



T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD KAYNAKLI OKSİDATİF STRES,
DOKU HASARI VE DNA HASARI KARŞISINDA KURKUMİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özkan SOYLU

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ

2024 - KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**RATLARDA SİKLOFOSFAMİD KAYNAKLI OKSİDATİF STRES,
DOKU HASARI ve DNA HASARI KARŞISINDA KURKUMİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özkan SOYLU

DOKTORA TEZİ

Danışman

Prof. Dr. Emine ATAKIŞI

2024 - KARS

Bu tez KAÜ-BAP Koordinatörlüğü tarafından 2021-TS-59 proje koduyla desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Dünya Sağlık Örgütü'nün paylaştığı verilere göre kanser dünya çapında önde gelen bir ölüm nedenidir. 2020 yılında kanser sebebiyle yaklaşık 10 milyon insanın yaşamını yitirdiği ve gerçekleşen altı ölümden birinin kanserden kaynaklandığı bildirilmiştir. Kanser tedavisinde hasta bireyin özelliklerine ve hastalığın durumuna bağlı olarak radyoterapi, immunoterapi, kemoterapi ve cerrahi müdahale yöntemlerinden bir veya bir kaçını kullanılabilmektedir.

Siklofosfamid kemoterapide kullanılan antineoplastik ajanlar arasında bilinen en eski ajanlardan biridir ve günümüzde sıkça teşhis edilen kanser tiplerinin tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Uygulanacak siklofosfamid tedavisi sırasında sağlıklı dokularda da meydana gelen toksisite doz sınırlayıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Siklofosfamide bağlı sağlıklı doku toksisitelerinin mekanizması tam olarak anlaşılmasa da, oksidatif stres kaynaklı oldukları düşünülmektedir.

Zerdaçal bitkisi (*Curcuma longa L.*), Çin ve Hindistan'da yüzyıllardır geleneksel tıpta tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Bu bitkinin içeriğinde bulunan kurkuminoid yapılarından en önemlisi olan Kurkumin antiinflamatuvar, antioksidan, antikanserojenik, antidiyabetik, antibakteriyel ve antiviral gibi çok geniş spektrumda etkilere sahiptir.

Bu çalışmada siklofosfamid uygulanan ratlarda oluşan oksidatif stres, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisite ile bu dokularda meydana gelen DNA hasarı karşısında, doğal ve bitki kaynaklı antioksidan olan kurkuminin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

TEŐEKKÜR

Doktora eđitimim boyunca ve tez çalıőmam sűresince bana yol gűsteren, destek ve emeklerini esirgemeyen danıőmanım Prof. Dr. Emine ATAKIŐI'ye en içten saygı ve teőekkűrlerimi sunarım.

Eđitimim boyunca bilgileriyle bana ıŐık tutan deđerli hocam Biyokimya Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Őaban MARAŐLI'ya, akademik bilgileriyle desteklerini sűrekli hissettiđim sevgili hocalarım Prof. Dr. Ođuz MERHAN ve Doç. Dr. Metin OĐŪN'e, tez çalıőmamda yardımlarını esirgemeyen Dr. Ođr. Ūyesi Emin KARAKURT'a ve ArŐ. Gűr. Ayfer YILDIZ'a, laboratuvar çalıőmalarında yardımlarını esirgemeyen Dr. Ođr. Ūyesi Serpil AYGŲRMEZ ve ArŐ. Gűr. Lale BAŐER'e, tez çalıőmam esnasında desteđini esirgemeyen arkadaŐım Dr. Ođr. Ūyesi Nűvit COŐGUN'a, doktora eđitim sűrecine baŐlamamda etkili olan ve eđitim sűresince desteđini sűrekli hissettiđim arkadaŐım Veteriner Hekim Dr. Esen KULAÇ POLAT'a teőekkűr ederim.

Ve hayatım boyunca beni her konuda destekleyen ailem; annem Kamuran SOYLU'ya, doktora eđitim sűrecimde 9 Aralık 2020 tarihinde kaybettiđimiz rahmetli babam YaŐar SOYLU'ya ve kardeŐim Asilkan SOYLU'ya sonsuz teőekkűr ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	I
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
GRAFİKLER LİSTESİ	VI
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Siklofosfamid (CP)	2
2.1.1. Kimyasal Yapısı ve Metabolizması	2
2.1.2. Hepatoksisite	5
2.1.3. Nefrotoksisite	6
2.1.4. Kardiyotoksisite	6
2.2. Kurkumin (CUR)	8
2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Metabolizması	8
2.2.2. Fizyolojik Etkileri	9
2.3. Oksidatif Stres, Doku Hasarı Biyobelirteçleri ve Sitokinler	10
2.3.1. Malondialdehit (MDA)	12
2.3.2. Nitrik Oksit (NO)	12
2.3.3. Redükte Glutasyon (GSH)	13
2.3.4. Alanin Aminotransferaz (ALT)	14
2.3.5. Aspartat Aminotransferaz (AST)	15
2.3.6. Alkalın Fosfataz (ALP)	15
2.3.7. Kardiyak Troponin-I (cTn-I)	16
2.3.8. Kreatin Kinaz İzoenzim MB (CK-MB)	16
2.3.9. Kan Üre Nitrojeni (BUN)	17
2.3.10. Kreatinin (Cr)	18
2.3.11. 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG)	18
2.3.12. Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α)	19
2.3.13. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)	20

3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.2. Deneý Gruplarının Oluřturulması ve Uygulamalar	22
3.3. Metot	23
3.3.1. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar	23
3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.3.3. Kullanılan Kitler	24
3.3.4. Kullanılan Farmasötik ve Nutrasötik Maddeler	24
3.4. Biyokimyasal Analizler	24
3.4.1. Malondialdehit (MDA) Analizi	24
3.4.2. Nitrik Oksit (NO) Analizi	25
3.4.3. Redükte Glutasyon (GSH) Analizi	27
3.4.4. Alanin Aminotransferaz (ALT) Analizi	28
3.4.5. Aspartat Aminotransferaz (AST) Analizi	29
3.4.6. Alkalın Fosfataz (ALP) Analizi	30
3.4.7. Kardiyak Troponin-I (cTn-I) Analizi	31
3.4.8. Kreatin Kinaz İzoenzim MB (CK-MB) Analizi	32
3.4.9. Kan Üre Nitrojeni (BUN) Analizi	33
3.4.10. Kreatinin (Cr) Analizi	34
3.4.11. 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG) Analizi	35
3.4.12. Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α) Analizi	36
3.4.13. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) Analizi	38
3.5. Histopatolojik Analizler	39
3.6. İstatistiksel Analizler	39
4. BULGULAR	40
4.1. Biyokimyasal Bulgular	40
4.2. Histopatolojik Bulgular	55
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ	66
KAYNAKLAR	67

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

•OH	Hidroksil radikali
4-OHCP	4-hidroksisiklofosfamid
8-OHdG	8-hidroksi-deoksiguanozin
ADP	Adenozin difosfat
Akt	Protein kinaz B
ALDH	Aldehit dehidrojenaz
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AMP	Adenozin monofosfat
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
BUN	Kan üre nitrojeni
cIAP	Apoptoz proteininin hücrel inhibitorü
CAT	Katalaz
CK	Kreatin kinaz
CK-BB	Beyin CK izoformu
CK-MM	Kas CK izoformu
CK-MB	Kreatin kinaz izoenzim MB
COX-2	Siklooksijenaz-2
CP	Siklofosfamid
Cr	Kreatinin
cTn-1	Kardiyak troponin I
CUR	Kurkumin
CYP	Sitokrom P450
DNPH	2,4dinitrofenilhidrazin
DTNB	5,5'-(2-ditoyo nitrobenzoik asit)
ECH	CNC homolojisine sahip, eritroid hücre kaynaklı protein
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
ELISA	Enzim bağlantılı immünosorbent analiz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
FAD	Flavin adenin dinükleotid

FADD	Fas ile ilişkili ölüm alanı
FasL	Fas ligandı
GCL	Glutamat sistein ligaz
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
GS	Glutatyon sentetaz
GSH	Redükte glutatyon
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
HOCl	Hipokloröz asit
IκB	κ B proteinlerinin inhibitörü
IKK	I κ B kinaz
IL-1β	Interlökin-1 beta
IL-6	Interlökin-6
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
KEAP1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
KU	King unit
MAPK	Mitojen aktive edici protein kinaz
MDA	Malondialdehit
MLKL	Karışık soy kinaz alanı benzeri
Na₂HPO₄ 2H₂O	Sodyum hidrojen fosfat
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaNO₂	Sodyum nitrat
NaNO₃	Sodyum nitrit
NaOH	Sodyum hidroksit
NEDD	N-(1-naftil)etilendiamin dihidroklorür
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NIK	NF- κ B indükleyen kinaz
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit

NOS	Nitrik oksit sentaz
NOX	NADPH oksidaz
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
O₂⁻	Süperoksit anyonu
ONOO⁻	Peroksinitrit
RIPK	Reseptör etkileşimli serin/treonin-protein kinaz
RNS	Reaktif nitrojen türevi
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
sTNF-α	Çözünür TNF- α
TACE	TNF- α dönüştürücü enzim
TAD	Transkripsiyon aktivasyon alanı
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikarboksilik asit
TCAA	Triklor asetik asit
TEP	1,1,3,3-tetraetoksipropan
tmTNF-α	Transmembran TNF- α
TNFR	TNF reseptörü
TNF-α	Tümör nekroz faktörü alfa
TRADD	TNFR1 ile ilişkili ölüm alanına
TRAF	TNFR ile ilişkili faktör
VCl₃	Vanadyum (III) klorür
ZnSO₄	Çinko sülfat

ŞEKİLLER LİSTESİ**Sayfa No**

Şekil 1. CP'nin kimyasal yapısı	3
Şekil 2. CP'nin metabolik yolu	5
Şekil 3. CUR'un molekül yapısı	8
Şekil 4. Karaciğer Dokusu Histopatolojisi.....	55
Şekil 5. Böbrek Dokusu Histopatolojisi.....	56
Şekil 6. Kalp Dokusu Histopatolojisi.....	57



TABLULAR LİSTESİ**Sayfa No**

Tablo 1. Tam kan GSH, plazma MDA ve NO, serum cTn-1, BUN ve Cr konsantrasyonları ve ALT, AST, ALP ve CK-MB aktiviteleri ($x \pm SD$)..... 53

Tablo 2. Karaciğer, böbrek ve kalp dokuları 8-OHdG, TNF- α ve NF- κ B konsantrasyonları ($x \pm SD$). 54



GRAFİKLER LİSTESİ	Sayfa No
Grafik 1. MDA Analizi Standart Grafiği	25
Grafik 2. Nitrat Analizi Standart Grafiği.....	26
Grafik 3. Nitrit Analizi Standart Grafiği	27
Grafik 4. GSH Analizi Standart Grafiği.....	28
Grafik 5. ALT Analizi Standart Grafiği.....	29
Grafik 6. AST Analizi Standart Grafiği	30
Grafik 7. cTn-I Analizi Standart Grafiği.....	32
Grafik 8. CK-MB Analizi Standart Grafiği.....	33
Grafik 9. Cr Analizi Standart Grafiği.....	35
Grafik 10. 8-OHdG Analizi Standart Grafiği.....	36
Grafik 11. TNF- α Analizi Standart Grafiği.....	37
Grafik 12. NF- κ B Analizi Standart Grafiği.....	39
Grafik 13. MDA Konsantrasyonları Grafiği	40
Grafik 14. NO Konsantrasyonları Grafiği.....	41
Grafik 15. GSH Konsantrasyonları Grafiği.....	41
Grafik 16. ALT Enzim Aktiviteleri Grafiği	42
Grafik 17. AST Enzim Aktiviteleri Grafiği.....	43
Grafik 18. ALP Enzim Aktiviteleri Grafiği.....	43
Grafik 19. cTn-I Konsantrasyonları Grafiği.....	44
Grafik 20. CK-MB Enzim Aktiviteleri Grafiği.....	45
Grafik 21. BUN Konsantrasyonları Grafiği	45
Grafik 22. Cr Konsantrasyonları Grafiği.....	46
Grafik 23. Karaciğer 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği	47
Grafik 24. Böbrek 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği	47
Grafik 25. Kalp 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği.....	48
Grafik 26. Karaciğer TNF- α Konsantrasyonları Grafiği.....	49

Grafik 27. Böbrek TNF- α Konsantrasyonları Grafiği.....	49
Grafik 28. Kalp TNF- α Konsantrasyonları Grafiği.....	50
Grafik 29. Karaciğer NF- κ B Konsantrasyonları Grafiği.....	51
Grafik 30. Böbrek NF- κ B Konsantrasyonları Grafiği.....	51
Grafik 31. Kalp NF- κ B Konsantrasyonları Grafiği.....	52



ÖZET

Ratlarda Siklofosfamid Kaynaklı Oksidatif Stres, Doku Hasarı ve DNA Hasarı Karşısında Kurkuminin Etkilerinin Araştırılması

Bu doktora tezi çalışması zerdeçal bitkisinin içeriğinde bulunan kurkuminoidlerden en önemlisi kurkuminin ratlarda siklofosfamidin neden olduğu oksidatif stres, hepatoksisite, nefrotoksisite ve kardiyotoksisite ile birlikte bu dokularda meydana getirdiği DNA hasarı üzerindeki etkilerini araştırma amacıyla gerçekleştirildi. Ortalama canlı ağırlıkları 250-270 gram 48 adet Wistar albino erkek rat ile çalışma gerçekleştirildi. Gruplarda 8 adet hayvan olacak şekilde 6 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna tek doz serum fizyolojik, 200CUR grubuna 7 gün 200mg/kg oral kurkumin, 300CUR grubuna 7 gün 300mg/kg oral kurkumin, CP grubuna tek doz 200mg/kg siklofosfamid, CP+200CUR grubuna tek doz 200mg/kg siklofosfamid ve 7 gün 200mg/kg oral kurkumin, CP+300CUR grubuna tek doz 200mg/kg siklofosfamid ve 7 gün 300mg/kg oral kurkumin uygulamaları yapıldı. Çalışma sonrası alınan örneklerden tam kanda redükte glutatyon, plazmada malondialdehit ve nitrik oksit, serumda kardiyak troponin I, üre ve kreatinin düzeyleri, serumda alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz ve kreatin kinaz izoenzim MB enzim aktiviteleri, dokularda 8-hidroksi-deoksiguanozin, tümör nekroz faktörü alfa ve nükleer faktör kappa B düzeyleri analiz edildi. Kalp, karaciğer ve böbrek dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi. Siklofosfamidin toksik etkilere neden olduğu malondialdehit, nitrik oksit, kardiyak troponin I, üre, kreatinin, 8-hidroksi-deoksiguanozin, tümör nekroz faktörü alfa ve nükleer faktör kappa B düzeyleri ile alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz ve kreatin kinaz izoenzim MB enzim aktivitelerinde gözlemlenen artışın, redükte glutatyon düzeyinde gözlemlenen düşüşün tespitiyle anlaşıldı. Bu bulgular histopatolojik incelemelerle desteklendi. Siklofosfamid ile birlikte 200mg/kg kurkumin uygulamasının siklofosfamidin bütün toksik etkilerinde iyileştirme gösterdiği, 300mg/kg kurkumin uygulamasının malondialdehit, redükte glutatyon, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz, kreatinin, tüm dokularda 8-hidroksi-deoksiguanozin ve böbrek dokusunda tümör nekroz faktörü alfa parametreleri açısından 200mg/kg kurkumin uygulamasına göre anlamlı bir fark oluşturduğu tespit edildi. Sonuç olarak siklofosfamid ile birlikte kurkuminin bir arada uygulanması siklofosfamidin toksik etkilerini iyileştirdiği tespit edildi.

Anahtar Sözcükler: Kemoterapötik ajan, antioksidan, kardiyotoksisite, hepatoksisite, nefrotoksisite, 8-OHdG

SUMMARY

Investigation of the Effects of Curcumin Against Cyclophosphamide-Induced Oxidative Stress, Tissue Damage and DNA Damage in Rats

This doctoral thesis study was carried out to investigate the effects of curcumin, the most important of the curcuminoids contained in turmeric plant, on cyclophosphamide-induced oxidative stress, hepatotoxicity, nephrotoxicity, cardiotoxicity and DNA damage in rats. The study was carried out with 48 Wistar albino male rats with an average body weight of 250-270 grams. Six groups were formed with 8 animals in each group. The control group received a single dose of saline, 200CUR group received 200mg/kg oral curcumin for 7 days, 300CUR group received 300mg/kg oral curcumin for 7 days, CP group received a single dose of 200mg/kg cyclophosphamide, CP+200CUR group received 200mg/kg cyclophosphamide and 200mg/kg oral curcumin for 7 days, CP+300CUR group received 200mg/kg cyclophosphamide and 300mg/kg oral curcumin for 7 days. Reduced glutathione in whole blood, malondialdehyde and nitric oxide levels in plasma, cardiac troponin I, urea and creatinine levels in serum, alanine aminotransferase in serum were determined from the samples taken after the study, Aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and creatine kinase isoenzyme MB enzyme activities, 8-hydroxy-deoxyguanosine, tumor necrosis factor alpha and nuclear factor kappa B levels in tissues were analyzed. Heart, liver and kidney tissues were evaluated histopathologically. Malondialdehyde, nitric oxide, cardiac troponin I, urea, creatinine, 8-hydroxy-deoxyguanosine, 8-hydroxy-deoxyguanosine, tumor necrosis factor alpha and nuclear factor kappa B levels, and alanine aminotransferase, The increase in aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and creatine kinase isoenzyme MB enzyme activities and the decrease in reduced glutathione level were determined. These findings were supported by histopathologic examinations. Cyclophosphamide and 200mg/kg curcumin administration improved all toxic effects of cyclophosphamide, while 300mg/kg curcumin administration improved malondialdehyde, reduced glutathione, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, creatinine, 8-hydroxy-deoxyguanosine in all tissues and tumor necrosis factor alpha in renal tissue showed a significant difference compared to 200 mg/kg curcumin administration. In conclusion, cyclophosphamide combined with curcumin ameliorated the toxic effects of cyclophosphamide.

Keywords: Chemotherapeutic agent, antioxidant, cardiotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, 8-OHdG

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, kontrolsüz olarak hücrelerin çoğalması ve büyümesiyle karakterize olan bir hastalık sınıfıdır. Çoğalan bu hücreler vücudun diğer bölgelerine yayılma ve buraları istila etme potansiyeline sahiptir. Kanser dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olmaya çok uzun yıllardır devam etmektedir (Sak ve Everaus 2015, Abotaleb ve ark. 2018, Imran ve ark. 2019).

