞ Ö, AYHANCİ A (2018). Siklofosfamid Nedenli Hematoksisite Üzerine Karvakrolün Sitoprotektif Etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, **5**(2):125-130.
- CERUTTI PA (1985). Prooxidant states and tumor promotion. *Science*, **227**(4685):375-381.
- CESARONE MR, BELCARO G, HU S, DUGALL M, HOSOI M, LEDDA A, COTELLESE R (2019). Supplementary prevention and management of asthma with quercetin phytosome: a pilot registry. *Minerva Medica*, **110**(6):524-529.
- CHABNER BA, AMREIN PC, DRUKER BJ, MICHAELSON MD, MITSIADES CS, GOSS PE, WILSON WH (2006). Antineoplastic agents. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, **9**:1315-1465.
- CHAKRABORTY P, ROY SS, BASU A, BHATTACHARYA S (2016). Sensitization of cancer cells to cyclophosphamide therapy by an organoselenium compound through ROS-mediated apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **84**:1992-1999.
- CHAMORRO-CEVALLOS G, GARDUÑO-SICILIANO L, BARRÓN BL, MADRIGAL-BUJADAR E, CRUZ-VEGA DE, PAGES N (2008). Chemoprotective effect of Spirulina (Arthrospira) against cyclophosphamide-induced mutagenicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, **46**(2):567-574.
- CHAUDHARY K, MALHOTRA K, SOWERS J, AROOR A (2013). Uric acid-key ingredient in the recipe for cardiorenal metabolic syndrome. *Cardiorenal Medicine*, **3**(3):208-220.
- CHEN X, WEI W, LI Y, HUANG J, CI X (2019). Hesperetin relieves cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Chemico-Biological Interactions*, **308**:269-278.
- CICERO-SARMIENTO CG, ORTIZ-ANDRADE R, ARAUJO-LEÓN JA, SEGURA-CAMPOS MR, VAZQUEZ-GARCIA P, RUBIO-ZAPATA H, RUIZ-CIAU D (2022). Preclinical safety profile of an oral naringenin/hesperidin dosage form by in vivo toxicological tests. *Scientia Pharmaceutica*, **90**(2):28-39.
- COMHAIR SA, ERZURUM SC (2005). The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxidants & Redox Signaling*, **7**(1-2):72-79.
- CORCORAN MP, MCKAY DL, BLUMBERG JB (2012). Flavonoid basics: chemistry, sources, mechanisms of action, and safety. *Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics*, **31**(3):176-189.
- CORRIE PG (2008). Cytotoxic chemotherapy: Clinical aspects. *Medicine*, **36**(1):24-28.
- COSKUN O, KANTER M, KORKMAZ A, OTER S (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research*, **51**(2):117-123.
- CRUZ-CORREA M, SHOSKES DA, SANCHEZ P, ZHAO R, HYLAND LM, WEXNER SD, GIARDIELLO FM (2006). Combination treatment with curcumin and quercetin of adenomas in familial adenomatous polyposis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **4**(8):1035-1038.

- CUNNINGHAM P, PATTON E, VANDERVEEN BN, UNGER C, ALADHAMI A, ENOS RT, VELÁZQUEZ KT (2022). Sub-chronic oral toxicity screening of quercetin in mice. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, **22**(1):1-12.
- CZERSKA M, MIKOŁAJEWSKA K, ZIELIŃSKI M, GROMADZIŃSKA J, WĄSOWICZ W (2015). Today's oxidative stress markers. *Medycyna Pracy*, **66**(3):67-79.
- DABLA PK (2010). Renal function in diabetic nephropathy. *World Journal of Diabetes*, **1**(2):48-55.
- DAVID AVA, ARULMOLI R, PARASURAMAN S (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, **10**(20):84-92.
- DE JONGE ME, HUITEMA AD, RODENHUIS S, BEIJNEN JH (2005). Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clinical Pharmacokinetics*, **44**(11):1135-1164.
- DEHGHANI F, SEZAVAR SEYEDI JANDAGHI SH, JANANI L, SAREBANHASSANABADI M, EMAMAT H, VAFA M (2021). Effects of quercetin supplementation on inflammatory factors and quality of life in post myocardial infarction patients: A double blind, placebo- controlled, randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*, **35**(4):2085-2098.
- DENİZ B (2018). Kemoterapi alan kanser hastalarında mukozit yönetimi. *Sağlık ve Toplum*, **28**(3):10-15.
- DE OLIVEIRA DM, DOURADO GKZS, CESAR TB (2013). Hesperidin associated with continuous and interval swimming improved biochemical and oxidative biomarkers in rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, **10**(1):1-7.
- DE SÁ JUNIOR PL, CÂMARA DAD, PORCACCHIA AS, FONSECA PMM, JORGE SD, ARALDI RP, FERREIRA AK (2017). The roles of ROS in cancer heterogeneity and therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2017**:344-361.
- DEVI KP, RAJAVEL T, NABAVI SF, SETZER WN, AHMADI A, MANSOURI K, NABAVI SM (2015). Hesperidin: A promising anticancer agent from nature. *Industrial Crops and Products*, **76**:582-589.
- DE VRIES JH, HOLLMAN PC, MEYBOOM S, BUYSMAN MN, ZOCK PL, VAN STAVEREN WA, KATAN MB (1998). Plasma concentrations and urinary excretion of the antioxidant flavonols quercetin and kaempferol as biomarkers for dietary intake. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **68**(1):60-65.
- DOBREK Ł, SKOWRON B, BARANOWSKA A, CIESIELCZYK K, KOPAŃSKA M, THOR P (2017). Nephrotoxicity of a single dose of cyclophosphamide and ifosfamide in rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research*, **74**(5):129-141.
- DOKUMACIOGLU E, ISKENDER H, SEN TM, INCE I, DOKUMACIOGLU A, KANBAY Y, SARAL S (2018). The effects of hesperidin and quercetin on serum tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 levels in streptozotocin-induced diabetes model. *Pharmacognosy Magazine*, **14**(54):167-178.
- DOSHI BR, SAJJAN VV, MANJUNATHSWAMY BS (2019). Managing a side effect: Cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *Indian Journal of Drugs in Dermatology*, **5**(1):66-81.
- DOS SANTOS NAG, FERREIRA RS, DOS SANTOS AC (2020). Overview of cisplatin-induced neurotoxicity and ototoxicity, and the protective agents. *Food and Chemical Toxicology*, **136**:1079-1093.
- DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (2011). Global status report on noncommunicable diseases 2010. World Health Organization. Erişim Adresi: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44579/9789240686458_eng.pdf]. Erişim Tarihi: 10/07/2022.
- DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (2018-a). Cancer overview. Erişim Adresi: [https://www.who.int/healthtopics/cancer#tab=tab_1]. Erişim Tarihi: 17/07/2022.
- DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ (2018-b). Cancer prevention. Erişim Adresi: [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_2]. Erişim Tarihi: 13/05/2022.
- DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜ 2019. Erişim Adresi: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death]. Erişim Tarihi: 10/08/2022.

- EHRENFRIED JA, KO TC, THOMPSON EA, EVERS BM (1997). Cell cycle-mediated regulation of hepatic regeneration. *Surgery*, **122**(5):927-935.
- EL-BEHEIRY KM, EL-SAYAD MES, EL-MASRY TA, ELSISI AE (2023). Combination of metformin and hesperidin mitigates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity. Emerging role of PPAR- γ /Nrf-2/NF- κ B signaling pathway. *International Immunopharmacology*, **117**:109891-109903.
- ELHELALY AE, ALBASHER G, ALFARRAJ S, ALMEER R, BAHBAH EI, FOUDA MM, ABDEL-DAIM MM (2019). Protective effects of hesperidin and diosmin against acrylamide-induced liver, kidney, and brain oxidative damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, **26**:35151-35162.
- EL-NAGGAR SA, ALM-ELDEEN AA, GERMOUSH MO, EL-BORAY KF, ELGEBALY HA (2015). Ameliorative effect of propolis against cyclophosphamide-induced toxicity in mice. *Pharmaceutical Biology*, **53**(2):235-241.
- EL-SHEIKH AA, MORSY MA, OKASHA AM (2017). Inhibition of NF- κ B/TNF- α pathway may be involved in the protective effect of resveratrol against cyclophosphamide-induced multi-organ toxicity. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **39**(4):180-187.
- ESTAKHRI R, HAJIPOUR B, MAJIDI H, SOLEIMANI H (2013). Vitamin E ameliorates cyclophosphamide induced nephrotoxicity. *Life Science Journal*, **10**(6):308-313.
- ETCHEVERRY SB, FERRER EG, NASO L, RIVADENEIRA J, SALINAS V, WILLIAMS PAM (2008). Antioxidant effects of the VO (IV) hesperidin complex and its role in cancer chemoprevention. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **13**(3):435-447.
- EREL O (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38**(12):1103-1111.
- EZZATI M, YOUSEFI B, VELAEI K, SAFA A (2020). A review on anti-cancer properties of Quercetin in breast cancer. *Life Sciences*, **248**:117463-117476.
- FAROOQI AA, LI KT, FAYYAZ S, CHANG YT, ISMAIL M, LIAW CC, CHANG HW (2015). Anticancer drugs for the modulation of endoplasmic reticulum stress and oxidative stress. *Tumor Biology*, **36**(8):5743-5752.
- FERNANDO J, JONES R (2015). The principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surger*, **33**(3):131-135.
- FERRAZ CR, CARVALHO TT, MANCHOPE MF, ARTERO NA, RASQUEL-OLIVEIRA FS, FATTORI V, VERRI WA (2020). Therapeutic potential of flavonoids in pain and inflammation: mechanisms of action, pre-clinical and clinical data, and pharmaceutical development. *Molecules*, **25**(3):762-767.
- FINCO D. R. (1997). Kidney function. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 5:441-484.
- FORMICA JV, REGELSON W (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, **33**(12):1061-1080.
- FOUAD AA, ABDEL-GABER SA, ABDELGHANY MI (2021). Hesperidin opposes the negative impact of cyclophosphamide on mice kidneys. *Drug and Chemical Toxicology*, **44**(3):223-228.
- FOUAD AA, ALBUALI WH, JRESAT I (2014). Protective effect of hesperidin against cyclophosphamide hepatotoxicity in rats. *International Journal of Bioengineering and Life Sciences*, **8**(7):730-733.
- FRAGA CG, CROFT KD, KENNEDY DO, TOMÁS-BARBERÁN FA (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food & Function*, **10**(2):514-528.
- FU D, CALVO JA, SAMSON LD (2012). Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. *Nature Reviews Cancer*, **12**(2):104-120.
- GARCIA-LAFUENTE A, GUILLAMÓN E, VILLARES A, ROSTAGNO MA, MARTÍNEZ JA (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, **58**(9):537-552.

- GARG A, GARG S, ZANEVELD LJD, SINGLA AK (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, **15**(8):655-669.
- GEBREMEDHIN TK, CHERIE A, TOLERA BD, ATINAFU BT, DEMELEW TM (2021). Prevalence and risk factors of malnutrition among adult cancer patients receiving chemotherapy treatment in cancer center, Ethiopia: cross-sectional study. *Heliyon*, **7**(6):362-375.
- GEDİKLİ S, ŞENGÜL E (2019). Ratlarda siklofosfamid ile indüklenen hepatotoksisite üzerine kuersetinin etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, **46**(1):41-50.
- GEGOTEK A, SKRZYDLEWSKA E (2019). Biological effect of protein modifications by lipid peroxidation products. *Chemistry and Physics of Lipids*, **221**:46-52.
- GELEN V, ŞENGÜL E, GEDİKLİ S, ÖZKANLAR S, GUR C, KARA A, ÇINAR A (2021). The effects of quercetin on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Research Square*, **5**:1-16.
- GIORGIO M (2015). Oxidative stress and the unfulfilled promises of antioxidant agents. *Ecancermedicalscience*, **9**:556-565.
- GLORIEUX C, ZAMOCKY M, SANDOVAL JM, VERRAX J, CALDERON PB (2015). Regulation of catalase expression in healthy and cancerous cells. *Free Radical Biology and Medicine*, **87**:84-97.
- GUARDIA T, ROTELLI AE, JUAREZ AO, PELZER LE (2001). Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Il Farmaco*, **56**(9):683-687.
- GULLNER G, KOMIVES T, KIRÁLY L, SCHRODER P (2018). Glutathione S-transferase enzymes in plant-pathogen interactions. *Frontiers in Plant Science*, **9**:1836-1854.
- GUNES S, SAHINTURK V, USLU S, AYHanci A, KACAR S, UYAR R (2018). Protective effects of selenium on cyclophosphamide-induced oxidative stress and kidney injury. *Biological Trace Element Research*, **185**(1):116-123.
- GUR C, KANDEMİR FM, CAGLAYAN C, SATICI E (2022). Chemopreventive effects of hesperidin against paclitaxel-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via amendment of Nrf2/HO-1 and caspase-3/Bax/Bcl-2 signaling pathways. *Chemico-Biological Interactions*, **365**:110073-110084.
- GUTTERIDGE JMC (1993). Free radicals in disease processes—A compilation of cause and consequence. Invited review. *Free Radical Research Communications*, **19**(3):141-158.
- HABIG WH, PABST MJ, JAKOBY WB (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**(22):7130-7139.
- HAILESELASSIE W, MULUGETA T, TIGENEH W, KABA M, LABISSO WL (2019). The situation of cancer treatment in Ethiopia: challenges and opportunities. *Journal of Cancer Prevention*, **24**(1):33-42.
- HAJIALYANI M, HOSEIN FARZAEI M, ECHEVERRÍA J, NABAVI SM, URIARTE E, SOBARZO-SÁNCHEZ E (2019). Hesperidin as a neuroprotective agent: a review of animal and clinical evidence. *Molecules*, **24**(3):648-659.
- HAMDY SM, SHABAAN AM, LATIF AKMA, ABDEL-AZIZ AM, AMIN AM (2017). Protective effect of Hesperidin and Tiger nut against Acrylamide toxicity in female rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **69**(8):580-588.
- HAN M, SONG Y, ZHANG X (2016). Quercetin suppresses the migration and invasion in human colon cancer Caco-2 cells through regulating toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B pathway. *Pharmacognosy Magazine*, **12**(2):237-344.
- HARNLY JM, DOHERTY RF, BEECHER GR, HOLDEN JM, HAYTOWITZ DB, BHAGWAT S, GEBHARDT S (2006). Flavonoid content of US fruits, vegetables, and nuts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**(26):9966-9977.
- HARWOOD M, DANIELEWSKA-NIKIEL B, BORZELLECA JF, FLAMM GW, WILLIAMS GM, LINES TC (2007). A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo

- toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food and Chemical Toxicology*, **45**(11):2179-2205.
- HAZAF A, REHMAN KU, JAHAN N, JABEEN Z (2020). The role of polyphenol (flavonoids) compounds in the treatment of cancer cells. *Nutrition and Cancer*, **72**(3):386-397.
- HU R, LAYTON A (2021). A computational model of kidney function in a patient with diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(11): 5819-5830.
- HUANG H, CHEN AY, ROJANASAKUL Y, YE X, RANKIN GO, CHEN YC (2015). Dietary compounds galangin and myricetin suppress ovarian cancer cell angiogenesis. *Journal of Functional Foods*, **15**:464-475.
- HUANG YY, WANG ZH, DENG LH, WANG H, ZHENG Q (2020). Oral administration of quercetin or its derivatives inhibit bone loss in animal model of osteoporosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2020**:1-22.
- HUBBARD GP, WOLFFRAM S, DE VOS R, BOVY A, GIBBINS JM, LOVEGROVE JA (2006). Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: a pilot study. *British Journal of Nutrition*, **96**(3):482-488.
- HUI C, BIN Y, XIAOPING Y, LONG Y, CHUNYE C, MANTIAN M, WENHUA L (2010). Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro and in vivo. *Nutrition and Cancer*, **62**(8):1128-1136.
- IGHODARO OM, AKINLOYE OA (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, **54**(4):287-293.
- INAL ME, KAHRAMAN A (2000). The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. *Toxicology*, **154**(1-3):21-29.
- IRATO P, SANTOVITO G (2021). Enzymatic and non-enzymatic molecules with antioxidant function. *Antioxidants*, **10**(4):579-582.
- ISKENDER H, DOKUMACIOGLU E, SEN TM, INCE I, KANBAY Y, SARAL S (2017). The effect of hesperidin and quercetin on oxidative stress, NF- κ B and SIRT1 levels in a STZ-induced experimental diabetes model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **90**:500-508.
- IZZO S, NAPONELLI V, BETTUZZI S (2020). Flavonoids as epigenetic modulators for prostate cancer prevention. *Nutrients*, **12**(4):1010-1017.
- JAFARINIA M, SADAT HOSSEINI M, FAZEL N, FATHI F, GANJALIKHANI HAKEMI M, ESKANDARI N (2020). Quercetin with the potential effect on allergic diseases. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, **16**(1):1-11.
- JAN AT, KAMLI MR, MURTAZA I, SINGH JB, ALI A, HAQ QMR (2010). Dietary flavonoid quercetin and associated health benefits—an overview. *Food Reviews International*, **26**(3):302-317.
- JAVADI F, AHMADZADEH A, EGHTESEADI S, ARYAEIAN N, ZABIHIYEGANEH M, RAHIMI FOROUSHANI A, JAZAYERI S (2017). The effect of quercetin on inflammatory factors and clinical symptoms in women with rheumatoid arthritis: a double-blind, randomized controlled trial. *Journal of the American College of Nutrition*, **36**(1):9-15.
- JAWIEN A, BOUSKELA E, ALLAERT FA, NICOLAIDES AN (2017). The place of Ruscus extract, hesperidin methyl chalcone, and vitamin C in the management of chronic venous disease. *International Angiology: a Journal of the International Union of Angiology*, **36**(1):31-41.
- JEELANI R, KHAN SN, SHAEIB F, KOHAN-GHADR HR, ALDHAHERI SR, NAJAFI T, ABU-SOUD HM (2017). Cyclophosphamide and acrolein induced oxidative stress leading to deterioration of metaphase II mouse oocyte quality. *Free Radical Biology and Medicine*, **110**:11-18.

- KALENDER S, APAYDIN FG, BAŞ H, KALENDER Y (2015). Protective effects of sodium selenite on lead nitrate induced hepatotoxicity in diabetic and non diabetic rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **40**:568-574.
- KALENDER Y, KAYA S, DURAK D, UZUN FG, DEMİR F (2012). Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **33**(2):141-148.
- KALTALIOĞLU K, COSKUN-CEVHER S (2016). Potential of morin and hesperidin in the prevention of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Renal Failure*, **38**(8):1291-1299.
- KAPTAN G, DEDELİ Ö (2012). Teoriden uygulamaya iç hastalıkları hemşireliği: kavram ve kuramlar, Ed.: Dedeli Ö, İstanbul Tıp Kitabevi, 1. Baskı, İstanbul. s.: 150-151.
- KARAK P (2019). Biological activities of flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **10**(4):1567-1574.
- KASALA ER, BODDULURU LN, BARUA CC, MADHANA RM, DAHIYA V, BUDHANI MK, GOGOI R (2016). Chemopreventive effect of chrysin, a dietary flavone against benzo (a) pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. *Pharmacological Reports*, **68**(2):310-318.
- KAWABATA TT, CHAPMAN MY, DONG-HYUN K, STEVENS WD, HOLSAPPLE MP (1990). Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Biochemical Pharmacology*, **40**(5):927-935.
- KHEDR NF (2015). Protective effect of mirtazapine and hesperidin on cyclophosphamide-induced oxidative damage and infertility in rat ovaries. *Experimental Biology and Medicine*, **240**(12):1682-1689.
- KHICHAR S, CHOUDHARY S, SINGH VB, TATER P, ARVINDA RV, UJJAWAL V (2017). Serum uric acid level as a determinant of the metabolic syndrome: a case control study. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, **11**(1):19-23.
- KIM JY, JUNG KJ, CHOI JS, CHUNG HY (2004). Hesperetin: a potent antioxidant against peroxynitrite. *Free Radical Research*, **38**(7):761-769.
- KIM SH, LEE IC, LIM JH, MOON C, BAE CS, KIM SH, KIM JC (2012). Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats. *Food and Chemical Toxicology*, **50**(2):109-115.
- KIM SY, KIM MS, LEE MK, KIM JS, YI HK, NAM SY, HWANG PH (2015). PPAR γ induces growth inhibition and apoptosis through upregulation of insulin-like growth factor-binding protein-3 in gastric cancer cells. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **48**(3):226-233.
- KOCAHAN S, DOĞAN Z, ERDEMLİ E, TASKIN E (2017). Protective effect of quercetin against oxidative stress-induced toxicity associated with doxorubicin and cyclophosphamide in rat kidney and liver tissue. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, **11**(2):124-130.
- KOUTSOGIANNOULI E, PAPAVALASSILIOU AG, PAPANIKOLAOU NA (2013). Complexity in cancer biology: is systems biology the answer?. *Cancer Medicine*, **2**(2):164-177.
- KUMAR KBH, KUTTAN R (2005). Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine*, **12**(6-7):494-500.
- KUMAR M, DAHIYA V, KASALA ER, BODDULURU LN, LAHKAR M (2017). The renoprotective activity of hesperetin in cisplatin induced nephrotoxicity in rats: molecular and biochemical evidence. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **89**:1207- 1215.
- KUNTIC V, BRBORIĆ J, HOLCLAJTNER-ANTUNOVIĆ I, USKOKOVIĆ-MARKOVIĆ S (2014). Evaluating the bioactive effects of flavonoid hesperidin: A new literature data survey. *Vojnosanitetski Pregled*, **71**(1):60-65.
- LANDIS GN, TOWER J (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development*, **126**(3):365-379.

- LASH LH (2018). Renal glutathione transport systems: Roles in redox homeostasis, cytoprotection, and bioactivation. *Glutathione*, **11**:35-38.
- LAWSON M, VASILARAS A, DE VRIES A, MACTAGGART P, NICOL D (2008). Urological implications of cyclophosphamide and ifosfamide. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, **42**(4):309-317.
- LEE KH, PARK E, LEE HJ, KIM MO, CHA YJ, KIM JM, SHIN MJ (2011). Effects of daily quercetin-rich supplementation on cardiometabolic risks in male smokers. *Nutrition Research and Practice*, **5**(1):28-33.
- LEI XG, CHENG WH, MCCLUNG JP (2007). Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annual Review of Nutrition*, **27**:41-61.
- LI C, SCHLUESENER H (2017). Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **57**(3):613-631.
- LI YL, GAN GP, ZHANG HZ, WU HZ, LI CL, HUANG YP, LIU JW (2007). A flavonoid glycoside isolated from *Smilax china* L. rhizome in vitro anticancer effects on human cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, **113**(1):115-124.
- LIGUORI I, RUSSO G, CURCIO F, BULLI G, ARAN L, DELLA-MORTE D, ABETE P (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, **13**:757-775.
- LIM HM, PARK SH (2022). Regulation of reactive oxygen species by phytochemicals for the management of cancer and diabetes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **23**:1-26.
- LIMÓN-PACHECO J, GONSEBATT ME (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **674**(1-2):137-147.
- LIU B, YANG Z, BO L, ZHAO Z, ZHOU Q, SUN C (2019). Cytotoxic effects, inflammatory response and apoptosis induction of cyclophosphamide in the peripheral blood leukocyte of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish & Shellfish Immunology*, **93**:174-182.
- LIU EH, ZHAO P, DUAN L, ZHENG GD, GUO L, YANG H, LI P (2013). Simultaneous determination of six bioactive flavonoids in *Citri Reticulatae* Pericarpium by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole electrospray tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, **141**(4):3977-3983.
- LIU KC, YEN CY, WU RSC, YANG JS, LU HF, LU KW, CHUNG JG (2014). The roles of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial apoptotic signaling pathway in quercetin- mediated cell death of human prostate cancer PC- 3 cells. *Environmental Toxicology*, **29**(4):428-439.
- LIU Q, LIN X, LI H, YUAN J, PENG Y, DONG L, DAI S (2016). Paeoniflorin ameliorates renal function in cyclophosphamide-induced mice via AMPK suppressed inflammation and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **84**:1899-1905.
- LOCK EA (2020). Renal drug-metabolizing enzymes in experimental animals and humans. *Mechanisms of Injury in Renal Disease and Toxicity*, **42**:173-206.
- LUO D, CARTER KA, MIRANDA D, LOVELL JF (2017). Chemophototherapy: an emerging treatment option for solid tumors. *Advanced Science*, **4**(1):106-122.
- MAHADEVAN V (2019). Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)*, **37**(7):359-364.
- MAHIPAL P, PAWAR RS (2017). Nephroprotective effect of *Murraya koenigii* on cyclophosphamide induced nephrotoxicity in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **10**(8):808-812.
- MAHMOUD AM (2014). Hesperidin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity by upregulation of PPAR γ and abrogation of oxidative stress and inflammation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **92**(9):717-724.
- MAIUOLO J, OPPEDISANO F, GRATTERI S, MUSCOLI C, MOLLACE V (2016). Regulation of uric acid metabolism and excretion. *International Journal of Cardiology*, **213**:8-14.