Kanser tedavisinde her ne kadar bazı standartlar belirlenmiş olsa da kanserin türüne ve hastanın durumuna özgü olarak farklı yaklaşımlar ve tedaviler uygulanmaktadır. Radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi, gen terapisi, hormon terapisi ve cerrahi müdahale gibi bazı tedavi yöntemleri tek başlarına ya da bir kaçını aynı anda uygulanabilmektedir (Baykara 2016). Bu tedavi uygulamaları ile kanser hastalarının yaşam süresinin uzatılması amaçlanmaktadır fakat kullanılan yöntemlere bağlı olarak bazı toksik etkiler de söz konusudur. Kemoterapi ilaçlarının tedavi esnasında kanserli hücrelerin bölünmesi üzerine etki göstermesi beklenir ancak bu etki çoğunlukla bu hücre türüne özgü değildir. Organizmada oldukça hızlı bölünme yeteneğine sahip epitel hücrelerini, üreme hücrelerini ve kemik iliği hücrelerini etkileyerek istenmeyen yan etkilere sebep olurlar. Bununla birlikte semptomatik olarak tespit edilebilen ağrı, yorgunluk, bulantı ve kusma, uyku bozukluğu, immünolojik ve duygudurum değişiklikleri gibi pek çok yan etkiye neden olmaktadır. Bu yan etkiler tedavi sürecini etkileyebilen, tedavinin geciktirilmesine hatta erken sonlandırılmasına neden olabilen zorlayıcı etkilerdir (Cleeland 2007, Abudayyak ve ark. 2018, Eskimez ve ark. 2021).

Siklofosfamid (CP), kanser ve otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılan alkilleyici özelliğe sahip sitotoksik bir ilaçtır (Liu ve ark. 2022). Tümörler ve lenfomalar gibi neoplastik hastalıklar ile multipl skleroz ve romatoid artrit gibi neoplastik olmayan hastalıkların tedavisinde etkili bir ilaç olarak 1950'lerden beri klinik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır (HAS ve ark. 2019). Esas olarak malign lenfomaların tedavisinde kullanılırken, meme kanseri, retinoblastom, nöroblastom ve yumurtalık adenokarsinomların tedavisinde de kullanımı bulunmaktadır (Ogino ve Tadi, 2020). Klinik uygulamalarda çok yaygın kullanım alanı olmasına rağmen yüksek doz kullanımlarda oluşturduğu hepatotoksisite,

nefrotoksisite, kardiyotoksisite, ürotoksisite, immünotoksisite, teratojenisite, mutajenite ve kemik iliği supresyonunu gibi istenmeyen etkileri nedeniyle kullanımı sınırlı olmaktadır (Basu ve ark. 2015, Bhattacharjee ve ark. 2015). CP'nin toksik etkilere neden olan metaboliti akroleindir. Akroleinin toksisitesi, redükte glutatyon (GSH) gibi hücrel antioksidanlara bağlanmasından kaynaklanır. Böylece hücrel savunma mekanizmalarının tükenmesine, lipid peroksidasyonunun ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olur (HAS ve ark. 2019).

Zerdeçal (*Curcuma Longa L.*), küçük bir gövdeye ve oval, eliptik veya piriform rizomlara sahip, bazen dallı ve kahverengimsi sarı olan büyük dikdörtgen yapraklı bir bitkidir. Asya'da, özellikle Hindistan ve Çin'de yaygın olarak yetiştirilmektedir (Jyotirmayee ve Mahalik 2022). Zerdeçal bileşiklerinin %2-8 kadarını kurkumin (CUR) oluşturur. Zerdeçalın rizomlarından elde edilen sarı renkli bir pigment olan CUR antioksidan, immünomodülatör, antimutajenik ve antikarsinojenik özellikleriyle öne çıkmaktadır (Çiğ 2020, K. Mansouri ve ark. 2020).

Bu çalışmada CP'nin doz kısıtlayıcı toksik etkilerinden olan kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisitenin CP uygulaması sonucu deneysel olarak oluşturulduğu ratlarda, tam kanda GSH, plazmada malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO), serumda kardiyak troponin 1 (cTn-1), üre (BUN) ve kreatinin (Cr) düzeylerinin, yine serumda alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalin fosfataz (ALP) ve kreatin kinaz izoenzim MB (CK-MB) enzim aktivitelerinin, dokularda 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) düzeylerinin ölçülmesi ve dokuların histopatolojik incelemelerinin yapılmasıyla CUR'un iki farklı dozdaki etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

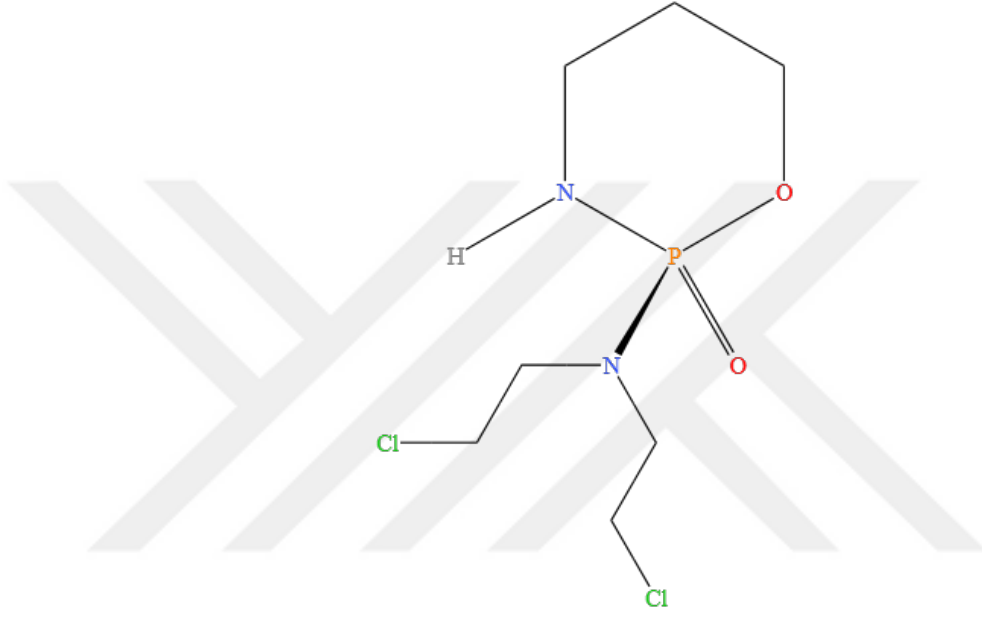
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Siklofosfamid (CP)

2.1.1. Kimyasal Yapısı ve Metabolizması

Alkilleyici ajanların tarihi ABD'nin 1943 yılında İtalya'nın deniz kıyısı kentlerinden biri olan Bari'deki Alman güçlerinin hava saldırılarına karşı nitrojen mustard gazı saldığı 2. Dünya Savaşı'na kadar uzanmaktadır (Hirsch 2006).

Günümüzde klinik olarak kullanılan birçok nitrojen mustard türevi vardır ve CP bunlardan biridir (Kurauchi ve ark. 2017). İlk olarak 60 yılı aşkın bir süre önce sentezlenen, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından (2R)-N,N-bis(2-chloroethyl)-2-oxo-1,3,2λ⁵-oxazaphosphinan-2-amine adıyla anılan CP, antineoplastik ve immünosupresif aktivitelere sahip olan nitrojen mustard türevi, alkile edici sitostatik bir ajandır (Kim ve Chan 2017, Helsby ve ark. 2019, Saxena ve ark. 2020).



Şekil 1. CP'nin kimyasal yapısı

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2907>, Erişim tarihi: 1 Nisan 2023, KingDraw Chemical Structure Editor programı ile çizilmiştir.)

CP, terapötik etkilerini ortaya çıkarmak için biyoaktivasyon gerektiren bir ön ilaçtır. Bu ilaç için karmaşık aktivasyon ve inaktivasyon yolları bulunmaktadır. CP, ilacın ana metabolizma yolunda ilerlemesini sağlayan ve bileşenin %70-80'ini oluşturan 4-hidroksisiklofosfamid (4-OHCP) oluşturmak üzere hepatik hidrosilasyona uğrar (De Jonge ve ark. 2005). Bu yol CP biyoaktivasyonu için en yüksek aktiviteye sahip olan sitokrom P450 (CYP) enzimleri olarak bilinen CYP2B6 ve CYP2C19 başta olmak üzere CYP3A4, CYP3A5 ve CYP2J2 enzimlerinin de dahil olduğu herhangi bir sayıda enzim tarafından katalize edilebilir (Helsby ve ark. 2010, Raccor ve ark. 2012, El-Serafi ve ark. 2015, Helsby ve ark. 2019, Kishino ve ark. 2019). CP bileşenin %19'luk kadar bir kısmı CYP3A4 tarafından katalize edilen minor

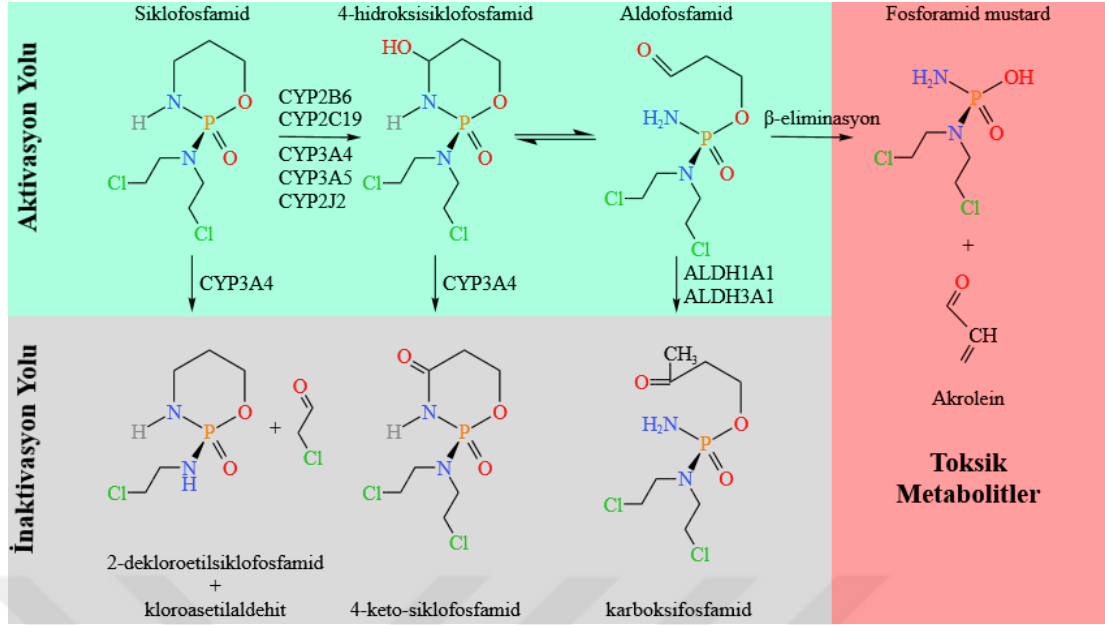
bir metabolik yol ile N-dekloroetilasyona uğrayabilir. Bu yolun sonucunda inaktif bir CP metaboliti olan 2-dekloroetilsiklofosfamid ve eşmolar miktarlarda yan ürün kloroasetilaldehit oluşumu meydana gelir (Huang ve ark. 2000).

Hepatik hidrosilasyon sonrası sistemik dolaşımında 4-OHCP ve tatomeri olan aldofosfamid denge halinde bulunur (Fenselau ve ark. 1977, Sladek 1988). 4-OHCP, inaktif 4-keto-siklofosfamid oluşturmak için CYP3A4 tarafından sekonder metabolizmaya uğrayabilir (Zhang ve ark. 2005). Aldofosfamidin inaktivasyonu ise aldehit dehidrojenaz (ALDH) enzimleri olan ALDH1A1 ve ALDH3A1 tarafından katalize edilen oksidasyon sonucunda karboksifosfamide dönüşümü şeklinde gerçekleşir (von Eitzen ve ark. 1994, Sládek ve ark. 2002, Moreb ve ark. 2007).

Doğrudan bir kanıt olmamakla birlikte, 4-OHCP veya aldofosfamidin hücrelere pasif difüzyon yoluyla taşındığı varsayılmaktadır. Aldofosfamidin hücrelere girdikten sonra, enzimatik olmayan β -eliminasyonu ile kendiliğinden hidrolize uğradığı ve aktif alkilleyici bileşik fosforamid mustard ile yan ürün olan akroleini oluşturduğu düşünülmektedir (Voelcker 2017).

Fosforamid mustard, 2 reaktif kloroetilamin grubu aracılığıyla kolayca DNA zincirleri arasında çarpaz bağlar oluşturabilen güçlü bir DNA alkilleyici ajandır. Antineoplastik etkisini hücre döngüsünün tüm fazlarında gösterebilir ve bunu çoğunlukla DNA'nın zıt iplikçiklerinde özellikle 5'-GNC-3' dizilerinde guanin bazının N-7 pozisyonuna bir alkil grubunun eklenmesiyle ortaya çıkarır. Bu alkil grubu ilavesi ile oluşan zincirler arası çarpaz bağlar, DNA iplikçiklerinin ayrılmasını engelleyerek transkripsiyonu ve replikasyonu önleyen, sonunda hücre ölümünün gerçekleştiği oldukça toksik DNA lezyonlarıdır (Struck ve ark. 2000, Weber ve Weber 2015, Abdel-Wahhab ve ark. 2021).

CP'nin toksik etkilerine neden olduğu düşünülen metaboliti akrolein ise antitümör aktiviteye sahip değildir. Aşırı reaktif yapısı nedeniyle bir çok yan etkiden sorumludur ve ek ilaçlarla detoksifiye edilmesi gerekmektedir (Bhattacharyya ve ark. 2019). Akrolein, lipitlere ve proteinlere doğrudan kovalent bağlanma ve serbest reaktif radikallerin oluşumu ile membran hasarını tetikleyebilir (Moghe ve ark. 2015).



Şekil 2. CP'nin metabolik yolu

(Helsby ve ark. 2019, KingDraw Chemical Structure Editor programı ile çizilmiştir.)

2.1.2. Hepatoksisite

Akrolein, GSH'a bağlanarak ROS üretiminin artmasına ve ardından oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna yol açabilir (Mohammad ve ark. 2012, MacAllister ve ark. 2013). GSH'nın tükenmesi ile hücresel savunma mekanizması zayıflamaktadır (Srivastava ve Shivanandappa 2010).

CP uygulamasının bir sonucu olarak karaciğer NO seviyesi önemli ölçüde artmaktadır (Andersson ve ark. 2008). Artan NO, daha reaktif bir oksijen türü olan oksidan peroksinitriti (ONOO⁻) meydana getirmek üzere süperoksit anyonlarıyla birleşebilir (McKim ve ark. 2003). ONOO⁻, Kupffer hücrelerinde NF- κ B 'yi aktive eder ve bu durum proinflatuar sitokinler olan TNF- α ve interlökin-1 beta (IL-1 β) üretimini artırır (Matata ve Galiñanes 2002). Artan inflamasyon ve oksidatif stres karaciğer dokusundaki hücrelerin apoptotik ölümlerine neden olmaktadır (Srivastava ve Shivanandappa 2010).

Hepatositler, hücre içi ölüm reseptörlerine bağlanan ve daha sonra kaspaz-8'i aktive eden TNF- α ve Fas ligandının (FasL) öldürücü etkilerine karşı daha duyarlı hale gelir (Li ve Liu 2004).

CP metabolitleri mitokondri içinde ATP tükenmesine, aşırı ROS üretimine, DNA hasarına neden olabilir ve mitokondriyal zarın geçirgenliğini artırabilir. Ortaya çıkan mitokondriyal membran geçirgenliği, sitokrom C'nin salınmasına ve procaspase-9'un aktivasyonuna yol açar. Bu olaylar efektör (cellat) kaspaz-3'ü aktive ederek apoptotik hücre ölümüyle sonuçlanır (Huang ve ark. 2010, Lucena ve ark. 2010).

2.1.3. Nefrotoksisite

CP kaynaklı renal hasarın spesifik mekanizmalarının oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Sherif 2018, Zhang ve ark. 2021).

Akrolein, ROS ve NO üretimini arttırması nedeniyle CP kaynaklı nefrotoksisitenin gelişmesinde önemli bir rol oynar. Artan ROS, membran lipitleri ve proteinleri ile reaksiyona girerek hücrel hasara yol açar ve renal tübüllerde hücrel dejenerasyona, şişmeye ve nekroza neden olur (Rehman ve ark. 2012). İnterlökin-6 (IL-6), IL-1 β ve TNF- α gibi farklı proinflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunu düzenleyen NF- κ B başta olmak üzere bir kaç sinyal yolu molekülünü indükler (Kiuchi ve ark. 2009). Ayrıca anti-apoptotik protein Bcl-2'yi azaltır, pro-apoptotik proteinler olan kaspaz-3 ve Bax'ı önemli ölçüde yukarı regüle eder, NLRP3 inflamatuvar yolunda bulunan NLRP3, ASC ve kaspaz-1'in ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde arttırır (Zhang ve ark. 2021).

Akrolein etkisi ile artan NO, süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek, mitokondriyal ve hücrel fonksiyonları etkileyen, pürin ve pirimidin bazlarını değiştiren, DNA çift sarmallı kırılmalara ve tek sarmallı kopmalara neden olan güçlü sitotoksin peroksinitriti oluşturur (Pacher ve ark. 2007).

Lipid peroksidasyonu, membran akışkanlığının ve geçirgenliğinin değişmesi gibi birçok soruna neden olabilir ve ayrıca membrana bağlı proteinleri inaktive edebilir, bu durum sonunda membranın tahrip olmasına yol açabilmektedir (Smathers ve ark. 2011).

2.1.4. Kardiyotoksisite

Yüksek dozda CP tedavileri asemptomatik perikardiyal efüzyonlara, kalp yetmezliğine ve ölümcül miyoperikardite neden olur (Wadia 2015). CP metaboliti

akrolein, yüksek oranda reaktif doymamış bir aldehittir ve kardiyomiyositler bu metabolite karşı oldukça duyarlıdır (Iqubal ve ark. 2019).

CP veya metabolitleri, kardiyomiyositlerde proteazlarla reaksiyona girerek serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve inflamasyonu indükler (Maeshima ve ark. 2012). Ayrıca endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) üretimini azaltır (Ismahil ve ark. 2011). Akrolein lizin aminoasiti ile bir eklenti oluşturur ve GSH ile reaksiyona girerek oksidatif stres oluşumuna neden olur. Ayrıca sistein aminoasiti ile bir eklenti oluşturur, bu da kaspaz ve NFκB-p65 alt biriminin aktivasyonuna yol açar (Burcham ve ark. 2010). Kaspazların aktivasyonu apoptoza neden olurken, aktive edilmiş NF-κB, IL-6 ve TNF-α gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini transkript ettiği çekirdeğe doğru yer değiştirir. Akroleinin lizin ve sistein aminoasitleri ile oluşturduğu ürünler ve CP metabolitleri FasL ve TNF-α reseptörü ile etkileşime girerek kardiyomiyositlerin apoptoza doğru gidişine sebep olur (Ismahil ve ark. 2011).

CP veya metabolitleri p53 & p38 mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) yollarının aktivasyonu ile kardiyak apoptoz, inflamasyon ve hipertrofiye neden olarak da kardiyotoksosite meydana getirebilmektedir (DeJarnett ve ark. 2014, El-Kholy ve ark. 2017).