- MARKLUND S, MARKLUND G (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, **47**(3):469-474.
- MARTINS BT, CORREIA DA SILVA M, PINTO M, CIDADE H, KIJJOA A (2019). Marine natural flavonoids: Chemistry and biological activities. *Natural Product Research*, **33**(22):3260-3272.
- MASSI A, BORTOLINI O, RAGNO D, BERNARDI T, SACCHETTI G, TACCHINI M, DE RISI C (2017). Research progress in the modification of quercetin leading to anticancer agents. *Molecules*, **22**(8):1270-1279.
- MATHIJSEN RH, SPARREBOOM A, VERWEIJ J (2014). Determining the optimal dose in the development of anticancer agents. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **11**(5):272-281.
- MAULUDIN R, MULLER RH (2013). Physicochemical properties of hesperidin nanocrystal. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **5**(3):954-60.
- MAZZAFERRO LS, BRECCIA JD (2012). Quantification of hesperidin in citrus-based foods using a fungal diglycosidase. *Food Chemistry*, **134**(4):2338-2344.
- MCBRIDE JM (2016). Embryology, anatomy, and histology of the kidney. *The Kidney: A Comprehensive Guide to Pathologic Diagnosis and Management*, **13**:1-18.
- MELTZ ML, MACGREGOR JT (1981). Activity of the plant flavanol quercetin in the mouse lymphoma L5178Y TK+/- mutation, DNA single-strand break, and Balb/c 3T3 chemical transformation assays. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, **88**(3):317-324.
- MEMARIANI H, MEMARIANI M, GHASEMIAN A (2019). An overview on anti-biofilm properties of quercetin against bacterial pathogens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **35**(9):1-16.
- MERAL R, DOĞAN İS, KANBEROĞLU GS (2012). Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Journal of the Institute of Science and Technology*, **2**(2):45-50.
- MOINUDDIN Z, DHANDA R (2015). Anatomy of the kidney and ureter. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, **16**(6):247-252.
- MOLAEI A, HATAMI H, DEHGHAN G, SADEGHIAN R, KHAJEHNASIRI N (2020). Synergistic effects of quercetin and regular exercise on the recovery of spatial memory and reduction of parameters of oxidative stress in animal model of Alzheimer's disease. *Experimental and Clinical Sciences Journal*, **19**:596-612.
- MOSTAFA OAA, IBRAHIM F, BORAI E (2023). Protective effects of hesperidin in cyclophosphamide-induced parotid toxicity in rats. *Scientific Reports*, **13**(1):1-11.
- MURILLO E, ARISTIZÁBAL JG, MURILLO W, IBARZ A, MÉNDEZ JJ, SOLANILLA JF (2017). Preliminary characterization of the enzyme polyphenol oxidase and rheological behavior from Averrhoa carambola juice. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, **70**(1):8099-8113.
- NAITO Y, MASAICHI CIL, KATO Y, NAGAI R, YONEI Y (2010). Oxidative stress markers. *Anti-Aging Medicine*, **7**(5):36-44.
- NALINI N, ARANGANATHAN S, KABALIMURTHY J (2012). Chemopreventive efficacy of hesperetin (citrus flavonone) against 1, 2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **22**(5):397-408.
- NARDARAJAH D (2014). Hesperidin-A short review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **7**(1):8-19.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (2010). *Guide for the care and use of laboratory animals*. National Academies Press, 8th Ed., Washington, DC.
- NAUGHTON CA (2008). Drug-induced nephrotoxicity. *American Family Physician*, **78**(6):743-750.
- NECTOUX AM, ABE C, HUANG SW, OHNO N, TABATA J, MIYATA Y, MATSUI T (2019). Absorption and metabolic behavior of hesperidin (Rutinosylated Hesperetin) after single oral administration to sprague-dawley rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **67**(35):9812-9819.

- NI F, GONG Y, LI L, ABDOLMALEKY HM, ZHOU JR (2012). Flavonoid ampelopsin inhibits the growth and metastasis of prostate cancer in vitro and in mice. *PloS One*, **7**(6):38802-38813.
- OHARA T, MUROYAMA K, YAMAMOTO Y, MUROSAKI S (2016). Oral intake of a combination of glucosyl hesperidin and caffeine elicits an anti-obesity effect in healthy, moderately obese subjects: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Nutrition Journal*, **15**(1):1-11.
- OHKAWA H, OHISHI N, YAGI K (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**(2):351-358.
- OHNO Y, ORMSTAD K (1985). Formation, toxicity and inactivation of acrolein during biotransformation of cyclophosphamide as studied in freshly isolated cells from rat liver and kidney. *Archives of Toxicology*, **57**(2):99-103.
- OLAYINKA ET, ORE A, OLA OS, ADEYEMO OA (2015). Ameliorative effect of gallic acid on cyclophosphamide-induced oxidative injury and hepatic dysfunction in rats. *Medical Sciences*, **3**(3):78-92.
- OMOLE JG, AYOKA OA, ALABI QK, ADEFISAYO MA, ASABA MA, OLUBUNMI BO, FADEYI BA (2018). Protective effect of kolaviron on cyclophosphamide-induced cardiac toxicity in rats. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, **23**:649-663.
- ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT TEST GUIDELINES PROGRAMME. "OECD Guideline for The Testing of Chemicals". Erişim Adresi: [\[https://www.oecd.org/env/ehs/testing/TG%20413%20Revised%2016-OCT-2015.pdf\]](https://www.oecd.org/env/ehs/testing/TG%20413%20Revised%2016-OCT-2015.pdf). Erişim tarihi: 14/11/2021.
- OTA-KONTANI A, HIRATA H, OGURA M, TSUCHIYA Y, HARADA-SHIBA M (2020). Comprehensive analysis of mechanism underlying hypouricemic effect of glucosyl hesperidin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **521**(4):861-867.
- OUN R, MOUSSA YE, WHEATE NJ (2018). The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Transactions*, **47**(19):6645-6653.
- OZAROWSKI M, KARPINSKI TM (2021). Extracts and flavonoids of passiflora species as promising anti-inflammatory and antioxidant substances. *Current Pharmaceutical Design*, **27**(22):2582-2604.
- OZBEK E (2012). Induction of oxidative stress in kidney. *International Journal of Nephrology*, **2012**:1-9.
- OZCAN A, KORKMAZ A, OTER S, COSKUN O (2005). Contribution of flavonoid antioxidants to the preventive effect of mesna in cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *Archives of Toxicology*, **79**(8):461-465.
- ÖZCAN O, ERDAL H, ÇAKIRCA G, YÖNDEN Z (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, **6**(3):331-336.
- ÖZER ÖF, GÜLER EM, SELEK Ş, ÇOBAN G, TÜRK HM, KOÇYİĞİT A (2019). Akciğer, meme ve kolon kanserli hastalarda oksidatif stres parametrelerinin değişimi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **16**(2):235-240.
- PADMINI MP, KUMAR JV (2012). A histopathological study on gentamycin induced nephrotoxicity in experimental albino rats. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, **1**(1):14-17.
- PAGLIA DE, VALENTINE WN (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **70**(1):158-169.
- PANCHE AN, DIWAN AD, CHANDRA SR (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, **5**:1-15.
- PARI L, KARTHIKEYAN A, KARTHIKA P, RATHINAM A (2015). Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicology Reports*, **2**:46-55.

- PATRA K, BOSE S, SARKAR S, RAKSHIT J, JANA S, MUKHERJEE A, BHATTACHARJEE S (2012). Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. *Chemico-Biological Interactions*, **195**(3):231-239.
- PATWA J, KHAN S, JENA G (2020). Nicotinamide attenuates cyclophosphamide- induced hepatotoxicity in SD rats by reducing oxidative stress and apoptosis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **34**(10):22558-22571.
- PATZER L (2008). Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. *Pediatric Nephrology*, **23**(12):2159-2173.
- PERAZELLA MA, ROSNER MH (2022). Drug-induced acute kidney injury. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. **17**(8):1220-1233.
- PIENIAŻEK A, CZEPAS J, PIASECKA-ZELGA J, GWOŹDZIŃSKI K, KOCEVA-CHYŁA A (2013). Oxidative stress induced in rat liver by anticancer drugs doxorubicin, paclitaxel and docetaxel. *Advances in Medical Sciences*, **58**(1):104-111.
- PISOSCHI AM, POP A (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **97**:55-74.
- POIRIER LA (1987). Stages in carcinogenesis: alteration by diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **45**(1):185-191.
- POLUKONOVA NV, NAVOLOKIN NA, BUCHARSKAYA AB, MUDRAK DA, BARYSHNIKOVA MA, STEPANOVA EV, MASLYAKOVA GN (2018). The apoptotic activity of flavonoid-containing *Gratiola officinalis* extract in cell cultures of human kidney cancer. *Russian Open Medical Journal*, **7**(4):402-412.
- PREISER JC (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, **36**(2):147-154.
- PYRZYŃSKA K (2022). Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. *Nutrients*, **14**(12):2387-2399.
- RANDALL THOMAS S (2009). Kidney modeling and systems physiology. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, **1**(2):172-190.
- REDDY S, GINN S, ROSS JM (2002). Fas and Fas ligand immunolocalization in pancreatic islets of NOD mice during spontaneous and cyclophosphamide-accelerated diabetes. *Journal of Molecular Histology*, **34**(1-2):1-14.
- REDDY S, ROSS JM (2003). Fas and Fas ligand immunoexpression in pancreatic islets of NOD mice during spontaneous and cyclophosphamide- accelerated diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1005**(1):166-169.
- REHMAN MU, TAHIR M, ALI F, QAMAR W, LATEEF A, KHAN R, SULTANA S (2012). Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **365**(1):119-127.
- ROSA AC, CORSI D, CAVI N, BRUNI N, DOSIO F (2021). Superoxide dismutase administration: A review of proposed human uses. *Molecules*, **26**(7):1844-1884.
- RUEFF J, LAIRES A, BORBA H, CHAVECA T, GOMES MI, HALPERN M (1986). Genetic toxicology of flavonoids: the role of metabolic conditions in the induction of reverse mutation, SOS functions and sisterchromatid exchanges. *Mutagenesis*, **1**(3):179-183.
- RUSHMORE TH, PICKETT CB (1993). Glutathione S-transferases, structure, regulation, and therapeutic implications. *Journal of Biological Chemistry*, **268**(16):11475-11478.
- SAĞLIK BAKANLIĞI (2013). Erişim Adresi: [<http://www.thsk.saglik.gov.tr/2013-10-01-11-00-51/halk-sagligina-yonelik-bilgiler/312-kanser-genel-tanimi.html>]. Erişim Tarihi: 12/06/2022
- SAITO H, WATANABE Y, SATO K, IKAWA H, YOSHIDA Y, KATAKURA A, TAKAYAMA S, SATO M (2014). Effects of professional oral health care on reducing the risk of chemotherapy-induced oral mucositis. *Supportive Care in Cancer*, **22**(11):2935-2940.

- SALEHI B, MARTORELL M, ARBISER JL, SUREDA A, MARTINS N, MAURYA PK, SHARIFI-RAD J (2018). Antioxidants: positive or negative actors?. *Biomolecules*, **8**(4):124-130.
- SANCHEZ-GONZALEZ PD, LOPEZ-HERNANDEZ FJ, PEREZ-BARRIOCANAL F, MORALES AI, LOPEZ-NOVOA JM (2011). Quercetin reduces cisplatin nephrotoxicity in rats without compromising its anti-tumour activity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, **26**(11):3484-3495.
- SAQIB M, KHAN BT, GUL M, YASEEN S, ZAIDI SU, SHAREEF M (2019). Restoration of renal glutathione levels and histoarchitecture by N-acetylcysteine post cyclophosphamide exposure in rats. *Pakistan Journal of Physiology*, **15**(2):33-37.
- SAYED-AHMED MM (2010). Progression of cyclophosphamide-induced acute renal metabolic damage in carnitine-depleted rat model. *Clinical and Experimental Nephrology*, **14**:418-426.
- SAWYERS CL, ABATE-SHEN C, ANDERSON KC, BARKER A, BASELGA J, BERGER NA (2013). AACR Cancer Progress Report 2013. *Clinical Cancer Research*, **19**(20):4-98.
- SENTHILKUMAR S, DEVAKI T, MANOHAR BM, BABU MS (2006). Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. *Clinica Chimica Acta*, **364**(1-2):335-342.
- SCHIRRMACHER V (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment. *International Journal of Oncology*, **54**(2):407-419.
- SCHLACHTERMAN A, VALLE F, WALL KM, AZIOS NG, CASTILLO L, MORELL L, DHARMAWARDHANE SF (2008). Combined resveratrol, quercetin, and catechin treatment reduces breast tumor growth in a nude Mouse model. *Translational Oncology*, **1**(1):19-27.
- SHEWEITA SA, EL-HOSSEINY LS, NASHASHIBI MA (2016). Protective effects of essential oils as natural antioxidants against hepatotoxicity induced by cyclophosphamide in mice. *PloS One*, **11**(11):667-681.
- SCHUMACKER PT (2015). Reactive oxygen species in cancer: a dance with the devil. *Cancer Cell*, **27**(2):156-157.
- SEKEROGLU V, AYDIN B, SEKEROGLU ZA (2011). Viscum album L. extract and quercetin reduce cyclophosphamide-induced cardiotoxicity, urotoxicity and genotoxicity in mice. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **12**(11):2925-2931.
- SHERIF IO (2018). Uroprotective mechanism of quercetin against cyclophosphamide-induced urotoxicity: Effect on oxidative stress and inflammatory markers. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**(9):7441-7448.
- SHERIF I (2020). Uroprotective mechanisms of natural products against cyclophosphamide-induced urinary bladder toxicity: A comprehensive review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, **19**(3):333-346.
- SHETH VG, NAVIK U, MAREMANDA KP, JENA G (2018). Effect of diethyldithiocarbamate in cyclophosphamide-induced nephrotoxicity: Immunohistochemical study of superoxide dismutase 1 in rat. *Indian Journal of Pharmacology*, **50**(1):4-13.
- SHI GJ, LI Y, CAO QH, WU HX, TANG XY, GAO XH, YANG Y (2019). In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **109**:1085-1099.
- SHRIVASTAVA M, KAR V, SHRIVASTAVA S (2013). Cyclophosphamide altered the myocardial marker enzymes: protection provoked by hesperidin in rats. *International Journal of Phytomedicine*, **5**(2):141-148.
- SIDDIQI A, NAFEEES S, RASHID S, SULTANA S, SAIDULLAH B (2015). Hesperidin ameliorates trichloroethylene-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **406**(1):9-20.
- SIES H, BERNDT C, JONES DP (2017). Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, **86**:715-748.
- SINGH M, KUMAR N, SHUAIB M, GARG VK, SHARMA A (2014). A review on renal protective agents for cyclophosphamide induced nephrotoxicity. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, **3**:737-747.