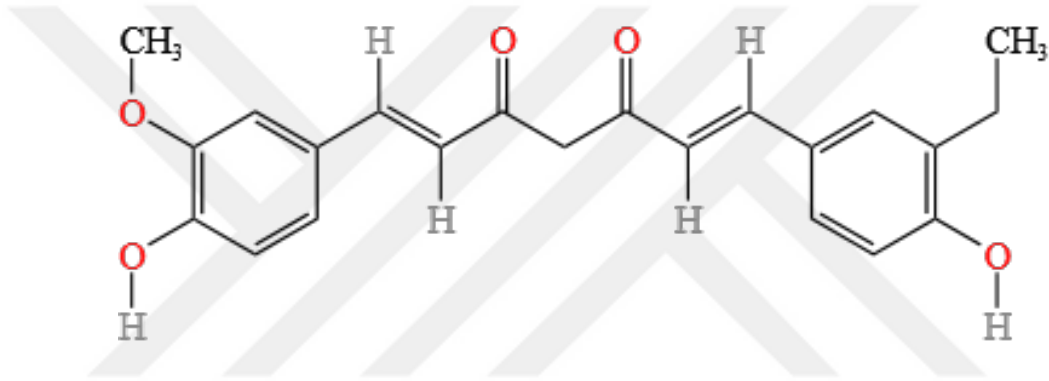
Diğer yandan CP metabolitlerinin kalp tipi yağ asidi bağlayıcı proteinleri ve kalp dokularında karnitin palmitoiltransferaz-I gen ekspresyonunu inhibe ettiği ifade edilmiştir (Sayed-Ahmed ve ark. 2014). Bu yolların inhibisyonu, adenzin trifosfat üretiminin azalmasına ve yağ asidi oksidasyonundan toksik metabolitlerin birikmesine, sonuç olarak kardiyomiyopatiye neden olur (Sayed-Ahmed ve ark. 2000).

Dokularda oluşan toksisitelerin başlıca kaynağı oksidatif stresin artmasıdır. Serbest radikal süpürücü ve antioksidan özelliklere sahip ajanlar, CP kaynaklı oksidatif stres ve çoklu doku toksisitelerine karşı koruma sağlayabilir (Alqahtani ve Mahmoud 2016).

2.2. Kurkumin (CUR)

2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Metabolizması

Tıbbi bitkilerin geniş yelpazesi arasında, kimyasal adı diferuloilmetan, moleküler formülü $C_{21}H_{20}O_6$ ve IUPAC adı (1E,6E)-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)hepta-1,6-dien-3,5-dion olan CUR, hint safranı veya zerdeçal (*Curcuma longa* L.) olarak bilinen, zencefil ailesine ait bir bitkinin rizomlarından ekstrakte edilen polifenol yapısında lipofilik bir maddedir. Özellikle Hindistan ve Çin'de antik çağlardan beri geleneksel tıpta kullanılmış bir bitkidir (Hatcher ve ark. 2008, Giordano ve Tommonaro, Jakubczyk ve ark. 2020, Kamran Mansouri ve ark. 2020).



Şekil 3. CUR'un molekül yapısı

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Curcumin>, Erişim tarihi: 1 Nisan 2023 KingDraw Chemical Structure Editor programı ile çizilmiştir.)

CUR, zerdeçal bileşiklerinin %2-8 kadarını oluşturur, zerdeçalın sarı renginin ana nedeni olarak kabul edilir, asit veya suda çözünmez ancak aseton, metanol ve etanolde çözünür. Ayrıca zerdeçalın birçok özelliğinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Chattopadhyay ve ark. 2004, Koroth ve ark. 2019, Jakubczyk ve ark. 2020). Molekül yapısında bulunan hidroksil ve metoksi gruplarının varlığı sayesinde antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanser ilaçları dahil olmak üzere çok çeşitli farmakolojik gelişmeler üzerinde büyük etki sağlayan çeşitli özelliklere sahiptir (Maheshwari ve ark. 2006, Sun ve ark. 2019).

Oral yolla alınan CUR için birincil metabolizma bölgeleri, bağırsak ve bağırsak mikrobiyotası ve karaciğerdir. CUR'un hepatositlerde ve enterositlerde biyolojik indirgeme yoluyla dört çift bağının indirgenmesi sonucunda dihidrokurkumine,

ardından tetrahidrokurkumine, daha sonra hegzahidrokurkumine ve son olarak oktahidrokurkumine indirgenir. İndirgenmiş CUR bundan sonra sülfat ve glukuronid O-konjuge metabolitleri vermek üzere konjugasyona tabi tutulur ve kurkumin glukuronid, dihidrokurkumin-glukuronid, tetrahidrokurkumin-glukuronid, hegzahidrokurkumin-glukuronid ve son olarak oktahidrokurkumin-glukuronid'e dönüştürülür (Hassaninasab ve ark. 2011, Dei Cas ve Ghidoni 2019, Di Meo ve ark. 2019, A Pandey ve ark. 2020). CUR'un ana metabolitleri tetrahidrokurkumin ve hegzahidrokurkuminin glukuronidleridir. Minor metabolitleri ise eser miktarda oluşan ferulik asitle birlikte dihidroferulik asittir (Prasad ve ark. 2014).

2.2.2. Fizyolojik Etkileri

CUR'un faydalı özellikleri, NF- κ B, protein kinaz B (Akt) ve büyüme faktörlerinin aracılık ettiği hücresel hayatta kalma yolları, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2)'yi içeren sitoprotektif yollar ile metastatik ve anjiyojenik yollar gibi birçok sinyal yolunu modüle etme kapasitesinden kaynaklanmaktadır (Jobin ve ark. 1999, Gururaj ve ark. 2002, Bhandarkar ve Arbiser 2007). NF- κ B, interlökinler, interferonlar, lenfokinler ve tümör nekroz faktörleri dahil olmak üzere birçok kemokin ve sitokinin ekspresyonunu modüle eder (Karunaweera ve ark. 2015). CUR ise NF- κ B fosforilasyonunu baskılayarak sitokin üretimini inhibe eder (Shakibaei ve ark. 2007). Ayrıca indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2), lipoksijenaz, ksantin oksidazın düzenlenmesi ve MDA'nın azaltılması ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Bengmark 2006, Jakubczyk ve ark. 2020, Ms ve ark. 2020)

CUR potansiyel olarak birçok koruyucu özelliğe sahipken, zayıf bağırsak emilimi ve hidrofobik yapısı biyoyararlanımının gelişmesini engellemekte, klinik deneylerde terapötik bir ajan olarak potansiyeli sınırlanmaktadır (Ullah ve ark. 2017, Abrahams ve ark. 2019). Piperin müdahalesi ile CUR'un biyoyararlanımının ve antioksidan potansiyelinin artırıldığı ifade edilmektedir (Alizadeh ve Kheirouri 2019). Piperin, *Piper nigrum L.* isimli bitkinin meyvelerinde bulunan bir alkaloid bileşiktir (Meghwal ve Goswami 2013). İlaçların emilimini ve biyoyararlanımını iyileştirmek amacıyla bağırsak çepherindeki aminoasit taşıyıcılarını uyarması ve ilaç metabolize eden enzimleri inhibe etmesiyle, ilaçların biyoyararlanımını güçlendirici bir molekül olarak da tanımlanmıştır (DB ve ark. 2018).

2.3. Oksidatif Stres, Doku Hasarı Biyobelirteçleri ve Sitokinler

Küresel oksidatif stres kavramı oksidanlar (serbest radikaller) ve antioksidanlar arasında dengenin, lipitler, proteinler ve DNA gibi moleküllerin oksidatif hasarına yol açacak ve redoks sinyalinin bozulmasına neden olacak şekilde, oksidanlar lehine bozulmasıdır (Sies 2019, Brassea-Pérez ve ark. 2022).

Serbest radikaller, süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi ROS, $ONOO^-$ gibi reaktif nitrojen türevi (RNS) moleküllerdir. Demir ve bakır gibi bazı ağır metal türevleri de serbest radikal özelliklere sahiptir (Yaribeygi ve ark. 2020). Bu moleküller dış katmanlarında eşlenmemiş elektronlara sahiptir ve bu nedenle diğer biyomoleküllere kolayca bağlanabilir ve onları değiştirebilirler (Staveness ve ark. 2016).

ROS oluşumuna hücre içi ve hücre dışı kaynaklar sebep olabilir. Hücre içi kaynaklar arasında nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar (NOX), mitokondri, CYP, endoplazmik retikulum, lizozomlar ve peroksizomlar bulunurken, dış kaynaklar radyasyon, ultraviyole ışık ve ksenobiyotiklerdir (Breitenbach ve ark. 2018, Milkovic ve ark. 2019).

Nispi kararlılığı ve biyomembranları geçme kabiliyeti nedeniyle H_2O_2 ana redoks sinyal molekülü olarak kabul edilir. Metabolik taleplere bağlı olarak NOX ve mitokondri tarafından oluşturulur (Zoccarato ve ark. 2022). H_2O_2 'ye kıyasla daha sınırlı sinyal verme yeteneklerine sahip olan $O_2^{\cdot-}$, mitokondri ve NOX tarafından üretilen diğer bir ROS'dur (Jaganjac ve ark. 2022). ROS seviyeleri hücrel antioksidan mekanizmalarla dengelenir. Süperoksit dismutaz (SOD), $O_2^{\cdot-} \rightarrow H_2O_2$ dönüşümünü katalize eden ana enzimken, katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) H_2O_2 'yi suya indirger. GPx dönüşümü için GSH'ın glutatyon disülfite çift oksidasyonu gereklidir (Wang ve ark. 2018).

Oksidatif stres, toksisite ve hastalıkların birincil faktörü olabilir. Etkilerini oluşturduğu iki ana mekanizma vardır. Birincisi oksidatif stres sırasında oluşan $\cdot OH$, $ONOO^-$ ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi reaktif türlerin, anormal hücre fonksiyonuna ve ölüme yol açan, membran lipitleri, yapısal proteinler, enzimler ve nükleik asitler

dahil olmak üzere makromolekülleri doğrudan oksitlemesini içerir. Diğer mekanizma anormal redoks sinyalıdır. Oksidatif stres sırasında fizyolojik olmayan H₂O₂ üretimi redoks sinyalinin ters gitmesine neden olabilir (Forman ve Zhang 2021).

ROS, Kelch benzeri CNC homolojisine sahip, eritroid hücre kaynaklı protein (ECH) ile ilişkili protein 1 (KEAP1), hipoksi ile indüklenebilir faktör, adenosin monofosfat (AMP) ile aktive olan protein kinaz ve NF-κB gibi birçok transkripsiyonel faktör ve proteinleri düzenleyen çeşitli sinyal verme yeteneklerine sahiptir. Bu sinyal verme yeteneğiyle inflamatuvar yanıtta, DNA onarımında, hücresel büyümenin teşvik edilmesinde veya farklılaşmasında, apoptozda, otofajide yer alan çeşitli sinyal yollarını etkileyebilmektedir (Forrester ve ark. 2018, Jaganjac ve ark. 2020, Sies ve Jones 2020).

Bir biyobelirteç, bir hastalığın varlığını, ciddiyetini veya ilerlemesini gösteren yapısal, biyokimyasal, fizyolojik veya genetik değişim parametresi olarak tanımlanır (Schiffl ve Lang 2012).

Biyolojik ve moleküler değişikliklere neden olduğu böbrek dokusunun hasarı, çok çeşitli moleküllerin ölçülmesine olanak tanıyan hücresel hasara dönüşür. Böbrek fonksiyonunun ölçümü yaygın olarak Cr ve BUN seviyesi ölçümü kullanılarak yapılır. (Wasung ve ark. 2015). Karaciğer hasarı testleri arasında ALT, AST ve ALP analizleri bulunur. Karaciğer hasarı biyobelirteçleri arasında ALT ve AST muhtemelen hem klinik tanıda hem de karaciğer hasarıyla ilgili araştırmalarda en yaygın kullanılanlardır (Senior 2012, McGill 2016). Miyokardiyal hasar ise cTn ve CK-MB gibi biyobelirteçler sistemik dolaşımda yükseldiğinde tespit edilir (Hicks 2015).

Sitokinler, çeşitli hücrelerden salgılanan düşük moleküler ağırlığa sahip, bağışıklık hücrelerinin olgunlaşması, büyümesi ve immun yanıtın düzenlenmesinden sorumlu çözünebilir proteinlerdir. Tek bir sitokin farklı hücre tipleri tarafından salgılanabilirken, birden fazla biyolojik aktivite üreterek çeşitli hücre tipleri üzerinde etkili olabilmektedir. Sitokinler genel olarak tümör nekroz faktörleri, interlökinler, lenfokinler, monokinler, interferonlar, koloni uyarıcı faktörler ve dönüştürücü büyüme faktörleri şeklinde sınıflandırılabilirler. Rollerine bağlı olarak da pro-inflamatuvar veya anti-inflamatuvar olarak da sınıflandırılabilirler. (Sprague ve Khalil 2009, Kulbe ve ark. 2012, Liu ve ark. 2021). Pro-inflamatuvar sitokinler, inflamatuvar reaksiyonları

kolaylaştırır ve immünokompetan hücreleri uyarma eğilimindedir. Buna karşılık, anti-inflamatuar sitokinler inflamasyonu engeller ve bağışıklık hücrelerini baskılar (Boshtam ve ark. 2017).

2.3.1. Malondialdehit (MDA)

MDA, araşidonik, dokosaheksaenoik ve linolenik asit başta olmak üzere çoklu doymamış yağ asitlerinin enzim veya serbest radikallerle katalize edilen lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve oksidatif stresin güvenilir bir biyobelirteci olarak kabul edilir (Hanff ve ark. 2017, Djordjević ve ark. 2020). Genellikle enol formunda bulunan renksiz bir sıvıdır. Moleküler formülü $C_3H_4O_2$ şeklinde olan MDA molekülü, iki aldehit grubuna sahip bir metilen biriminden oluşur (Del Rio ve ark. 2005). MDA gibi aldehit yapılı bileşikler uzun ömürlüdürler ve hücre zarından geçebilirler. Böylelikle lipid peroksidasyonunun etkilerinin kanda, organlarda ve dokularda oluşmasına neden olurlar (Çobanoğlu ve ark. 2011).

MDA ile ilgili karaciğer ve böbrek toksisitesi, diabetes mellitus ile kardiyovasküler ve nörovasküler hastalıklardaki rolü ve nükleik asitler üzerindeki çeşitli etkilerini gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (Nwose ve ark. 2007, Negre-Salvayre ve ark. 2010, Cristalli ve ark. 2012, Ayala ve ark. 2014). Oksidatif stres ve yüksek MDA seviyelerinin kardiyovasküler hastalıklarla bağlantılı olduğu bir çok çalışmada ortaya koyulmuştur (Boaz ve ark. 1999, Lee ve ark. 2012, Dias ve ark. 2015, Piko ve ark. 2017).

MDA sadece lipid peroksidasyonu sürecinde üretilmez. 20 karbonlu çoklu doymamış yağ asiti olan araşidonik asitten hormon benzeri maddeler olan eikozanoid sentezinde de az miktarda yan ürün olarak ortaya çıkar (Djordjević ve ark. 2020).

2.3.2. Nitrik Oksit (NO)

Uzun zamandır hava kirletici bir gaz olduğu düşünülen NO'nun 20. yüzyılın ikinci yarısında yapılan birçok çalışma ile az sayıda fizyolojik sürecin sonucunda üretildiği ve önemli biyolojik rollerinin olduğu ortaya koyulmuştur (Lundberg ve ark. 2008, Weitzberg ve ark. 2010, Zweier ve ark. 2010).

Yarı ömrü oldukça kısa ve kolayca yayılabilen gaz halinde bir bileşik olan NO, güçlü oksidan özelliklere sahip, oldukça reaktif bir serbest radikaldir. NO sentaz

(NOS) enziminin her biri benzersiz ekspresyon paternlerine ve fonksiyonel özelliklere sahip nöronal NOS (nNOS, NOS1), iNOS, (NOS2) ve eNOS (NOS3) olmak üzere 3 farklı alt tipi tarafından sentezlenir (Förstermann ve Sessa 2012, Gresele ve ark. 2019). Bu enzimler NADPH molekülünden verilen elektronları kullanarak L-arginin ve oksijenden NO ve L-sitruilin üretimini katalize ederler (Cyr ve ark. 2020, Gantner ve ark. 2020).

Koşullara ve hücre tipine bağlı olarak, NO hem inflamatuvar hem de antiinflamatuvar faaliyetlerde bulunur. eNOS tarafından üretilen düşük NO seviyeleri, preinflamatuvar sitokinleri, COX-2 ve NF- κ B'yi uyarabilir ve düzenleyebilir (Ying ve Hofseth 2007, Papi ve ark. 2019). Böbrek dokusunda ve renal iskemi-reperfüzyon sürecindeki yüksek eNOS seviyeleri oksidatif stres, inflamasyon ve renal doku hasarının azaltılmasında önemli rol oynarken artan iNOS seviyeleri hasarı ve inflamasyonu şiddetlendirir (Chen ve ark. 2008).

NO ve O_2^- , bir RNS olan ONOO $^-$ oluşturmak için çok hızlı bir reaksiyonda birleşir. ONOO $^-$, patojenler de dahil olmak üzere tüm hücelere oksidatif olarak zarar veren ve bu nedenle bağışıklık savunmasının da önemli bir bileşeni olan oldukça toksik bir moleküldür (Smith ve Lassmann 2002, Lehnert ve ark. 2021).

2.3.3. Redükte Glutasyon (GSH)

GSH, hücrede milimolar düzeyde yüksek konsantrasyonlarda sentezlenen ve muhafaza edilen hücre içi bir tiyol bileşimidir. Önemli bir hücre içi antioksidan olarak, hücreleri lipid peroksidler, reaktif oksijen ve nitrojen türleri ve ksenobiyotiklerin neden olduğu hasarlardan koruyan hücrel redoks durumunun düzenleyicisi olarak görev yapar (Kennedy ve ark. 2020).

GSH, sistein, glutamat ve glisinden oluşan üç öncü amino asitin birleştiği, iyi korunmuş bir biyosentez yoluyla oluşturulur. Bu işlem glutamat sistein ligaz (GCL) ve glutasyon sentetaz (GS) enzimleri tarafından katalize edilen, iki aşamalı ve ATP'ye bağımlı bir şekilde sitozolde meydana gelir. GCL, γ -glutamilsistein üretmek için son γ -karboksil kalıntısı aracılığıyla glutamat ve sistein arasında bir bağlantının oluşturulduğu yolun ilk ve hız kontrol eden adımını katalize eder (Franklin ve ark.

2009). Yolun ikinci ve son adımında GS tarafından katalize edilen reaksiyonda, γ -glutamilsistein ara maddesine glisin eklenmesi yoluyla GSH üretilir (Lu 2013).

GSH, molekülünde bulunan sistein kalıntısının tiyol (-SH) grubu sayesinde hücre içi tiyol-disülfid redoks tamponu olarak hizmet ederek redoks durumlarının homeostazını koruyan ve tüm hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını sürdürmede önemli roller oynayan bir antioksidandır (Robaczewska ve ark. 2016, Aoyama 2021). \bullet OH ve $O_2^{\cdot-}$ radikalleri ile doğrudan enzimatik olmayan bir reaksiyona girebilir. Flavın adenin dinükleotid (FAD) ve NADPH'ye bağlı glutatyon redüktaz (GR) tarafından yeniden GSH formuna dönüştürülebilen disülfid formuna (GSSG) kolayca oksitlenir. Ayrıca GPx enzim ailesinin üyeleri olan GSH'ye bağımlı oksidoredüktazlar tarafından katalize edilen bir reaksiyonda H_2O_2 ve organik peroksitlerin detoksifikasyonu için elektronlarını verir (Brigelius-Flohé ve Maiorino 2013, Robaczewska ve ark. 2016).