- SKOULIDIS F, HEYMACH JV (2019). Co-occurring genomic alterations in non-small-cell lung cancer biology and therapy. *Nature Reviews Cancer*, **19**(9):495-509.
- STOIA M, OANCEA S (2022). Low-molecular-weight synthetic antioxidants: classification, pharmacological profile, effectiveness and trends. *Antioxidants*, **11**(4):638-646.
- SU J, WEI Y, LIU M, LIU T, LI J, JI Y, LIANG J (2014). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of Rhizoma Dioscoreae septemlobae extracts and its main component dioscin via regulation of mOAT1, mURAT1 and mOCT2 in hypertensive mice. *Archives of Pharmacol Research*, **37**:1336-1344.
- SU JF, GUO CJ, WEI JY, YANG JJ, JIANG YG, LI AYF (2003). Protection against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats by oral pretreatment with quercetin. *Biomedical and Environmental Sciences*, **16**(1):1-8.
- SUAREZ J, HERRERA MD, MARHUENDA E (1998). In vitro scavenger and antioxidant properties of hesperidin and neohesperidin dihydrochalcone. *Phytomedicine*, **5**(6):469-473.
- SUDHAKARAN M, SARDESAI S, DOSEFF AI (2019). Flavonoids: New frontier for immuno-regulation and breast cancer control. *Antioxidants*, **8**(4):103-130.
- ŞEKEROĞLU ZA, ŞEKEROĞLU V (2012). Effects of Viscum album L. extract and quercetin on methotrexate-induced cytogenotoxicity in mouse bone-marrow cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **746**(1):56-59.
- ŞENGÜL E, BİNNETOĞLU E, YILMAZ A (2011). Kronik böbrek hastalarında serum ürik asit düzeyi ile glukoz, HbA1c, lipid profili, vücut kitle indeksi ve kan basıncı arasındaki ilişki. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **25**:163-168.
- ŞENGÜL E, GELEN V, GEDİKLİ S, ÖZKANLAR S, GÜR C, ÇELEBİ F, ÇINAR A (2017). The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **92**:303-307.
- TAKEHIKO O, GARLAND EM, TAYLOR RJ, JOHANSSON SL, COHEN SM (1992). The effect of cyclophosphamide administration on the kidney of the rat. *Toxicology Letters*, **63**(3):261-276.
- TAŞCI B, KOCA İ (2019). Mor Soğanın (Allium Cepa L.) Önemli Bileşiği: Kersetin ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Samsun Sağlık Bilimleri Dergisi*, **4**(2):32-37.
- TASLIMI P, KANDEMİR FM, DEMİR Y, İLERİTÜRK M, TEMEL Y, ÇAĞLAYAN C, GÜLÇİN İ (2019). The antidiabetic and anticholinergic effects of chrysin on cyclophosphamide- induced multiple organ toxicity in rats: Pharmacological evaluation of some metabolic enzyme activities. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **33**(6):22313-22323.
- TAVANA E, MOLLAZADEH H, MOHTASHAMI E, MODARESI SMS, HOSSEINI A, SABRI H, SAHEBKAR A (2020). Quercetin: a promising phytochemical for the treatment of glioblastoma multiforme. *BioFactors*, **46**(3):356-366.
- TEMEL Y, KUCUKLER S, YILDIRIM S, CAGLAYAN C, KANDEMİR FM (2020). Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **393**:325-337.
- TORABI F, SHAFAROU DI MM, REZAEI N (2017). Combined protective effect of zinc oxide nanoparticles and melatonin on cyclophosphamide-induced toxicity in testicular histology and sperm parameters in adult Wistar rats. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, **15**(7):403-411.
- TRIPATHI DN, JENA GB (2009). Intervention of astaxanthin against cyclophosphamide-induced oxidative stress and DNA damage: a study in mice. *Chemico-Biological Interactions*, **180**(3):398-406.
- TSANG CK, LIU Y, THOMAS J, ZHANG Y, ZHENG XS (2014). Superoxide dismutase 1 acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance. *Nature Communications*, **5**(1):3446-3457.
- TURK E, KANDEMİR FM, YILDIRIM S, CAGLAYAN C, KUCUKLER S, KUZU M (2019). Protective effect of hesperidin on sodium arsenite-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Biological Trace Element Research*, **189**(1):95-108.

- TÜRKİYE İSTATİSTİK KURUMU. Ölüm ve ölüm nedeni istatistikleri, 2020. Erişim Adresi: [https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Olum-ve-Olum-Nedeni-Istatistikleri-2020-37243]. Erişim Tarihi: 26/02/2023.
- UBER AM, SUTHERLAND SM (2020). Nephrotoxins and nephrotoxic acute kidney injury. *Pediatric Nephrology*, **35**(10):1825-1833.
- UYLAŞ MU, ŞAHİN A, ŞAHİNTÜRK V, ALATAŞ İÖ (2018). Quercetin dose affects the fate of hepatic ischemia and reperfusion injury in rats: An experimental research. *International Journal of Surgery*, **53**:117-121.
- VAFADAR A, SHABANINEJAD Z, MOVAHEDPOUR A, FALLAHI F, TAGHAVIPOUR M, GHASEMI Y, MIRZAEI H (2020). Quercetin and cancer: New insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells. *Cell & Bioscience*, **10**(1):1-17.
- VALENZUELA A (1991). The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sciences*, **48**(4):301-309.
- VURAL N (2005). Toksikoloji. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, **73**:342-390.
- WALLACE MA (1998). Anatomy and physiology of the kidney. *AORN Journal*, **68**(5):799-820.
- WANG D, LI L, YANG H, FERGUSON SS, BAER MR, GARTENHAUS RB, WANG H (2013). The constitutive androstane receptor is a novel therapeutic target facilitating cyclophosphamide-based treatment of hematopoietic malignancies. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, **121**(2):329-338.
- WANG J, ZHU H, WANG K, YANG Z, LIU Z (2020). Protective effect of quercetin on rat testes against cadmium toxicity by alleviating oxidative stress and autophagy. *Environmental Science and Pollution Research*, **27**:25278-25286.
- WANG JL, QIAN X, CHINOOKOSWONG N, LU J, CHOW G, THEILL LE, SHI ZQ (2002). Polyethylene glycolated recombinant TNF receptor I improves insulinitis and reduces incidence of spontaneous and cyclophosphamide-accelerated diabetes in nonobese diabetic mice. *Endocrinology*, **143**(9):3490-3497.
- WANG L, ALBASI C, FAUCET-MARQUIS V, PFOHL-LESZKOWICZ A, DORANDEU C, MARION B, CAUSSERAND C (2009a). Cyclophosphamide removal from water by nanofiltration and reverse osmosis membrane. *Water Research*, **43**(17):4115-4122.
- WANG L, LEE IM, ZHANG SM, BLUMBERG JB, BURING JE, SESSO HD (2009b). Dietary intake of selected flavonols, flavones, and flavonoid-rich foods and risk of cancer in middle-aged and older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **89**(3):905-912.
- WEI X, SU F, SU X, HU T, HU S (2012). Stereospecific antioxidant effects of ginsenoside Rg3 on oxidative stress induced by cyclophosphamide in mice. *Fitoterapia*, **83**(4):636-642.
- WELLINGTON D, MIKAELIAN I, SINGER L (2013). Comparison of ketamine–xylazine and ketamine–dexmedetomidine anesthesia and intraperitoneal tolerance in rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, **52**(4):481-487.
- WILLIAMSON G, MANACH C (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **81**(1):243S-255S.
- WILMSEN PK, SPADA DS, SALVADOR M (2005). Antioxidant activity of the flavonoid hesperidin in chemical and biological systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(12):4757-4761.
- WU Q, NEEDS PW, LU Y, KROON PA, REN D, YANG X (2018). Different antitumor effects of quercetin, quercetin-3'-sulfate and quercetin-3-glucuronide in human breast cancer MCF-7 cells. *Food & Function*, **9**(3):1736-1746.
- XIONG H, WANG J, RAN Q, LOU G, PENG C, GAN Q, HUANG Q (2019). Hesperidin: a therapeutic agent for obesity. *Drug Design, Development and Therapy*, **13**:3855-3868.
- XU D, HU MJ, WANG YQ, CUI YL (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, **24**(6):1123-1131.

- YADAV MK, VISHWAKARMA VK, DWIVEDI J, UPADHYAY PK (2023). Combination of Curcumin and Quercetin: Reclaiming the Lost Ground Against Nephrotoxicity. *Current Bioactive Compounds*, **19**(2):29-36.
- YI S, YI L, LI L, JIN F, BEIYAN L, XUEDONG Z, HONGKUN W (2011). Antibacterial activity of quercetin on oral infectious pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, **5**(30):5358-5361.
- YILDIZ Ş, Turan S (2020). Fenolik bileşiklerin lipid oksidasyonunu önleme aktiviteleri ve timokinonun terapötik özellikleri. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **34**(2):397-416.
- YILMAZ PÖ, KARACAN E (2021). The effects of C-reactive protein/albumin ratio and hematologic parameters on predicting the prognosis for emergency surgical patients in intensive care. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*, **27**(1):67-74.
- YOKOYAMA C, SUEYOSHI Y, EMA M, MORI Y, TAKAISHI K, HISATOMI H (2017). Induction of oxidative stress by anticancer drugs in the presence and absence of cells. *Oncology Letters*, **14**(5):6066-6070.
- YOSHIKAWA T, NAITO Y (2002). What is oxidative stress?. *Japan Medical Association Journal*, **45**(7):271-276.
- YOUL E, BARDY G, MAGOUS R, CROS G, SEJALON F, VIRSOLVY A, OIRY C (2010). Quercetin potentiates insulin secretion and protects INS- 1 pancreatic β - cells against oxidative damage via the ERK1/2 pathway. *British Journal of Pharmacology*, **161**(4):799-814.
- YU Q, NIE SP, WANG JQ, LIU XZ, YIN PF, HUANG DF, XIE MY (2014). Chemoprotective effects of Ganoderma atrum polysaccharide in cyclophosphamide-induced mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, **64**:395-401.
- YUKSEL Y, YUKSEL R, YAGMURCA M, HALTAS H, ERDAMAR H, TOKTAS M, OZCAN O (2017). Effects of quercetin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Human & Experimental Toxicology*, **36**(1):51-61.
- ZAREBCZAN B, PINCHOT SN, KUNNIMALAIYAAN M, CHEN H (2011). Hesperetin, a potential therapy for carcinoid cancer. *The American Journal of Surgery*, **201**(3):329-333.
- ZARGAR S, WANI TA (2021). Protective role of quercetin in carbon tetrachloride induced toxicity in rat brain: biochemical, spectrophotometric assays and computational approach. *Molecules*, **26**(24):7526-7535.
- ZHANG J, TIAN Q, ZHOU SF (2006). Clinical pharmacology of cyclophosphamide and ifosfamide. *Current Drug Therapy*, **1**(1):55-84.
- ZHANG M, XIE Z, GAO W, PU L, WEI J, GUO C (2016). Quercetin regulates hepatic cholesterol metabolism by promoting cholesterol-to-bile acid conversion and cholesterol efflux in rats. *Nutrition Research*, **36**(3): 271-279.
- ZHANG S, HU C, GUO Y, WANG X, MENG Y (2021). Polyphenols in fermented apple juice: Beneficial effects on human health. *Journal of Functional Foods*, **76**:104294-104303.
- ZHANG Y, WANG B, GUO F, LI Z, QIN G (2018). Involvement of the TGF β 1-ILK-Akt signaling pathway in the effects of hesperidin in type 2 diabetic nephropathy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **105**:766-772.
- ZHANG W, WANG Y, YANG Z, QIU J, MA J, ZHAO Z, BAO T (2011). Antioxidant treatment with quercetin ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **112**(3):215-218.

EKLER

Ek 1. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Raporu



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 25/08/2021
TOPLANTI NO : 2021-14
DOSYA NO : 2021-71
KARAR NO : 2021-14-121

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Aslı UÇAR'ın yaptığı; araştırmacı olarak Prof. Dr. Serkan YILMAZ, Doç. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ve Arş. Gör. Şemsi Gül YILMAZ'ın katıldığı "Ratlarda Siklofosamid Maruziyeti Sonucu Ortaya Çıkan Oksidatif Stres ve Doku Hasarlarına Karşı Quercetin ve Hesperidin'in Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 30/06/2021 tarihli toplantısında alınan 2021-12-98 sayılı kararı uyarınca düzeltilmiş şekli ile yeniden değerlendirilmiş ve Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarih ve 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
Hayvan Sayısı : 36
Geçerlilik Süresi : 01/11/2021-01/11/2023

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K
Prof. Dr. Nuri YIGİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E
Prof. Dr. Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K

Doç. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K
Doç. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E
Dr. Vet. Hek. Nigar YERLİKAYA (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	K
Dr. Vet. Hek. Gürbüz ERTÜRK (Üye)	Active Veteriner Sağlık Merkezi	Serbest	E
Uzm. Vet. Hek. Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E
Uzm. Vet. Hek. Attila İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E
Fatma Aysun COŞKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K

ÖZGEÇMİŞ

I-Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı: Şemsi Gül YILMAZ

Doğum Tarihi ve Yeri:

Kişisel e-posta:

İletişim adresi:

II-Eğitimi

Doktora (2018-Halen): Ankara Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Yüksek Lisans (2015-2017): Ankara Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Lisans (2010-2014): Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Yabancı Dili: İngilizce

III-Mesleki Deneyimi

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi / Araştırma Görevlisi,
2014 – 2015

Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi / Araştırma Görevlisi, 2015 - Halen

IV. Bilimsel İlgili Alanlar

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Uçar, A., Yılmaz, S., **Yılmaz, Ş.**, & Kılıç, M. S. (2017). A research on the genotoxicity of stevia in human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 1-4. DOI: 10.1080/01480545.2017.1349135.z
2. **Yılmaz, Ş. G.**, Uçar, A., & Yılmaz, S. (2020). Do steviol glycosides affect the oxidative and genotoxicity parameters in BALB/c mice?. *Drug and chemical toxicology*, 1-6.

3. Özgür, M., **Gül Yılmaz, Ş.**, Uçar, A., & Yılmaz, S. (2021). Cytotoxic Effects of Bisphenol A as an Endocrine Disruptor on Human Lymphocytes. Iranian Journal of Toxicology, 15(2), 115-120.
4. Yılmaz, S., **Yılmaz, S. G.**, Ucar, A., & Celik, M. (2021). Genetics and Nutrigenetics: Involvement, Confidence and Knowledge of Turkish Dietitians. International Journal of Caring Sciences, 14(1), 623-631.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. **YILMAZ ŞG.**, YARDIMCI H. (2017). Kafeinin Sporcular Üzerinde Ergojenik Etkisi. *e-sağlık Beslenme ve Diyetetik Dergisi*, 5 (17): 56-65.