GSH eksikliğinde hücreler oksidatif stres, inflamasyon ve tümör ilerlemesine karşı savunmasız kalır. GSH seviyesinin yüksekliği ise bir çok tümörde görüldüğü gibi, antioksidan kapasiteyi ve oksidatif strese karşı direnci artırmaktadır. Eksojen GSH'nin, ROS'u düzenleyerek inflamatuvar yanıtı inhibe ettiği, endojen GSH'nin ise enfeksiyona karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisi üzerinde rol oynadığı ve inflamasyonu düzenlediği ifade edilmiştir (Diotalleve ve ark. 2017).

2.3.4. Alanin Aminotransferaz (ALT)

Karaciğer fonksiyon bozukluğunun spesifik bir belirteci olan, aynı zamanda serum glutamik oksaloasetik transaminaz (SGOT veya GOT) adıyla da bilinen ALT, esas olarak hepatositin sitozolünde bulunan bir enzimdir. Kanda ve bir çok dokuda da bulunabilir. 496 amino asitten oluşur ve yarı ömrü 47 ± 10 saattir. 8. Kromozomun uzun kolunda bulunan ALT geni tarafından kodlanır (Liu ve ark. 2014, Kunutsor ve ark. 2015, Aulbach ve Amuzie 2017).

ALT enzimi, alanin'den α -ketoglutarata amino gruplarının transferini katalize eder ve dönüştürülen ürünler karaciğerde trikarboksilik asit (TCA) döngüsünün kritik molekülleri olan glutamat ve piruvattır. Bu enzimatik reaksiyonda koenzim olarak piridoksal fosfata ihtiyaç duyulmaktadır (Sherman 1991, Toney 2005).

Hepatik hücrelerde ALT aktivitesi, serum ALT aktivitesinden yaklaşık 3000 kat daha yüksektir. Karaciğer hasarı meydana geldiğinde, ALT, yaralı karaciğer hücrelerinden salınır ve serum ALT aktivitesinde önemli bir artışa neden olur (Yanai ve ark. 2005, Yang ve ark. 2009).

2.3.5. Aspartat Aminotransferaz (AST)

Serum glutamik pirüvik transaminaz (SGPT veya GPT) olarak da bilinen AST enzimi 413 amino asit içeren bir polipeptit zincirinden oluşur ve yarı ömrü 17 saattir (Ndrepepa 2021). Aspartat ile α -ketoglutarat arasında amino grubunun geri dönüşümlü transferini katalize ederek glutamat ve oksaloasetat oluşturur. Katalize ettiği bu reaksiyon ile karaciğerde meydana gelen glukoneogenez ve kaslarda meydana gelen glikoliz reaksiyonlarında bir ara madde olan fosfoenolpirüvik asidin sentezinde önemli bir rol oynar (Kobayashi ve ark. 2020, Pandey ve ark. 2020).

ALT yaygın olarak hepatosit sitoplazmasında bulunurken, AST hem hepatosit sitoplazmasında hem de mitokondride bulunur (Glinghammar ve ark. 2009, Jiang ve ark. 2015). Hepatositlerin yaralanması, AST'nin hücre dışı bölmeye sızmasına ve ardından serum AST aktivitesinde yükselmeye neden olur. Hepatoselüler hasar nedeniyle ALT ve AST aktivitelerinin her ikisi de yükseldiğinde ALT yükselmesinin büyüklüğü genellikle AST'den daha fazladır çünkü ALT'nin yarılanma ömrü AST'ye göre daha uzundur ve AST'nin mitokondride bulunan miktarı sitoplazmada bulunan miktardan daha fazladır. (Aulbach ve Amuzie 2017).

2.3.6. Alkalin Fosfataz (ALP)

Tüm vücut dokularında alkali ortamda en etkili ve en temel hidrolazlardan biri olan ALP, çeşitli proteinlerden ve nükleotidlerden fosfat grubunu uzaklaştıran reaksiyonları katalize eder. ALP, hepatobilier hasarın önde gelen bir biyobelirteçidir. Safra kanalının açıklığı azaldığında serum ALP seviyeleri artar, bu nedenle ALP, klinik olmayan kolestatik karaciğer hasarının bir belirteci olarak kullanılır (Aulbach ve Amuzie 2017, Qu ve ark. 2017).

Yapısal olarak ALP, kendisine katalitik bir işlev kazandıran beş sistein kalıntısı, iki çinko atomu ve bir magnezyum atomu içeren iki benzer monomerden oluşur. Hücre zarının dış tabakasında bulunur ve hücre dışı boşlukta bulunan organik

fosfat esterlerinin hidrolizini katalize ederler. Alkali ortamlarda optimal olarak aktif hale gelen ALP için çinko ve magnezyum önemli yardımcı faktörlerdir. ALP karaciğerde sitozoliktir ve hepatositin kanaliküler zarında bulunur. (Tang ve ark. 2019, Lowe ve ark. 2022). Serumdaki ALP'nin %80'den fazlası karaciğer ve kemikten, az bir miktarı da bağırsaktan salınır (Vimalraj 2020).

2.3.7. Kardiyak Troponin-I (cTn-I)

Aktinin miyosine bağlanmasını sağlayarak kas kasılmasını düzenleyen ve kardiyak hasarın tespiti için yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteç olan troponin, troponin T (TnT), troponin I (TnI) ve troponin C (TnC) olmak üzere üç alt birimden oluşan bir protein kompleksidir (Katrukha 2013, Burklund ve ark. 2020).

Troponin alt birimlerinden I ve T için sadece kardiyomiyositlerde eksprese edilen kardiyak troponin I (cTn-I) ve kardiyak troponin T (cTn-T) şeklinde kardiyak spesifik izoformlar mevcuttur (Vafaie ve Giannitsis 2018, Janssen ve ark. 2023). Hem cTn-I hem de cTn-T'deki amino asit kalıntılarının modifikasyonları, kalp fonksiyonlarını düzenlemek için önemli fonksiyonlara sahiptir. Örneğin, cTn-I fosforilasyonu kontraktilitenin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve kardiyak düzenleyici ağları etkiler (Tiambeng ve ark. 2019).

cTn-I miyokard hasarını yansıtan kalbe özgü ve oldukça hassas bir biyobelirteçtir, hücre yaralanması ve nekrozunu takiben dolaşıma salınır. Miyokard enfarktüsü gibi kalp dokusu hasarlarından 3-4 saat sonra kanda tespit edilebilir, 16-18 saat sonra kandaki seviyesi zirveye ulaşır ve iki haftaya kadar uzayan sürelerde kanda tespit edilmeye devam edilir (Aulbach ve Amuzie 2017, Cao ve ark. 2019).

2.3.8. Kreatin Kinaz İzoenzim MB (CK-MB)

Kreatin fosfokinaz olarak da bilinen, kreatinin fosforilasyonunu katalize eden Kreatin kinaz (CK), ayrıca kas kasılmaları sırasında enerji ihtiyacı için tüketilen ATP'nin yeniden oluşturulması için, fosfat donörü olarak fosfokreatinin katıldığı reaksiyonda adenzin difosfatın (ADP) fosforilasyonunu katalize eder. CK, iskelet ve kalp kası, beyin başta olmak üzere az miktarlarda gastrointestinal sistem, rahim, mesane ve böbrek gibi çeşitli dokularda bulunur (Washington ve Van Hoosier 2012, Dzoyem ve ark. 2014, Aulbach ve Amuzie 2017).

Hücrelerde hücreiçi konumlarda bulunan 4 ana CK izoenzimi vardır. Bunların ikisi sitozolde bulunan kas CK izoformu (CK-M) ve beyin CK izoformu (CK-B), diğer ikisi de mitokondride bulunan mitokondriyal CK izoformlarıdır. Sitozolik CK izoformları fizyolojik koşullar altında homodimer olarak CK-MM ve CK-BB şeklinde bulunurken, iskelet kasının fetal ve neonatal gelişimi sırasında ortaya çıkan ve yaşam boyunca kalpte tespit edilen CK-MB şeklindeki heterodimer izoformun varlığı da tanımlanmıştır (Kamel ve ark. 2023).

cTn-I miyokardiyal nekrozun tercih edilen biyobelirteci olmasına rağmen yüksek özgüllüğe ve duyarlılığa sahip CK-MB akut miyokard hasarının tespiti için klasik bir biyobelirticidir. Serum CK-MB konsantrasyonunun artışı miyokard hasarının başlamasından sonraki 3-4 saat içinde meydana gelmesi bakımından troponinin artışına benzer, ancak troponinin aksine, 48 ila 72 saat arasında normal aralığa düşer. Bu nedenle CK-MB'nin sürekli izlenmesi ile reinfarkt oluşumları belirlenebilmektedir (Daubert ve ark. 2010, Chen ve ark. 2022).

2.3.9. Kan Üre Nitrojeni (BUN)

Üre, karaciğerde bulunan üre döngüsü enzimleri tarafından üretilen, suda yüksek oranda çözünen, iki amino (NH₂) grubu ve bunlara bağlı bir karbonil (C=O) grubu içeren, yüksüz ve küçük bir organik moleküldür. Çözeltisi renksiz, kokusuzdur ve ne asidik ne de alkalidir (Wang ve ark. 2014, Higgins 2016).

Üre döngüsü, amonyak olarak ortaya çıkan fazla nitrojenin atılması için metabolik bir yoldur (Matsumoto ve ark. 2019). Hepatositlerin mitokondrilerinde toksik olan amonyağın dahil olmasıyla başlayan döngü, gerçekleşen beş reaksiyon sonucunda üre oluşumuyla sitoplazmada sona erer. Üre daha sonra hepatosit sitoplazmasını terk eder. %10'dan daha küçük bir miktarı ter ve bağırsak yoluyla dışarı atılırken geri kalan miktarı vasküler yol ile böbreklere ulaşır ve buradan idrarla atılır (Higgins 2016, Barmore ve ark. 2018).

Tüm dünyada temelde aynı üre analiz yöntemi kullanılır ve analiz için plazma veya serum kullanılmasına rağmen, test hala biraz kafa karıştırıcı bir şekilde genellikle BUN olarak adlandırılır (Burtis ve Bruns 2014). Akut böbrek hasarı klinikte böbrek yetmezliğini gösteren atık BUN izlenerek teşhis edilir (Gobe ve ark. 2015). Hastalıklı

veya doku hasarı olmuş böbreklerde glomerüler filtrasyon hızının düşmesi vasküler sistemde BUN seviyesinin artmasına neden olur (Xue ve ark. 2014).

2.3.10. Kreatinin (Cr)

Cr, kreatin ve kreatin fosfat metabolizmasının son ürünüdür. Cr'nin oluşum mekanizması karaciğer, pankreas ve böbrekte arginin ve glisin arasındaki bir aminotransferaz reaksiyonu sonucunda ornitin ve guanidinoasetat üretimi ile başlar. Guanidinoasetat karaciğerde kreatine dönüştürülür ve kas dokularına taşınarak yoğun kas kasılmalarının erken evrelerinde, hazır bir enerji kaynağı olarak kullanılan kreatin fosfata fosforile edilir. Kreatin, kas hücrelerinde enzimatik olmayan anhidrasyona uğrar ve Cr oluşumu gerçekleşir (Kashani ve ark. 2020).

Kan dolaşımı ile böbreklere gelen Cr glomerüllerden serbestçe filtre edilir, yeniden emilmez veya metabolize edilmez. İdrarla vücuttan uzaklaştırılan Cr'nin büyük bir kısmı proksimal tubüler sekresyondan gelir (Lopez-Giacoman ve Madero 2015). Böbrekteki ilerleyen doku hasarlarında glomerüler filtrasyon hızında meydana gelen azalma serum Cr miktarının artmasına neden olmaktadır (Gounden ve ark. 2023).

2.3.11. 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG)

Hücrede meydana gelen oksidatif stres sonucu lipidler ve proteinler zarar görür, oksitlenmiş DNA bazları oluşur ve DNA zincir kırılmaları meydana gelir. Sonuç olarak hücre apoptoza doğru ilerler (Omari Shekaftik ve Nasirzadeh 2021, Yadav ve ark. 2023).

ROS tarafından DNA'da üretilen 23 farklı oksidatif baz hasar ürünü tanımlanmıştır (Zaky ve ark. 2023). Guanin diğer DNA bazlarıyla kıyaslandığında en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip ve oksidasyona en yatkın DNA bazı olduğundan oksidatif hasarın birincil hedefi konumundadır. 8-OHdG, guanin oksidasyonu ile oluşan, oksidatif olarak indüklenen baz lezyonları arasında en yaygın olan ve DNA hasarının kararlı son ürünüdür (Çelik ve ark. 2023).

8-OhdG, guanin bazının 8. pozisyonundaki karbon atomuna •OH saldırısıyla üretilir. Nükleik asit oksidasyonunun en iyi bilinen ve oldukça yaygın kullanılan biyobelirtecidir (Dhulkefl ve ark. 2020, Graille ve ark. 2020).

2.3.12. Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α)

TNF- α , tümör nekroz faktörü adı verilen çok büyük bir sitokin ailesinin üyesi olan, bağışıklık sistemindeki en önemli proinflamatuvar sitokinlerden biridir (Sharif ve ark. 2020). Çoğunlukla aktifleştirilmiş makrofajlar, T-lenfositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilen ve yapısal olarak 157 amino asitten oluşan bir homotrimer proteindir (Jang ve ark. 2021). Doku hasarı ya da fiziksel stres sonrası kanda ilk saptanabilen sitokindir (Çayakar 2018).

Çözünebilir ve transmembran olmak üzere iki farklı formda bulunabilir. Transmembran TNF- α (tmTNF- α) başlangıçta 233 amino asitli hücre yüzeyi transmembran proteini olarak sentezlenen öncü formdur ve çözünür TNF- α (sTNF- α) olarak salınması için, zara bağlı bir disintegrin metalloproteinaz olan TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) tarafından işlenmesi gerekir (Jiang ve ark. 2017, Suo ve ark. 2022).

TNF- α , hedef hücrelerin membranında yer alan TNF reseptörü (TNFR) 1 ve TNFR 2 adı verilen reseptörlerine bağlanarak apoptoz, hücre farklılaşması, hücre çoğalması, hayatta kalma ve inflamasyon başta olmak üzere çok çeşitli biyolojik tepkilere aracılık eden sinyal yollarını aktive edebilir (Brás ve ark. 2020).

TNFR1, bütün hücre tiplerinin membranında bulunmasından dolayı TNF- α sinyal iletiminde ana reseptördür. TNFR2 ise genellikle bağışıklık hücrelerinde bulunur ve bağışıklık fonksiyonunu düzenleyebilen reseptördür (Huang ve ark. 2015).

TNFR1, hem sTNF- α hem de tmTNF- α tarafından aktive edilebilir (Pobezinskaya ve Liu 2012). TNFR1'in aktivasyonu kompleks I, IIa, IIb ve IIc olarak anılan, farklı hücresel tepkilerle sonuçlanan farklı sinyal komplekslerinin oluşumunu tetikleyebilir (Brenner ve ark. 2015).

Kompleks I'in oluşumu sırasında, aktive edilen TNFR1, TNFR1 ile ilişkili ölüm alanına (TRADD) bağlanır, ardından reseptör etkileşimli serin/treonin-protein

kinaz (RIPK) 1, TNFR ile ilişkili faktör (TRAF) 2 ve 5, apoptoz protein 1 ve 2'nin hücrel inhibitörü (cIAP1/2) dahil olmak üzere çeşitli bileşenlerin birleşmesi ve etkileşimi gelir (Holbrook ve ark. 2019). Bu kompleks sinyal yolu, NF- κ B ve MAPK aktivasyonu ile sonuçlanır (Haas ve ark. 2009, Gerlach ve ark. 2011). Kompleks I sinyalinin işlevsel sonucunun, inflamasyon, doku dejenerasyonu, hücrenin hayatta kalması ve çoğalmasının uyarılması, ayrıca patojenlere karşı bağışıklık savunması olduğu bilinmektedir (Jang ve ark. 2021).

Kompleks IIa; TRADD, RIPK1, TRAF2, cIAP1/2, prokaspaz8 ve Fas ile ilişkili ölüm alanı (FADD) proteininden oluşur. Bu bileşenlere RIPK3 ilavesiyle kompleks IIb oluşur. Bu iki kompleksin sinyal yolu kaspaz-8'i aktive eder ve apoptozla sonuçlanır (Wang ve ark. 2008, Wilson ve ark. 2009). Kompleks Iıc sinyal yolunda nekroptoz ve inflamasyonu indükleyen, karışık soy kinaz alanı benzeri (MLKL) proteini, RIPK3 aracılı fosforilasyon yoluyla aktive edilir (Cho ve ark. 2009).

TNFR2 sadece tmTNF- α tarafından aktive edilir (Ruder ve ark. 2019). TNFR2, TRAF2'yle birlikte TRAF1 ve cIAP1/2 ile birleşir ve bu kompleks, NF- κ B, MAPK'ler ve Akt aktivasyonu ile sonuçlanır (Kallioliias ve Ivashkiv 2016). TNFR2'nin aktivasyonu ile başlayan sinyal yolunun işlevi doku yenilenmesi, hücre çoğalması ve hücrenin hayatta kalması başta olmak üzere antiinflamatuvar ve homeostatik biyoaktivitelerle ilişkilidir (Probert 2015, Heir ve Stellwagen 2020).

2.3.13. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)

NF- κ B, apoptoz, viral replikasyon, tümör oluşumu, inflamasyon ve çeşitli otoimmün hastalıklarda yer alan bir transkripsiyon faktörüdür (Liu ve ark. 2017). Homo ve heterodimerler oluşturan NF- κ B1 (p105/p50), NF- κ B2 (p100/p52), RelA (p65), RelB ve c-Rel olmak üzere 5 alt birimden oluşmaktadır (de Gregorio ve ark. 2020). Tüm alt birimlerde dimerizasyon, DNA bağlanması ve κ B proteinlerinin inhibitörü (I κ B) ile etkileşim için gerekli olan N-terminal rel homoloji alanı bulunmaktadır (Zinatizadeh ve ark. 2021).

NF- κ B alt birimleri, I κ B tarafından hücre sitoplazmasında inaktif halde tutulur. NF- κ B sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla I κ B'nin fosforilasyonu ve bozunması, NF- κ B dimerlerinin aktifleşerek çekirdeğe translokasyonuna yol açar ve burada 300'den

fazla genin ekspresyonunu düzenleyebilirler (Serasanambati ve Chilakapati 2016, Concetti ve Wilson 2018). Güçlü transkripsiyon aktivasyon alanı (TAD) yalnızca p65, c-Rel ve RelB'de bulunur. p50 veya p52 dimerlerinde TAD bulunmaması nedeniyle yalnızca transkripsiyonel baskılayıcı olarak aracılık edebilirler (Zhang ve ark. 2017).

NF- κ B'nin en çok bilinen sinyal yolları, kanonik ve kanonik olmayan yoldur. Kanonik NF- κ B yolu, TNF-a ve IL-1 gibi proinflamatuvar sitokinler, T ve B-hücreleri mitojenleri, bakteriyel liposakkarit, viral proteinler ile ROS tarafından aktive edilir (Khongthong ve ark. 2019, Liao ve ark. 2019). Kanonik olmayan NF- κ B yolu ise lenfotoksin- β reseptörü (LT β R), TNF ailesi reseptörüne ait B hücreleri aktive edici faktör (BAFFR), CD40 ve NF- κ B için reseptör aktivatörü (RANK) dahil olmak üzere küçük bir reseptör grubuna spesifik yanıt oluşturur (Khongthong ve ark. 2019).