Kitap ve Kitap Bölümleri:

1. Yiyecek Hizmetleri Yönetimi, Bölüm Adı: (Gıda Güvenliği) (2023)., **Yılmaz Semsî Gül**, Uçar Aslı, Hipokrat Yayıncılık, Editör: Funda Pınar ÇAKIROGLU, Ayşe Nur SONGÜR BOZDAG, Basım sayısı:13, Sayfa Sayısı 529, ISBN:978-625-6429-02-4, Türkçe(Kitap Tercümesi) (Yayın No: 8331174)
2. Toplu Beslenme Sistemleri (Toplu Tüketim Yerleri) İçin Ulusal Menü Planlama ve Uygulama Rehberi (2020) Bölüm Adı: Toplu Beslenme Sistemleri Prosesleri / Süreçleri ve Uygulama Esasları, Baş Murat, Güneş Fatma Esra, Urhan Murat, Olcay Eminsoy İrem, Gümüş Damla, Mortaş Hande, Köse Süleyman, **Yılmaz Şemsî Gül**, Altan Murat, Erbağcı Mustafa Anıl, Çapaş Merve, Aykul Fatma, Yayın Yeri: T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Dairesi Başkanlığı, Editör: Beyhan Yasemin, Bilici Saniye, Kızıl Mevlüde, Basım sayısı:1, ISBN:978-975-590-776-5, Bölüm Sayfaları:1-48.
3. Toplu Beslenme Sistemleri (Toplu Tüketim Yerleri) İçin Ulusal Menü Planlama Ve Uygulama Rehberi, Bölüm Adı:(Özel Gün ve Organizasyonlarda Menü Planlama) (2020)., Dağ Ayhan, Köse Süleyman, Çapaş Merve, Öztürkmen Aylin, **Yılmaz Şemsî Gül**, Altan Murat, Yılmaz Beytül, T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Dairesi Başkanlığı, Editör: Beyhan Yasemin, Bilici Saniye, Kızıl Mevlüde, Editör, Basım sayısı:1, ISBN:978-975-590-776-5, Türkçe(Bilimsel Kitap), (Yayın No:7124448)
4. Geleceğin Dünyasında Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar, Bölüm adı: (Süregelelen Tartışma:Alternatif Tatlandırıcılar) (2018)., **Yılmaz Semsî Gül**, Uçar Aslı, Yılmaz Serkan, Ekin Yayınevi, Editör: Özgür Alparslan, Ü. Pınar Etiz, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 980, ISBN:9786053277903, Türkçe(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 7294067)
5. Bazı Çocuk Hastalıklarında Beslenme Tedavisi ve Hastalıklara Özgü Tarifeler (2018) Karataş Ezgi, Çağırın Yılmaz Feray, Koç Nevra, Erem Sinem, **Yılmaz Şemsî Gül**, Önal Seda, Yayın Yeri: Hatiboğlu Yayınevi, Editör: Yardımcı Hülya, Basım sayısı:1, Sayfa sayısı:179, ISBN:978-605-9541-08-4.

Diğer Yayınlar:

1. **YILMAZ ŞG.**, AKÇALI Ç., UÇAR A. (2015). Probiyotikler ve Sağlık Üzerine Etkileri, 3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Probiyotikler Kongresi, Poster Sunumu. (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:6983586)
2. BAHAR Ş., **YILMAZ ŞG.** (2017). Sporcularda Kafeinin Ergojenik Etkileri, Hacettepe Beslenme ve Diyetetik Günleri, VI. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, Poster Sunumu.
3. MANGAR B., **YILMAZ ŞG.** (2017). Anne Sütü ve Mikrobiyota, Hacettepe Beslenme ve Diyetetik Günleri, VI. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, Poster Sunumu.
4. SARITEKELİ ML., **YILMAZ ŞG.** (2017). Probiyotikler, Mikrobiyota ve Obezite, Hacettepe Beslenme ve Diyetetik Günleri, VI. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu, Poster Sunumu.
5. **YILMAZ ŞG.**, UÇAR A. (2017). Caffeine and Health, 11th European Nutrition and Dietetics Conference, Poster Sunumu.
6. **YILMAZ ŞG.**, UÇAR A. (2017). University Students' Body Perception and Obesity Prejudice, 11th European Nutrition and Dietetics Conference, Sözel Sunum.
7. UÇAR A., **YILMAZ ŞG.**, YILMAZ S. (2017). Assessment of Perception, Knowledge and Attitudes Related to Nutrigenetics among Dietitians Working at Hospital, World Congress on Nutrition and Obesity Prevention Source. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3662075)
8. **YILMAZ ŞG.**, UÇAR A. (2017). Dinler ve Beslenme. International Congress on Cultural Heritage and Tourism (ICCHT-2017), 453-462. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:3684461)
9. **YILMAZ ŞG.**, UÇAR A. (2017). A Traditional Turkish dessert:Pekmez.. 1st International Congress on Medicinal and Aromatic Plants "Natural and Healthy Life" (IMAPCON'17) (Özet Bildiri/Poster) (Yayın No:3526731)
10. **YILMAZ ŞG.**, ALTAN M., UÇAR A. (2018). Obezite ve Bilişsel Fonksiyon. 2nd International Scientific and Vocational Studies Congress-Health and Sport Science (BILMES 2018), 89-93. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983630)
11. ALTAN M., **YILMAZ ŞG.**, ÇAKIROĞLU FP. (2018). Yaşlılarda Malnütrisyon. 2nd International Scientific and Vocational Studies Congress-Health and Sport Science (BILMES 2018), 96-100. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983633)
12. ALTAN M., **YILMAZ ŞG.**, ÇAKIROĞLU FP. (2018). Omega-3 Suplement Alımının Nonalkolik Karaciğer Yağlanması Üzerine Etkisi. 1st International Health Science And Life Congress (IHSLC 2018), 34-39. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983618)
13. **YILMAZ ŞG.**, ALTAN M., UÇAR A. (2018). Gut Mikrobiyotası ve Hipokampal Fonksiyon. 1st International Health Science And Life Congress (IHSLC 2018), 17-22. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983612)

14. ALTAN M., **YILMAZ ŞG.** (2018). Gıdalardaki Koruyucu: Benzoik Asit. International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology (SANAR2018), 978-978. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983608)
15. **YILMAZ ŞG.**, ALTAN M., UÇAR A (2018). Yüksek Yağlı Diyet Alımının Bilişsel Fonksiyon Üzerine Etkileri. International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology (SANAR2018), 674-674. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) (Yayın No:6983602)

V. Bilimsel Etkinlikleri

Projeler:

1. Balb/c Cinsi Farelerde Steviol Glikozid'e Maruziyetin Oksidatif Hasar İndeks Parametreleri, Paraoksonase Enzimi ve Bazı Genetik Parametreler Üzerine Etkisinin İncelenmesi (Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Lisansüstü Tez Projesi, 2017, Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Aslı UÇAR, Araştırmacı: **Arş. Gör. Şemsi Gül YILMAZ** ve Prof. Dr. Serkan YILMAZ, 16.04.2017-26.01.2018, Ulusal).

VI. Diğer Bilgiler

Katıldığı Konferans ve Sempozyum v.b:

1. Nutrisyonda Güncel Yaklaşımlar Eğitimi, 19 Mayıs Üniversitesi (Ekim, 2015)
2. Obeziteye Multidisipliner Yaklaşım Kongresi, Şifa Üniversitesi (Kasım, 2015)
3. 3. Bağırsak Mikrobiyotası ve Probiyotikler Kongresi, Gazi Üniversitesi (Mart, 2016)
4. Mikrobiyota ve İnsan Sağlığı Sempozyumu, TÜBA (Nisan, 2017)
5. 1. Ulusal Hemşirelikte Araştırma Kongresi, HEMARGE (Nisan, 2017)
6. Yaşamın İlk 60 Ayında Malnütrisyon Çalıştayı, SADEFE (Mayıs, 2017)
7. 1. Uluslararası Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Kongresi, TABKON (Mayıs, 2017)
8. International Congress On Cultural Heritage And Tourism, ICCHT (Mayıs, 2017)
9. 11th European Nutrition and Dietetics Conference, Madrid, Conferenceseries (Haziran/Temmuz, 2017)
10. Hastalıklarda Güncel Nutrisyon Yaklaşımları Sempozyumu-I, GATA (Ekim, 2017)
11. World Congress on Nutrition and Obesity Prevention Source, Barcelona, Scientific Future Group (Kasım, 2017)
12. Düşük Kalorili ve Kalorisiz Tatlandırıcılar Konferansı, TDD (Aralık, 2017)