Kanonik yol, inflamatuvar yanıtlarda kritik bir rol oynar. Kanonik NF- κ B yolundaki p65/p50 dimerleri, sitoplazmada I κ Ba tarafından aktif olmayan bir durumda tutulur. Sitokinler, patojenler ve tehlike ile ilişkili moleküller gibi proinflamatuvar uyarılara maruz kalındığında, p65/p50 dimerleri, I κ Ba'nın proteazomal degradasyonu ile sonuçlanan fosforilasyon kaskadı nedeniyle I κ Ba'dan salınır. Daha sonra, p65/p50, aynı kökenli κ B motifine bağlandığı çekirdeğe yer değiştirerek NF- κ B hedef genlerinin aktivasyonuna ve ekspresyonuna yol açar (Motolani ve ark. 2022). Kanonik olmayan yol, TNFR üst aile üyelerinin bir alt kümesi aracılığıyla etkinleştirilir. Bu etkinleşme NF- κ B indükleyen kinazın (NIK) aktivasyonunu sağlar. NIK, p52'yi oluşturmak için p100'ün C-terminalini fosforile eden I κ B kinaz (IKK) α 'yı fosforile eder ve fosforilasyon kaskadını takiben bağışıklık hücrelerinin gelişiminde rol oynayan NF- κ B hedef genlerinin ekspresyonunu tetiklemek için p52/RelB çekirdeğe yer değiştirir (Sun ve ark. 2022).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmaya başlamadan önce Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan KAU-HADYEK/2020-107 kodu ile etik kurul onayı alındı. Araştırmada ortalama canlı ağırlıkları 250-270 gram aralığında, 48 adet Wistar albino erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi ve araştırmanın deneysel uygulamalarını

yapmak üzere Kafkas Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne getirildi. Bir haftalık adaptasyon döneminde herhangi bir deneysel işlem yapılmadı. Hayvanlar adaptasyon dönemi ve deney süresince 25 °C sıcaklık ve %60-65 nem koşulları bulunan odalarda 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışıklandırma altında barındırıldı, yem ve içme suyu *ad libitum* olarak verildi.

3.2. Deneysel Gruplarının Oluşturulması ve Uygulamalar

Adaptasyon dönemini takiben rastgele seçimle her grupta 8 adet hayvan olacak şekilde 6 grup oluşturuldu. Gruplar ve uygulama şekilleri şu şekilde tasarlandı:

1.Grup (Kontrol): İntraperitoneal yolla tek doz serum fizyolojik enjekte edildi.

2.Grup (200CUR): Oral gavaj yoluyla 7 gün boyunca 200 mg/kg CUR verildi (AlBasher ve ark. 2020).

3.Grup (300CUR): Oral gavaj yoluyla 7 gün boyunca 300 mg/kg CUR verildi (Saghir ve ark. 2020).

4.Grup (CP): 1. gün intraperitoneal yolla tek doz 200 mg/kg CP enjekte edildi (Temel ve ark. 2020).

5.Grup (CP+200CUR): 1. gün intraperitoneal yolla tek doz 200 mg/kg CP enjekte edildi ve oral gavaj yoluyla 7 gün boyunca 200 mg/kg CUR verildi.

6.Grup (CP+300CUR): 1. gün intraperitoneal yolla tek doz 200 mg/kg CP enjekte edildi ve oral gavaj yoluyla 7 gün boyunca 300 mg/kg CUR verildi.

Deneysel gruplarında yapılan uygulamaların sonunda tüm deney hayvanlarından ketamin/rompun (50/10 mg·kg⁻¹) anestezisi altında intrakardiyak kan alımı yapıldı ve bu işlemi takiben ötenazi gerçekleştirildi. Kanlar EDTA içeren antikoagülanlı ve boş antikoagülanlı tüplere alındı. Ötenazi sonrası hayvanların sistemik nekropsilerini takiben cerrahi işlemlerle karaciğer, böbrek ve kalp doku örnekleri alındı. Dokuların bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikze edildi. Biyokimyasal analizler için alınan doku örnekleri serum fizyolojikle yıkandıktan sonra fosfat tamponu (PBS) kullanılarak 10 kat sulandırıldı. Homojenizatör kullanılarak buz üzerinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar soğutmalı santrifüj cihazında 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek supernatant elde edildi. Biyokimyasal analizler için alınan antikoagülanlı kan örneklerinden GSH analizi için bir miktar ayrıldı. Geri kalan miktar soğutmalı santrifüj cihazında 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek

plazma elde edildi. Serum için alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 20 dk bekletildi ve süre sonunda soğutmalı santrifüj cihazında 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edilerek serum elde edildi. Elde edilen supernatant, plazma ve serum örnekleri biyokimyasal analizlerin yapıldığı güne kadar derin dondurucuda -20 °C'de muhafaza edildi.

3.3. Metot

3.3.1. Kullanılan Cihaz ve Ekipmanlar

Çalkalamalı sıcak su banyosu (GFL, Almanya)

Deiyonize su cihazı (Elga, İngiltere)

Derin dondurucu (Bosch, Almanya)

Etüv (Nüve EN 400, Türkiye)

Hassas terazi (Precisa, İsviçre)

Homojenizatör (Benchmark, Fransa)

Manyetik karıştırıcı (Labinco, Hollanda)

Mikroplaka Okuyucu (Epoch Biotek, ABD)

Otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya)

pH metre (İnoLab, Almanya)

Plate çalkalayıcı (Heidolph Instruments Titramax 100, Almanya)

Soğutmalı santrifüj (Nüve NF 800 R, Türkiye)

Vorteks (Velp Scientifica, İtalya)

3.3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP), 5,5'-(2-ditoyo nitrobenzoik asit) (DTNB), N-Bütanol, sodyum nitrat (NaNO_2), sodyum nitrit (NaNO_3) (Sigma, ABD)

Çinko sülfat (ZnSO_4), etil alkol, etilendiamin tetra asetik asit (EDTA), hidroklorik asit (HCl), metafosforik asit, N-(1-Naftil)etilendiamin dihidroklorür (NEDD), redükte glutatyon (GSH), sodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum klorür (NaCl), sodyum sitrat, tiyobarbütirik asit (TBA), triklor asetik asit (TCAA), vanadyum (III) klorür (VCl_3) (Merck, Almanya)

Sulfanilamid (Lancaster, İngiltere)

3.3.3. Kullanılan Kitler

ALT analiz kiti, AST analiz kiti, ALP analiz kiti, cTn-I ELISA kit, CK-MB ELISA kit, 8-OHdG ELISA kit, TNF- α ELSIA kit ve NF- κ B ELISA kit (Shanghai Korain Biotech Co. Ltd., Çin)

Cr Analiz kiti ve BUN analiz kiti (Elabscience Bionovation Inc., ABD)

3.3.4. Kullanılan Farmasötik ve Nutrasötik Maddeler

Intraperitoneal olarak enjekte edilen CP kaynağı olarak Eczacıbaşı-Baxter Hastane Ürünleri San. ve Tic. A.Ş. tarafından Baxter Oncology GmbH Halle-Almanya firmasından ithal edilen “ENDOXYAN 1000 mg IV infüzyon içeren toz flakon” ticari ismiyle piyasada bulunan, 50 mL serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ile çözdürüldüğünde her mL’si 20 mg CP içeren beşeri farmasötik ürün kullanıldı.

Oral olarak verilen CUR kaynağı olarak Orzaks İlaç ve Kimya San. Tic. A.Ş. tarafından Orzax Inc.-Amerika firmasından ithal edilen “Orzax Ocean Curcumin” ticari ismi ile piyasada bulunan ve her kapsülde 35,03 mg CUR içeren nutrasötik ürün kullanıldı.

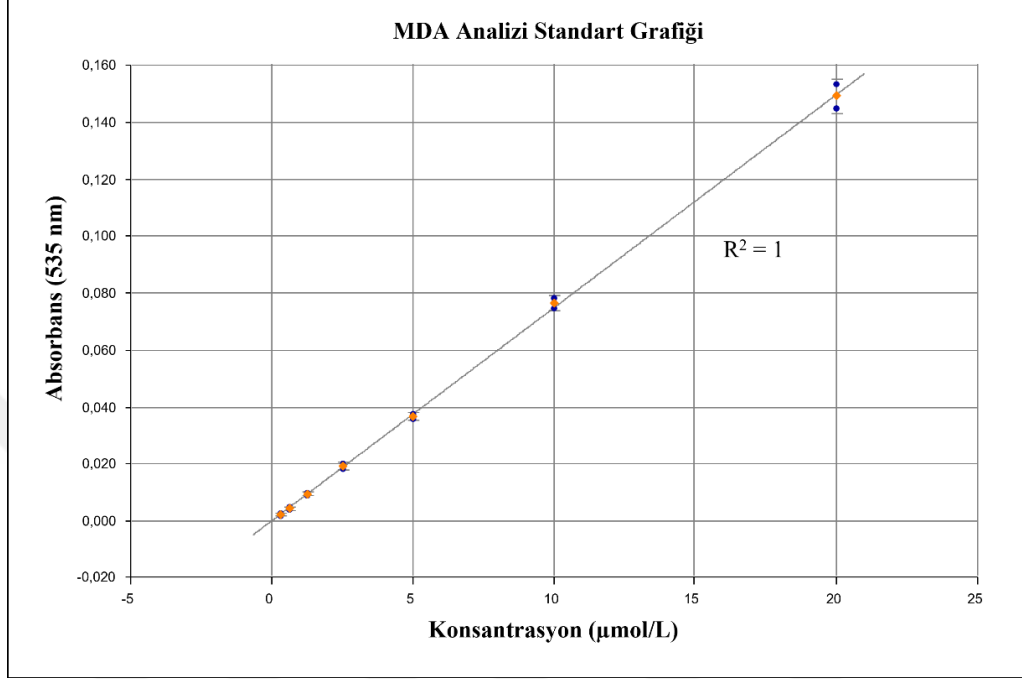
3.4. Biyokimyasal Analizler

3.4.1. Malondialdehit (MDA) Analizi

Yoshioka ve ark. (1979) tarafından bildirilen yöntem takip edilerek plazmada MDA analizi yapıldı. Analizin yapılış adımları takip edilerek oluşturulan çözelti, düşük pH ve TBA varlığında ısıtıldığında 535 nm’de pik oluşturan kırmızı-pembe bir renk meydana getirir. Bu renk MDA molekülü ve iki TBA molekülünün birleşmesi sonucunda meydana gelen kromojen tarafından oluşturulur.

Testin yapılışı: Kör tüpüne 0,5 mL distile su, standart tüplerine sırasıyla 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 ve 20 μ mol/L dilasyonlarda hazırlanmış alkolde çözülmüş 1,1,3,3,-tetraetoksipropan çözeltilerinden (standart çözelti) 0,5 mL ve test tüplerine 0,5 mL numune konuldu. Daha önce hazırlanan % 20’lik TCAA çözeltisinden kör tüpüne 3 mL, standart ve test tüplerine 2,5 mL eklendi. Tüm tüplere 1 mL TBA eklenerek tüpler 90 °C sıcaklıktaki su banyosunda 30 dk. inkübe edildi. Tüpler soğutulduktan sonra tüm tüplere 4 mL n-bütanol ilave edildi. Tüpler vorteksle çalkalandıktan sonra 3000 rpm devirde 10 dk. santrifüj edildi. Renkli süpernatant

mikroplaka okuyucuda 535 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune MDA konsantrasyonları $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplandı.

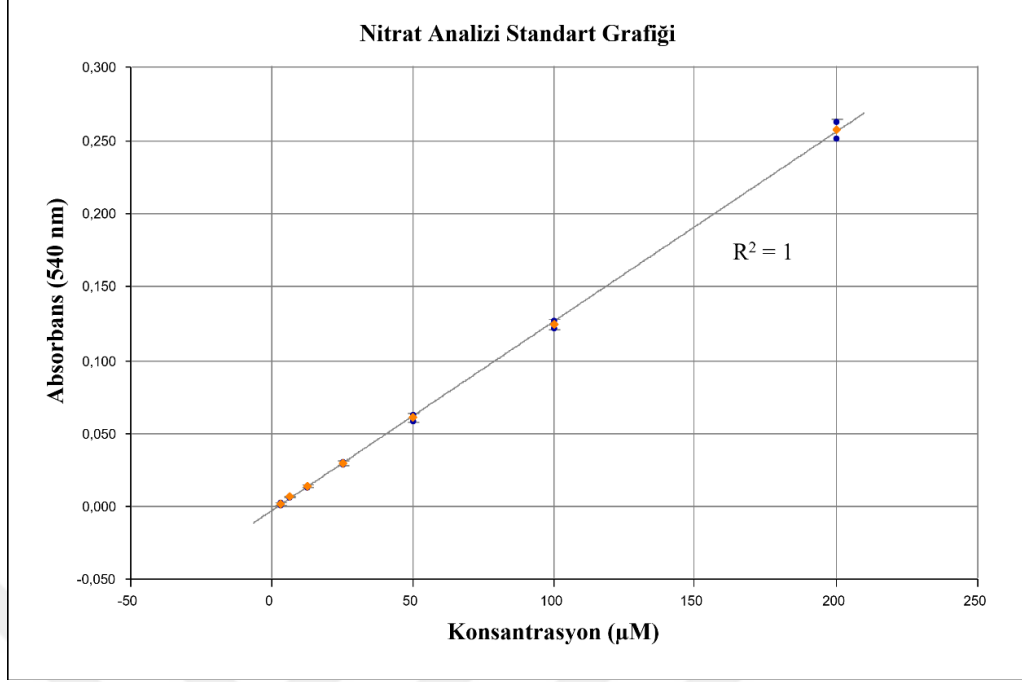


Grafik 1. MDA Analizi Standart Grafiği

3.4.2. Nitrik Oksit (NO) Analizi

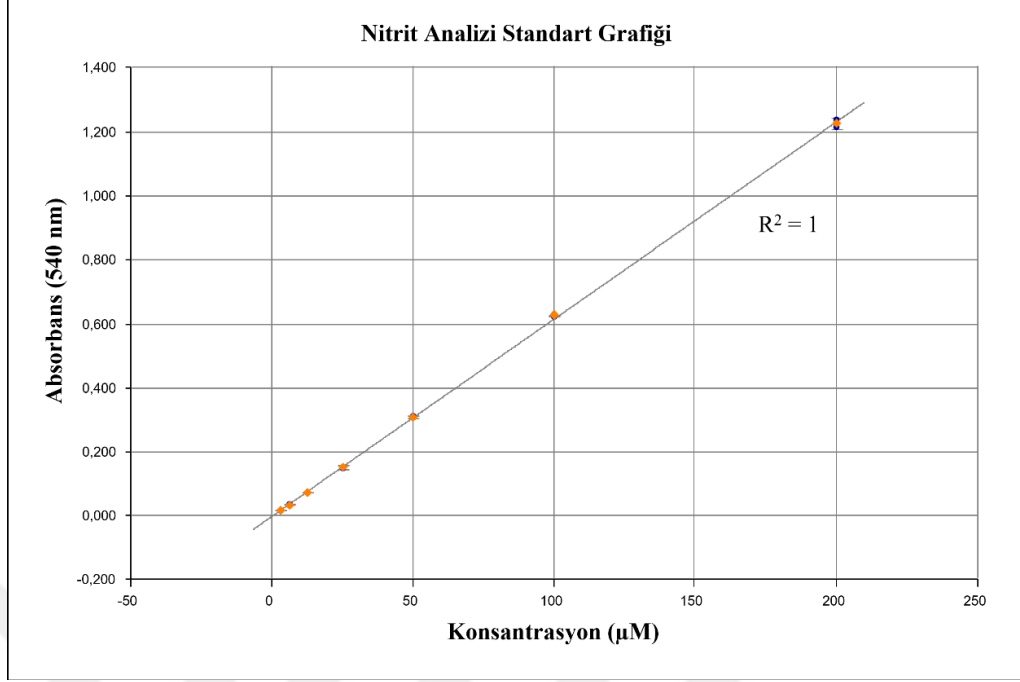
Miranda ve ark. (2001) tarafından bildirilen yöntem takip edilerek plazmada NO analizi yapıldı. VaCl_3 , NaNO_3 ile reaksiyona girerek NaNO_2 oluşturur. Sulfanamid ve NEDD, asidik pH'da NaNO_2 ile reaksiyona girerek renk veren diazonyum bileşiğini oluşturur.

NaNO_3 analizi için mikroplaka üzerinde seçilen kör kuyusuna 100 μL distile su, standart kuyularına sırasıyla 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 μM dilisyonlarda hazırlanmış stok NaNO_3 çözeltilerinden 100 μL ve numune kuyularına numunelerden 100 μL konuldu. Tüm kuyulara 100 μL VaCl_3 konuldu. Ardından %5'lik HCl 'de çözdürülen %2'lik sulfanamid ve distile suda çözdürülen % 0,1 NEDD'in 1:1 karışımından elde edilen griess ayırıcından tüm kuyulara 100 μL eklendi. 37 °C etüvde 30 dakika inkübasyondan sonra mikroplaka mikroplaka okuyucuda 540 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune NaNO_3 konsantrasyonları μM olarak hesaplandı.



Grafik 2. Nitrat Analizi Standart Grafiği

NaNO_2 analizi için mikrolaka üzerinde seçilen k3r kuyusuna 100 μL distile su, standart kuyularına sırasıyla 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 μM dilisyonlarda hazırlanmış stok NaNO_2 3zeltelerinden 100 μL ve numune kuyularına numunelerden 100 μL konuldu. Ardından griess ayırıcından t3m kuyulara 100 μL eklendi. 37 $^\circ\text{C}$ et3vde 30 dakika ink3basyondan sonra mikrolaka mikrolaka okuyucuda 540 nm dalga boyunda k3re karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune NaNO_2 konsantrasyonları μM olarak hesaplandı.



Grafik 3. Nitrit Analizi Standart Grafiği

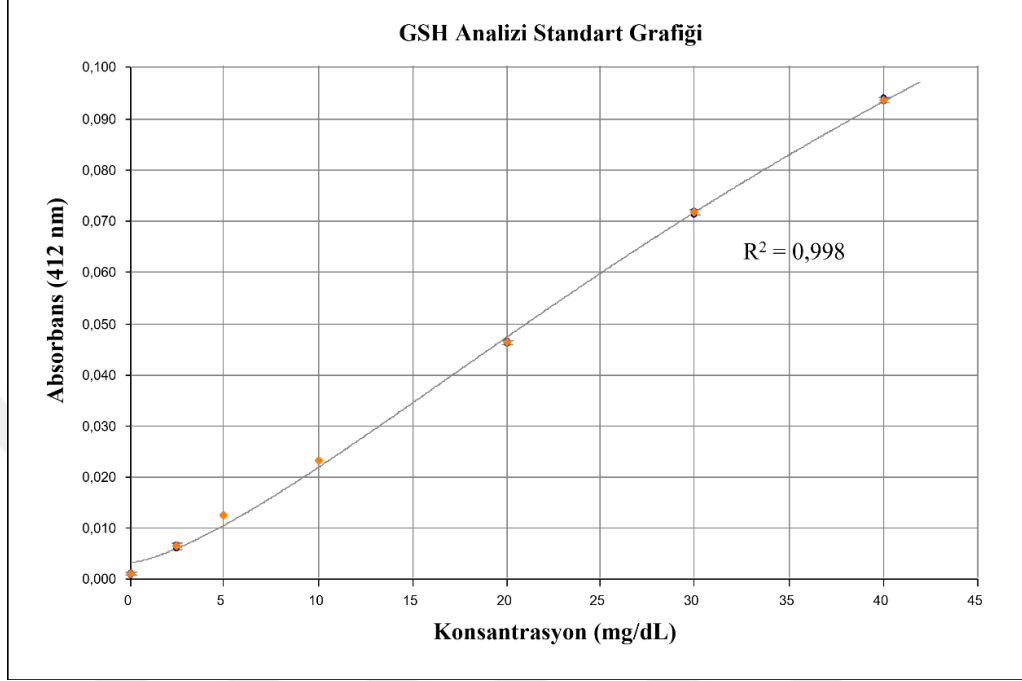
Hesaplanan NaNO_3 ve NaNO_2 konsantrasyonları toplandı ve numune NO konsantrasyonları μM olarak hesaplandı.

3.4.3. Redükte Glutatyon (GSH) Analizi

Beutler ve ark. (1963) tarafından bildirilen yöntem takip edilerek tam kanda GSH analizi yapıldı. ETDA'lı kan, distile su ile hemoliz edildikten sonra kanda sülfhidril (SH) grupları taşımayan tüm proteinler, 100 mL distile su içinde 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA ve 30 g NaCl çözündürülmesi ile oluşan çöktürücü çözelti kullanılarak çöktürülür. Berrak sıvıda SH grupları DTNB ile reaksiyona girerek sarı renkli bir kompleks oluşturur.

GSH analizi için kör tüpüne 800 μL distile su, standart tüplerine sırasıyla 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 30 ve 40 mg/dL dilisyonlarda hazırlanmış GSH standart çözeltilerinden 200 μL ve numune tüplerine numunelerden 200 μL konuldu. Ardından kör tüpüne 1.2 mL çöktürücü çözelti, test ve standart tüplerine 1.8 mL distile su ile 3 mL çöktürücü çözelti eklendi. Tüpler vorteks cihazı kullanılarak karıştırıldı, buzlu suda 5 dk bekletildi ve 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Kör, standart ve numune tüplerinden 2 mL supernatant alındı. Bütün tüplere, distile suda çözülerek oluşturulan 0.3 M fosfat çözeltilisinden 8 mL eklenerek karıştırıldı. Ardından 1 mL DTNB eklenerek mikroyapıya

okuyucuda 412 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune GSH konsantrasyonları mg/dL olarak hesaplandı.



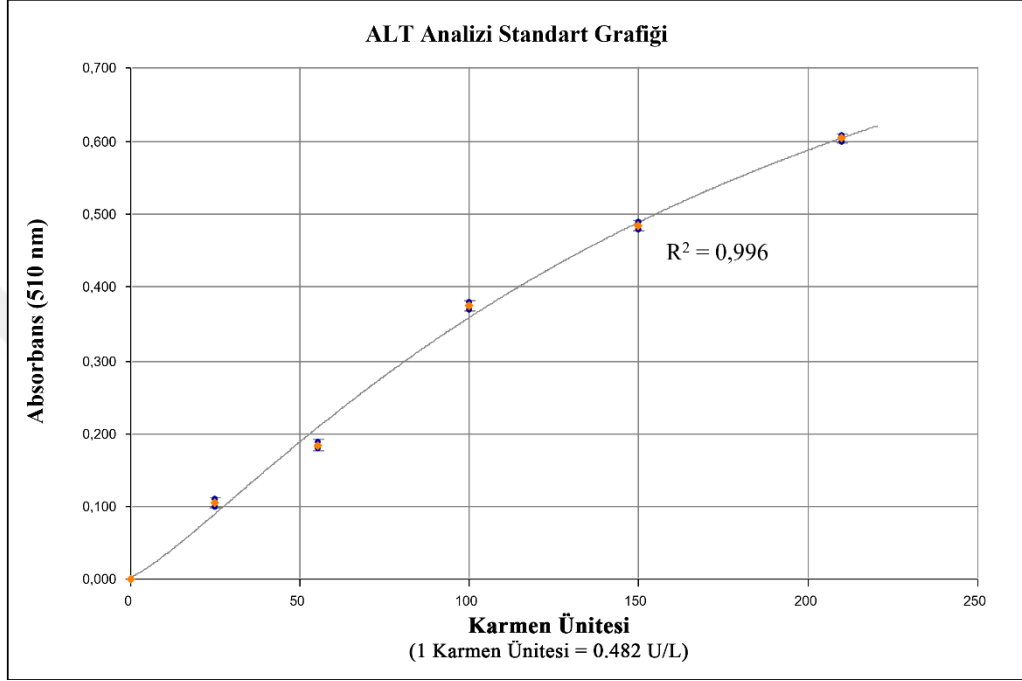
Grafik 4. GSH Analizi Standart Grafiği

3.4.4. Alanin Aminotransferaz (ALT) Analizi

Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) isimli firmadan temin edilen ALT analiz kiti kullanılarak kolorimetrik metot ile kan serumunda ALT enzim aktivitesi ölçümü yapıldı. ALT, alanin ve a-ketoglutarik asidi 37 °C ve pH 7.4'te katalize ederek piruvik asit ve glutamik asit üretir. Reaksiyonu durdurmak için 2,4 dinitrofenilhidrazin (DNPH) solüsyonu eklendiğinde alkali pH'da piruvik asit kırmızımsı kahverengi renk veren fenilhidrazon piruvata dönüşür.

ALT analizi için mikroplaka üzerinde seçilen numune ve kontrol kuyularına 37 °C'ye ısıtılmış ALT substrat solüsyonundan 20 µL konuldu. Numune kuyularına 5 µL numune eklendikten sonra plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı ve 37 °C'de 30 dk. inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 20 µL DNPH solüsyonu, kontrol kuyularına 5 µL numune eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı ve 37 °C'de 20 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 200 µL 0.4 mol/L NaOH çözeltisi eklendi, plate çalkalayıcı ile iyice

karıştırılması sağlandı, 15 dk oda sıcaklığında bekletildi ve mikropłaka okuyucuda 510 nm dalga boyunda okundu. Numune absorbans değerinden kontrol absorbans değeri çıkarılarak mutlak absorbans değeri tespit edildi. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune ALT enzim aktiviteleri U/L olarak hesaplandı.



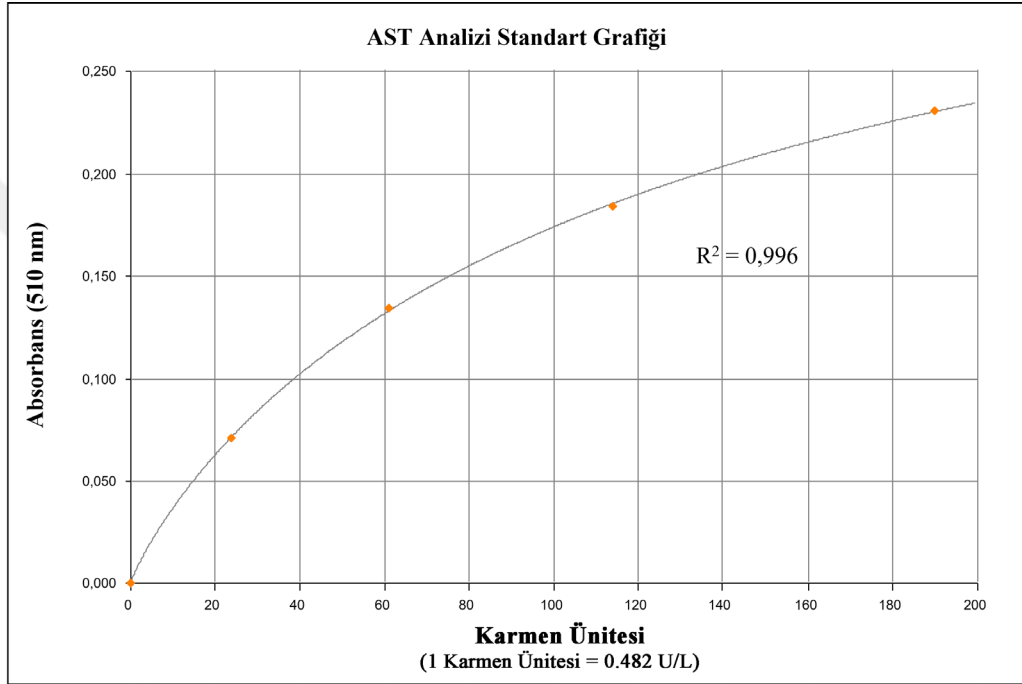
Grafik 5. ALT Analizi Standart Grafiği

3.4.5. Aspartat Aminotransferaz (AST) Analizi

Bioassay Technology Laboratory (BT LAB) isimli firmadan temin edilen AST analizi kiti kullanılarak kolorimetrik metot ile kan serumunda AST enzim aktivitesi ölçümü yapıldı. AST, α -ketoglutarik asit ve aspartik asit arasında amino grubunun yer değiştirdiği reaksiyonu katalize ederek glutamik asit ve oksaloasetik asit oluşturmasını sağlar. Oksaloasetik asit, reaksiyon sırasında piruvik asit oluşturmak üzere dekarboksilasyona uğrar. Piruvik asit DNPH ile reaksiyona girerek alkali pH'da kırmızımsı kahverengi renk veren fenilhidrazon piruvata dönüşür.

AST analizi için mikropłaka üzerinde seçilen numune ve kontrol kuyularına 37 °C'ye ısıtılmış AST substrat solüsyonundan 20 μ L konuldu. Numune kuyularına 5 μ L numune eklendikten sonra plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı ve 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 20 μ L DNPH solüsyonu,

kontrol kuyularına 5 µL numune eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı ve 37 °C'de 20 dk inkübasyona bırakıldı. Daha sonra tüm kuyulara 200 µL 0.4 mol/L NaOH çözeltisi eklendi, plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı, 15 dk. oda sıcaklığında bekletildi ve mikroparka okuyucuda 510 nm dalga boyunda okundu. Numune absorbans değerinden kontrol absorbans değeri çıkarılarak mutlak absorbans değeri tespit edildi. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune AST enzim aktiviteleri U/L olarak hesaplandı.



Grafik 6. AST Analizi Standart Grafiği

3.4.6. Alkalın Fosfataz (ALP) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen ALP analiz kiti kullanılarak kolorimetrik metot ile kan serumunda ALP enzim aktivitesi ölçümü yapıldı. ALP, disodyum fenil fosfatın hidroliz reaksiyonunu katalize eder. Reaksiyon sonucunda oluşan ürünlerden biri olan fenol, 4-amino-antipiren ile reaksiyona sokulabilirken, bu reaksiyonun ürünü potasyum ferrisiyanür ile ayrıca oksitlenerek kırmızı kinon ürünü elde edilebilir.

ALP analizi için mikroparka üzerinde seçilen kör kuyusuna 5 µL double distile su, standart kuyusuna 5 µL 0.1 mg/ml fenol çözeltisi ve numune kuyularına 5 µL numune konuldu. Ardından tüm kuyulara 50 µL tampon çözelti ve 50 µL substrat çözeltisi eklendi, plate çalkalayıcı ile iyice karıştırılması sağlandı ve 37 °C'deki su

banyosunda 15 dk. tutuldu. Son olarak tüm kuyulara 150 µL kromojenik ajan eklendi ve homojenize olması için iyice karışması sağlanarak mikrolaka okuyucuda 510 nm dalga boyunda okundu. Tespit edilen absorbanslar hesaplama formülü yardımıyla değerlendirildi ve numune ALP enzim aktiviteleri King Unit (KU)/100mL olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Enzim Aktivitesi} = \frac{\text{OD}_{\text{Numune}} - \text{OD}_{\text{Kör}}}{\text{OD}_{\text{Standart}} - \text{OD}_{\text{Kör}}} \times C_{\text{Standart}} \times V \times \text{CoD}$$

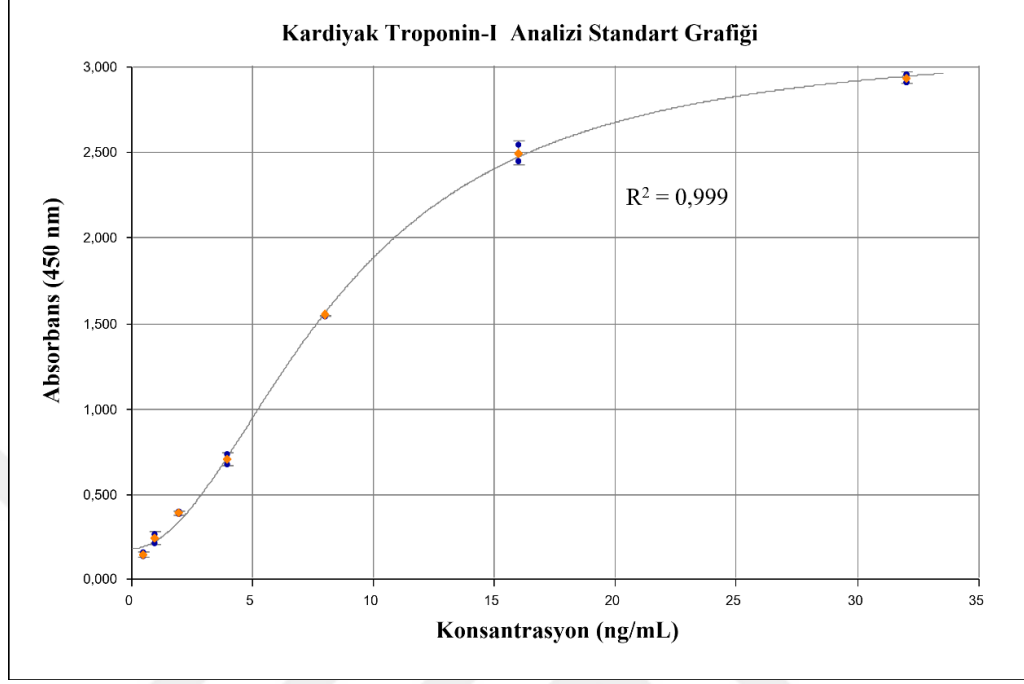
KU/100mL

3.4.7. Kardiyak Troponin-I (cTn-I) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen cTn-I enzim bağlantılı immünosorbent analizi (ELISA) kiti kullanılarak serum cTn-I konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Daha önceden rat cTn-I antikoruyla kaplanmış mikrolaka kuyularına numune eklendiğinde numunedeki cTn-I kuyular üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş rat cTn-I antikor numunedeki cTn-I'e bağlanır. Ardından eklenen streptavidin-HRP biyotinlenmiş cTn-I antikoruna bağlanır. Bağlanmamış streptavidin-HRP bir dizi yıkama adımıyla yıkanarak uzaklaştırılır. Ardından substrat çözeltisi eklenir ve rat cTn-I miktarıyla orantılı olarak renk değişimi meydana gelir.

cTn-I analizi için kit ile birlikte gelen tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kitin içerisinde bulunan ve daha önceden cTn-I antikor ile kaplanmış mikrolaka üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, standart stok çözeltisi ve standart diluenti kullanılarak sırasıyla 0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 ng/mL dilasyonlarda hazırlanan standart çözeltilerden 50 µL, numune kuyularına 40 µL numune ve 10 µL biyotinlenmiş cTn-I antikor koyuldu. Ardından standart ve numune kuyularına 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 60 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyular yıkama tamponu kullanılarak yıkandı ve kurutuldu. Yıkama ve kurutma işlemi 5 kez tekrarlandıktan sonra tüm kuyulara 50 µL substrat solüsyonu A ve 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikrolaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda köre karşı

okundu. Tespit edilen absorbanlar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune cTn-I konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplandı.



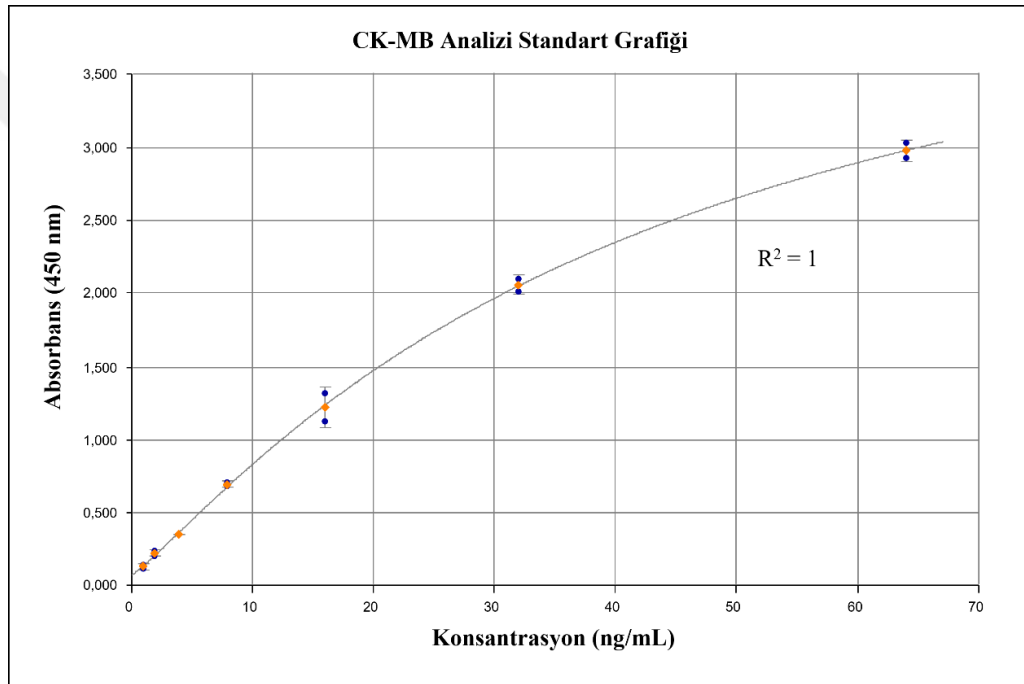
Grafik 7. cTn-I Analizi Standart Grafiği

3.4.8. Kreatin Kinaz İzoenzim MB (CK-MB) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen CK-MB ELISA kiti kullanılarak kan serumunda CK-MB konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Daha önceden rat CK-MB antikoruyla kaplanmış mikrolaka kuyularına numune eklendiğinde numunedeki CK-MB kuyular üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş rat CK-MB antikorunu numunedeki CK-MB'ye bağlanır. Ardından eklenen streptavidin-HRP biyotinlenmiş CK-MB antikoruna bağlanır. Bağlanmamış streptavidin-HRP bir dizi yıkama adımıyla yıkanarak uzaklaştırılır. Ardından substrat çözeltisi eklenir ve rat CK-MB miktarıyla orantılı olarak renk değişimi meydana gelir.

CK-MB analizi için kit ile birlikte gelen tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kitle gelen ve daha önceden CK-MB antikorunu ile kaplanmış mikrolaka üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, standart stok çözeltisi ve standart diluenti kullanılarak sırasıyla 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 ng/mL dilusyonlarda hazırlanan standart çözeltilerden 50 µL, numune kuyularına 40 µL numune ve 10 µL biyotinlenmiş CK-MB antikorunu koyuldu. Ardından standart ve numune kuyularına 50 µL streptavidin-

HRP eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 60 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyular yıkama tamponu kullanılarak yıkandı ve kurutuldu. Yıkama ve kurutma işlemi 5 kez tekrarlandıktan sonra tüm kuyulara 50 µL substrast solüsyonu A ve 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikropilaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanlar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune CK-MB konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplandı.



Grafik 8. CK-MB Analizi Standart Grafiği

3.4.9. Kan Üre Nitrojeni (BUN) Analizi

Elabscience Biotechnology Inc. isimli firmadan temin edilen BUN kolorimetrik analiz kiti kullanılarak kan serumunda BUN konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Üre, üreaz katalizörlüğünde amonyak ve karbondioksit oluşturur. Amonyak, fenol kromojenik ajan ile alkali ortamda reaksiyona girdiğinde mavi renk veren bir madde oluşturur.

Üre analizi için mikropilaka üzerinde seçilen kör kuyusuna 20 µL double distile su, standart kuyusuna 20 µL 10 mmol/L dilüsyonda hazırlanmış üre standart çözeltisi,

numune ve kontrol kuyularına 20 µL numune koyuldu. Ardından kör, standart ve numune kuyularına 250 µL enzim stok çözeltisi ve enzim diluenti kullanılarak hazırlanmış enzim çözeltisi, kontrol kuyularına 250 µL enzim diluenti eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 1000 µL kromojenik ajan çözeltisi ve 1000 µL alkali NaClO çözeltisi eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda mikropilaya okuyucuda 580 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar hesaplama formülü yardımıyla değerlendirildi ve numune BUN konsantrasyonları mmol/L olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{BUN Konsantrasyonu mmol/L} = \frac{\text{OD}_{\text{Numune}} - \text{OD}_{\text{Kontrol}}}{\text{OD}_{\text{Standart}} - \text{OD}_{\text{Kör}}} \times C_{\text{Standart}} \times \text{Dilasyon Faktörü}$$

3.4.10. Kreatinin (Cr) Analizi

Elabscience Biotechnology Inc. isimli firmadan temin edilen Cr kolorimetrik analiz kiti kullanılarak kan serumunda Cr konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Cr, kreatinaz katalizörlüğünde kreatine dönüşür. Kreatin, kreatinaz tarafından hidrolize edilir, sarkozin ve üre oluşur. Sarkozin, sarkozin oksidaz katalizörlüğünde glisin, formaldehit ve H₂O₂'ye ayrışır. H₂O₂, 2,4-(6-triiodin-3-hidroksibenzoik asit) ve 4-ampiron arasında peroksidaz tarafından katalize edilen reaksiyon sonucunda pembe renk veren bir bileşik oluşturur.

Cr analizi için mikropilaya üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, 1 mmol/L standart çözeltisi ve double distile su kullanılarak hazırlanan sırasıyla 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ve 0.8 mmol/L dilusyondaki standart çözeltilerden 12 µL, numune kuyularına numunelerden 12 µL koyuldu. Ardından tüm kuyulara 180 µL enzim çözeltisi A eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 5 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 60 µL enzim çözeltisi B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 2 dk. inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda mikropilaya okuyucuda 515 nm dalga boyunda köre karşı okunarak ilk absorbans değerleri (A1) alındı. Yeniden üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 3 dk inkübasyona bırakıldı.

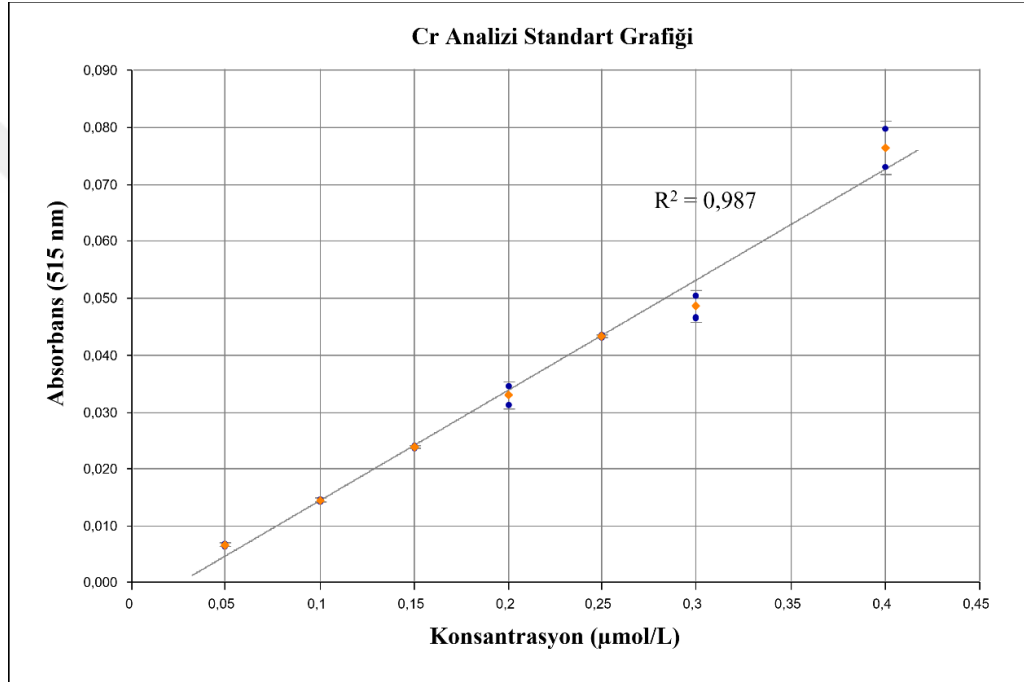
İnkubasyondan sonra mikroplaka okuyucuda ikinci absorbans değerleri (A2) alındı. Tespit edilen absorbanslar hesaplama formülü ve standart grafik yardımıyla değerlendirildi, numune Cr konsantrasyonları $\mu\text{mol/L}$ olarak aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Standart Eğri Formülü: } y = ax + b$$

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

$$\Delta A_{515} = \Delta A_{\text{Numune}} - \Delta A_{\text{Kör}}$$

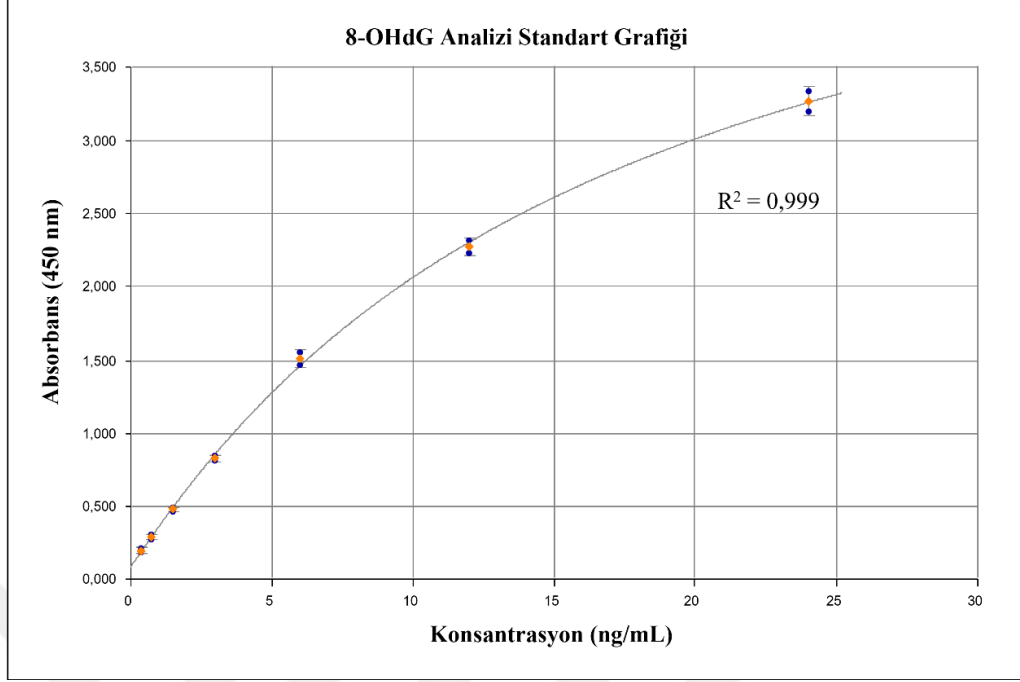
$$\text{Cr Konsantrasyonu } (\mu\text{mol/L}) = (\Delta A_{515} - b) \div a \times 1000 \times \text{Dilasyon Faktörü}$$



Grafik 9. Cr Analizi Standart Grafiği

3.4.11. 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen 8-OHdG ELISA kiti kullanılarak karaciğer, böbrek ve kalp doku homojenatlarında 8-OHdG konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Daha önceden rat 8-OHdG antikoruyla kaplanmış mikroplaka kuyularına numune eklendiğinde numunedeki 8-OHdG kuyular üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş rat 8-OHdG antikor numunedeki 8-OHdG'ye bağlanır. Ardından eklenen streptavidin-HRP biyotinlenmiş 8-OHdG antikoruna bağlanır. Bağlanmamış streptavidin-HRP bir dizi yıkama adımıyla yıkanarak uzaklaştırılır. Ardından substrat çözeltisi eklenir ve rat 8-OHdG miktarıyla orantılı olarak renk değişimi meydana gelir.



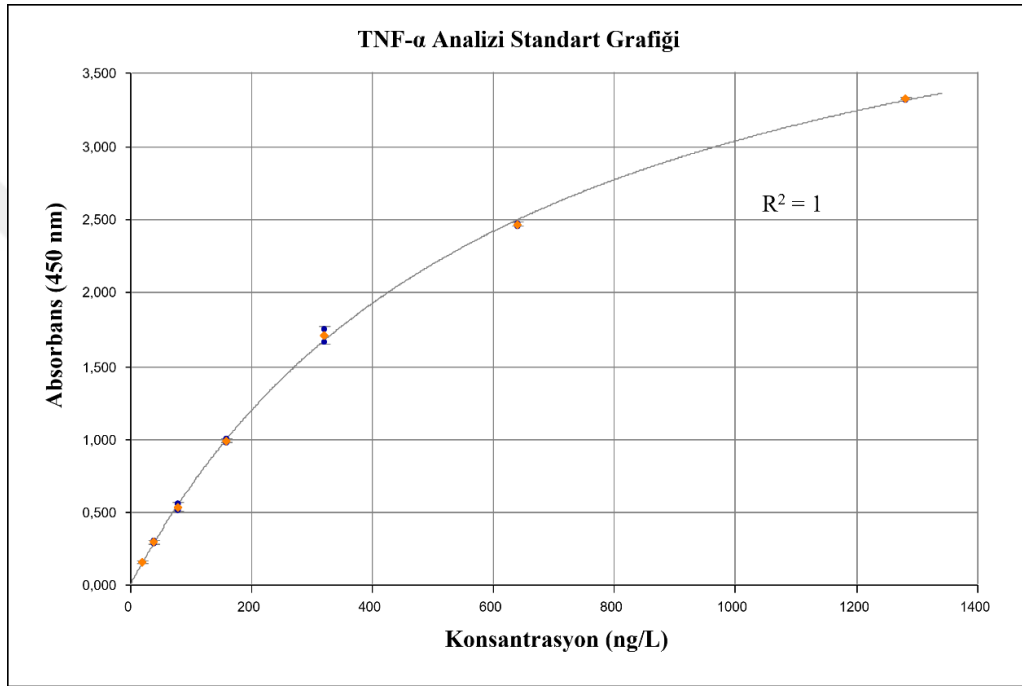
Grafik 10. 8-OHdG Analizi Standart Grafiği

8-OHdG analizi için kit ile birlikte gelen tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kitle gelen ve daha önceden 8-OHdG antikoruna ile kaplanmış mikropılaka üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, standart stok çözeltisi ve standart diluenti kullanılarak sırasıyla 0, 0.375, 0.75, 1.5, 3, 6, 12 ve 24 ng/mL dilusyonlarda hazırlanan standart çözeltilerden 50 µL, numune kuyularına 40 µL numune ve 10 µL biyotininmiş 8-OHdG antikoruna koyuldu. Ardından standart ve numune kuyularına 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 60 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyular yıkama tamponu kullanılarak yıkandı ve kurutuldu. Yıkama ve kurutma işlemi 5 kez tekrarlandıktan sonra tüm kuyulara 50 µL substrast solüsyonu A ve 50 µL substrast solüsyonu B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikropılaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanslar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune 8-OHdG konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplandı.

3.4.12. Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF-α) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen TNF-α ELISA kiti kullanılarak karaciğer, böbrek ve kalp doku homojenatlarında TNF-α konsantrasyonu ölçümü

yapıldı. Daha önceden rat TNF- α antikoruyla kaplanmış mikrolaka kuyularına numune eklendiğinde numunedeki TNF- α kuyular üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş rat TNF- α antikoru numunedeki TNF- α 'ya bağlanır. Ardından eklenen streptavidin-HRP biyotinlenmiş TNF- α antikoruna bağlanır. Bağlanmamış streptavidin-HRP bir dizi yıkama adımıyla yıkılarak uzaklaştırılır. Ardından substrat çözeltisi eklenir ve numunedeki rat TNF- α miktarıyla orantılı olarak renk değişimi meydana gelir.



Grafik 11. TNF- α Analizi Standart Grafiği

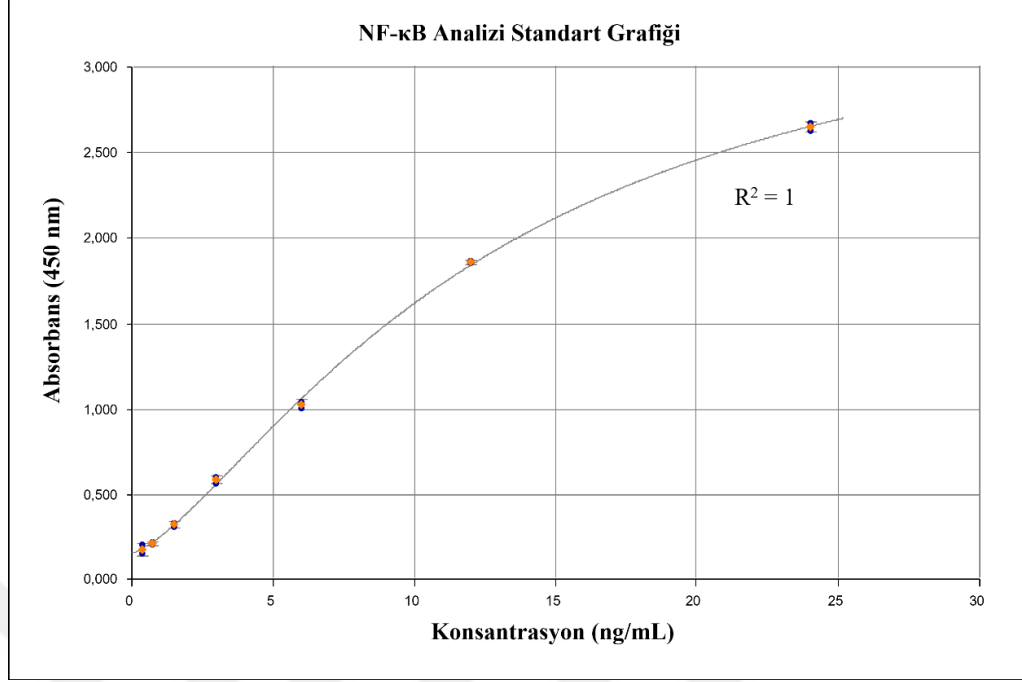
TNF- α analizi için kit ile birlikte gelen tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kitle gelen ve daha önceden TNF- α antikoru ile kaplanmış mikrolaka üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, standart stok çözeltisi ve standart diluenti kullanılarak sırasıyla 0, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ve 1280 ng/L dilusyonlarda hazırlanan standart çözeltilerden 50 μ L, numune kuyularına 40 μ L numune ve 10 μ L biyotinlenmiş TNF- α antikoru koyuldu. Ardından standart ve numune kuyularına 50 μ L streptavidin-HRP eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 60 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyular yıkama tamponu kullanılarak yıkandı ve kurutuldu. Yıkama ve kurutma işlemi 5 kez tekrarlandıktan sonra tüm kuyulara 50 μ L substrat solüsyonu A ve 50 μ L substrat solüsyonu B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak

37 °C'deki etüvde 10 dk. inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikrolaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanlar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune TNF-α konsantrasyonları ng/L olarak hesaplandı.

3.4.13. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB) Analizi

BT LAB isimli firmadan temin edilen NF-κB ELISA kiti kullanılarak karaciğer, böbrek ve kalp doku homojenatlarında NF-κB konsantrasyonu ölçümü yapıldı. Daha önceden rat NF-κB antikoruyla kaplanmış mikrolaka kuyularına numune eklendiğinde numunedeki NF-κB kuyular üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Ardından eklenen biyotinlenmiş rat NF-κB antikor numunedeki NF-κB'ye bağlanır. Ardından eklenen streptavidin-HRP biyotinlenmiş NF-κB antikoruna bağlanır. Bağlanmamış streptavidin-HRP bir dizi yıkama adımıyla yıkanarak uzaklaştırılır. Ardından substrat çözeltisi eklenir ve rat NF-κB miktarıyla orantılı olarak renk değişimi meydana gelir.

NF-κB analizi için kit ile birlikte gelen tüm reaktifler oda ısısına getirildi. Kitle gelen ve daha önceden NF-κB antikoruna ile kaplanmış mikrolaka üzerinde seçilen kör kuyusuna ve standart kuyularına, standart stok çözeltisi ve standart diluenti kullanılarak sırasıyla 0, 0.375, 0.75, 1.5, 3, 6, 12 ve 24 ng/mL dilusyonlarda hazırlanan standart çözeltilerden 50 µL, numune kuyularına 40 µL numune ve 10 µL biyotinlenmiş NF-κB antikoruna koyuldu. Ardından standart ve numune kuyularına 50 µL streptavidin-HRP eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 60 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyular yıkama tamponu kullanılarak yıkandı ve kurutuldu. Yıkama ve kurutma işlemi 5 kez tekrarlandıktan sonra tüm kuyulara 50 µL substrat solüsyonu A ve 50 µL substrat solüsyonu B eklendi. Plate çalkalayıcı ile iyice karışması sağlandı ve üstü kapatılarak 37 °C'deki etüvde 10 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüm kuyulara 50 µL stop solüsyonu eklendi ve mikrolaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda köre karşı okundu. Tespit edilen absorbanlar standart grafik yardımıyla değerlendirildi ve numune NF-κB konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplandı.



Grafik 12. NF-κB Analizi Standart Grafiği

3.5. Histopatolojik Analizler

Hayvanların sistemik nekropsilerini takiben alınan ve %10'luk formaldehit solüsyonunda fikze edilen karaciğer, böbrek ve kalp dokuları, rutin doku takip işlemlerinin ardından hazırlanan parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında seri kesitler alındı ve kesitlere Hematoksilen & Eozin boyaması yapıldı. Kesitler ışık mikroskobu altında en az iki farklı patolog tarafından detaylı bir şekilde değerlendirildi ve gözlenen histopatolojik bulgular fotoğraflandı.

3.6. İstatistiksel Analizler

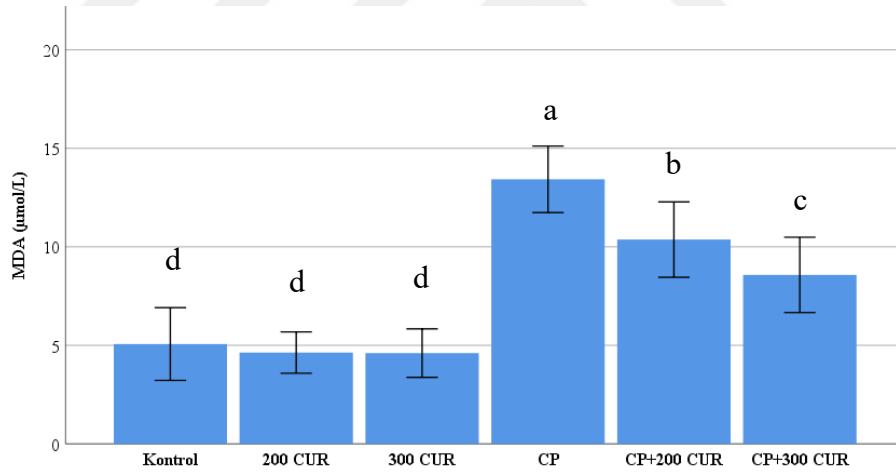
Toplanan verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için IBM SPSS Statistics Version 26 paket program kullanıldı. Veriler programa aktarıldıktan sonra Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri uygulanarak verilerin normalliği değerlendirildi. Verilerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Gruplar arası karşılaştırmalı değerlendirmelerin yapılması için veriler üzerinde tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve post hoc olarak Duncan testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak ifade edildi. Karşılaştırmalı değerlendirmelerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

Tam kanda ölçülen GSH konsantrasyonu, plazma ölçülen MDA ve NO konsantrasyonları, serumda ölçülen cTn-1, BUN ve Cr konsantrasyonları ve ALT, AST, ALP ve CK-MB enzim aktiviteleri Tablo 1’de verildi. Karaciğer, böbrek ve kalp doku homojenatlarında ölçülen 8-OHdG, TNF- α ve NF- κ B konsantrasyonları Tablo 2’de verildi.

Plazma ölçülen MDA konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda MDA konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak MDA konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

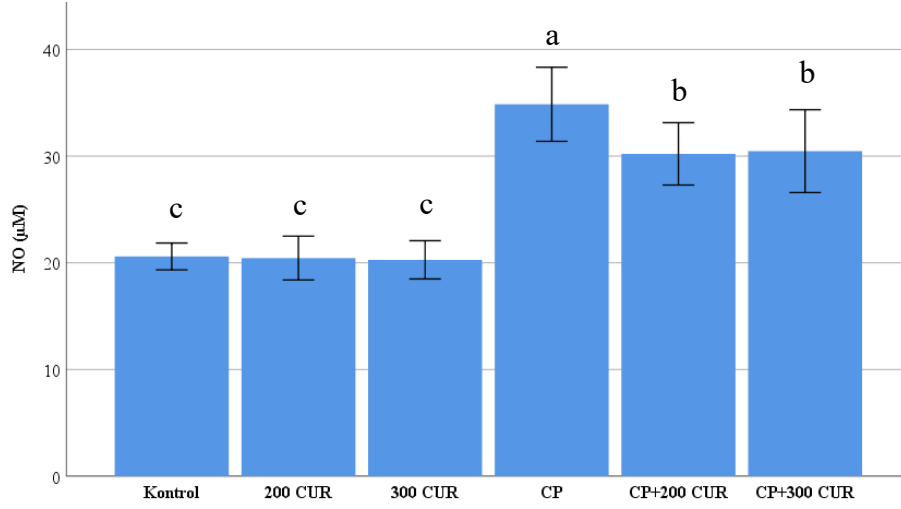


Grafik 13. MDA Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Plazmada ölçülen NO konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda NO konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda NO konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki

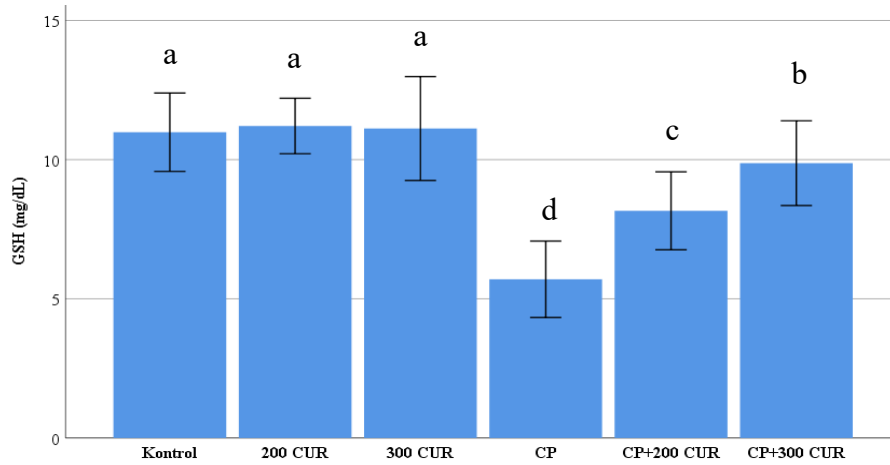
açından anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 14. NO Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

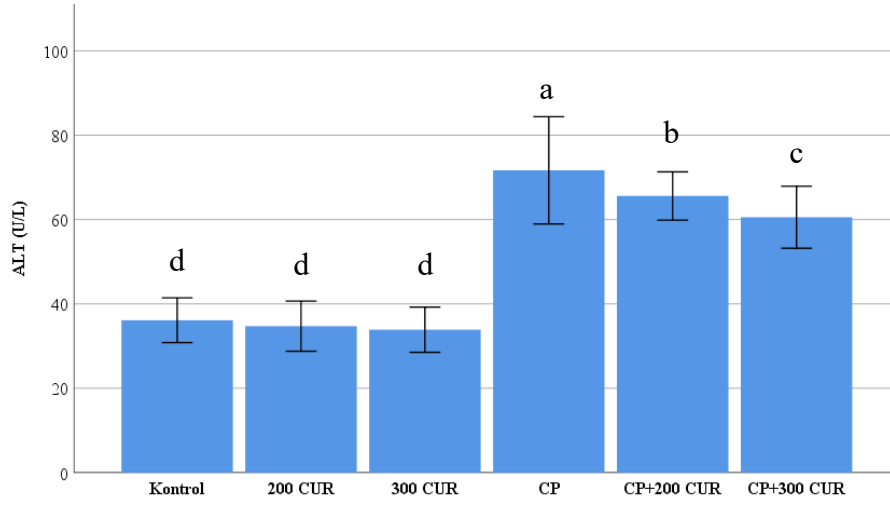
Tam kanda ölçülen GSH konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda GSH konsantrasyonlarında azalma olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak GSH konsantrasyonunda artış olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 15. GSH Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

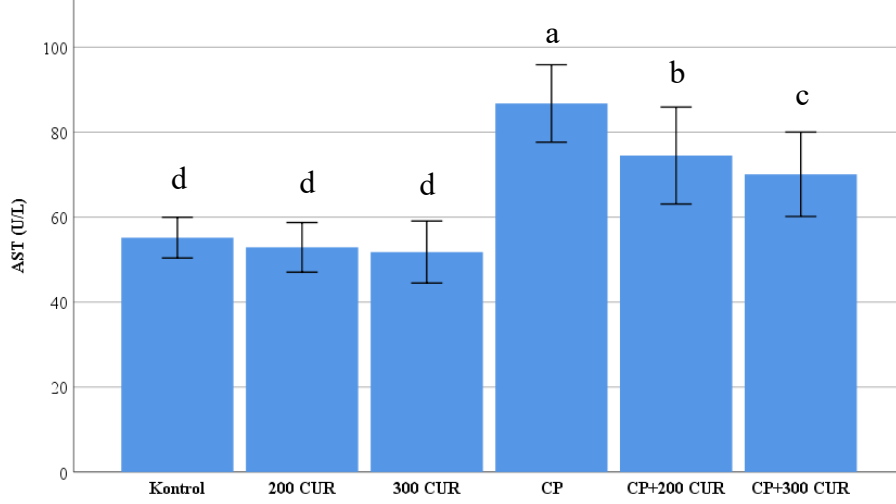
Serumda ölçülen ALT enzim aktiviteleri incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda ALT enzim aktivitelerinde artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak ALT enzim aktivitelerinde azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 16. ALT Enzim Aktiviteleri Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

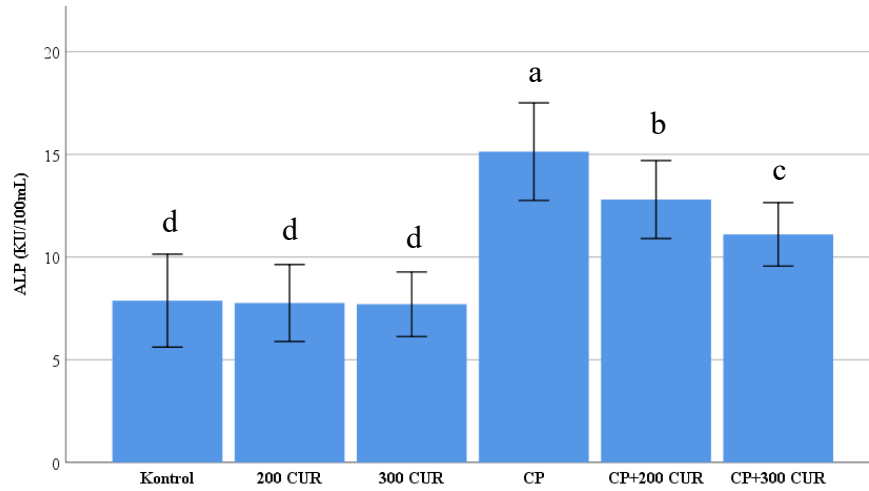
Serumda ölçülen AST enzim aktiviteleri incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda AST enzim aktivitelerinde artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak AST enzim aktivitelerinde azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 17. AST Enzim Aktiviteleri Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

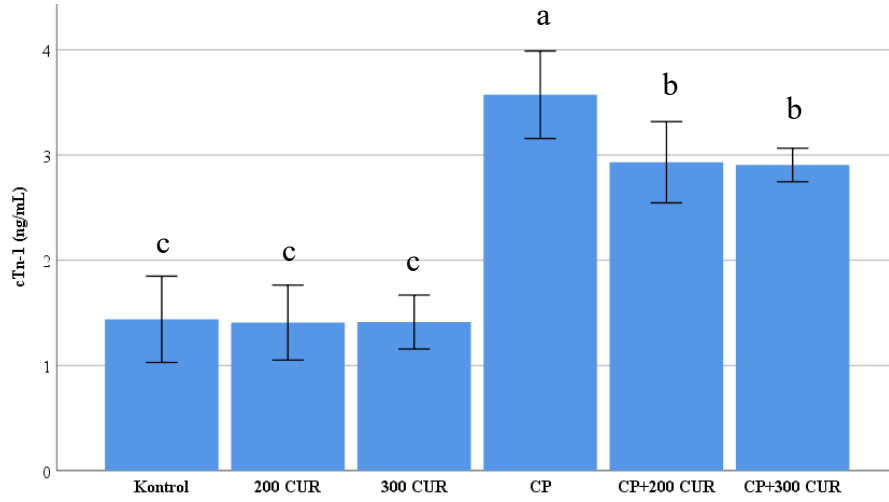
Serumda ölçülen ALP enzim aktiviteleri incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$). CP uygulanan gruplarda ALP enzim aktivitelerinde artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak ALP enzim aktivitelerinde azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



Grafik 18. ALP Enzim Aktiviteleri Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

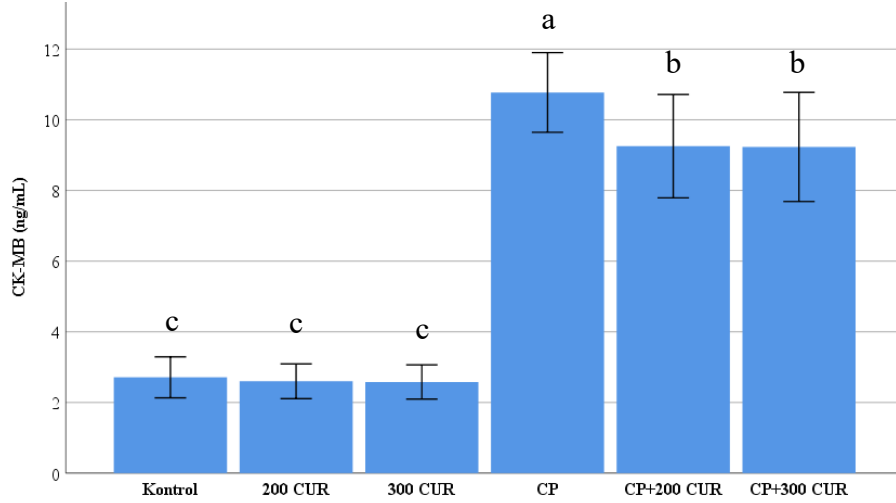
Serumda ölçülen cTn-I konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda cTn-I konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda cTn-I konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 19. cTn-I Konsantrasyonları Grafiği

^{a,b,c} : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

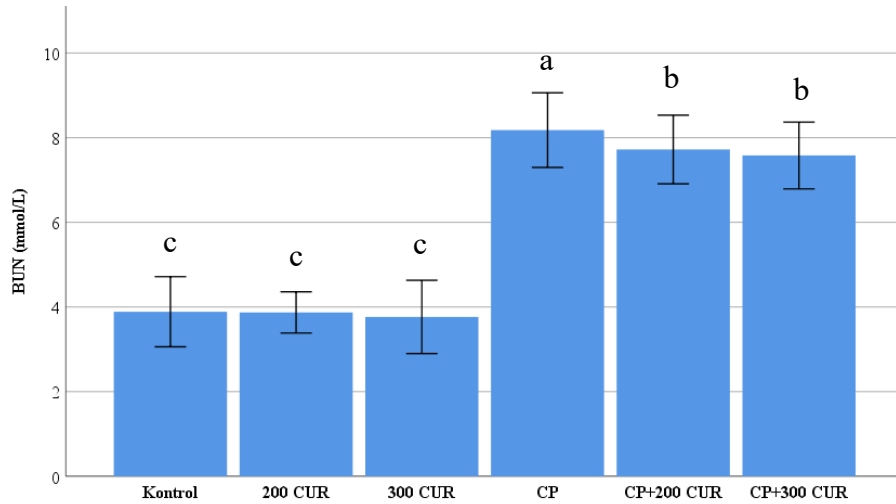
Serumda ölçülen CK-MB enzim aktiviteleri incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda CK-MB enzim aktivitelerinde artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda CK-MB enzim aktivitelerinde azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 20. CK-MB Enzim Aktiviteleri Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

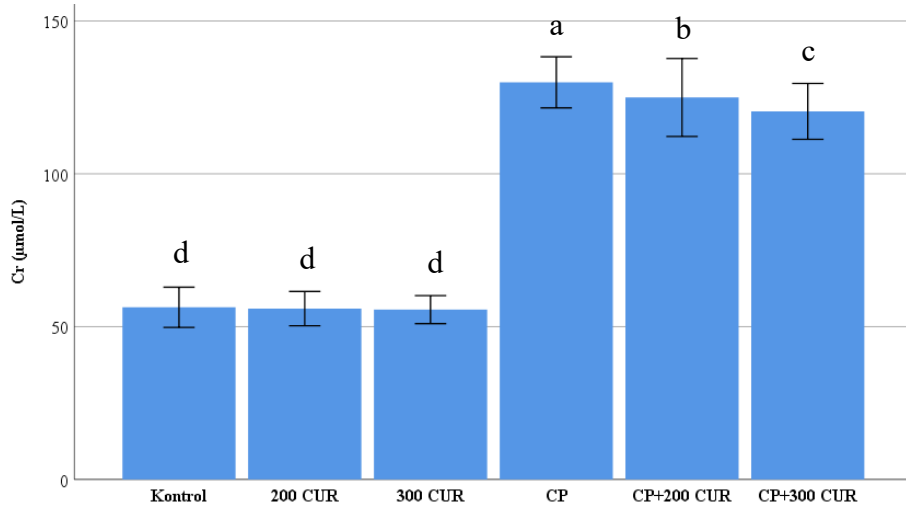
Serumda ölçülen BUN konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda BUN konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda BUN konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 21. BUN Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

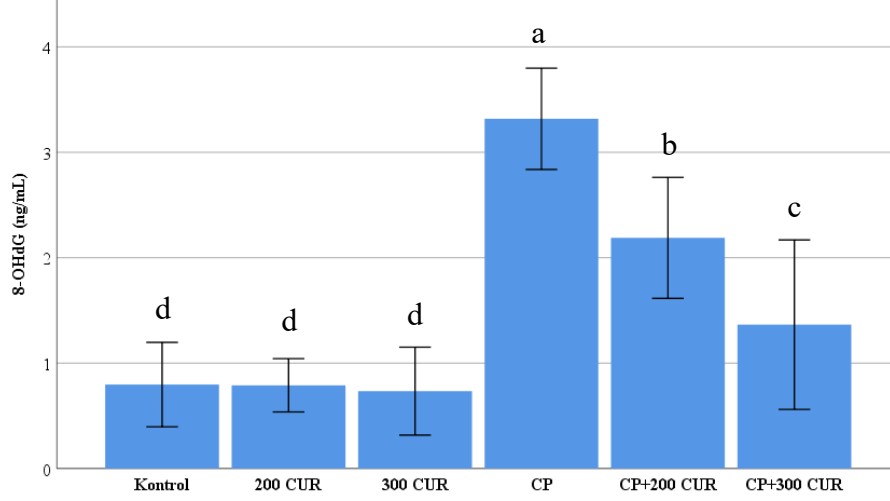
Serumda ölçülen Cr konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda Cr konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak Cr konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 22. Cr Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

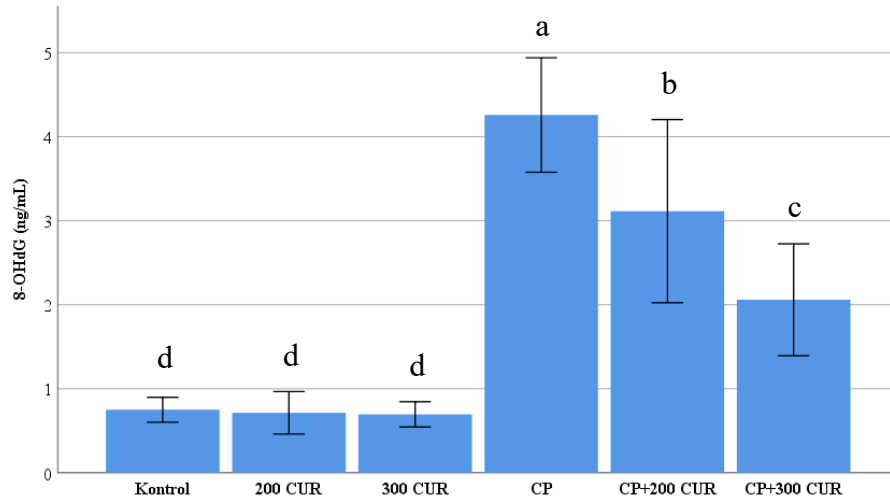
Karaciğer doku homojenatında ölçülen 8-OHdG konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda 8-OHdG konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak 8-OHdG konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 23. Karaciğer 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

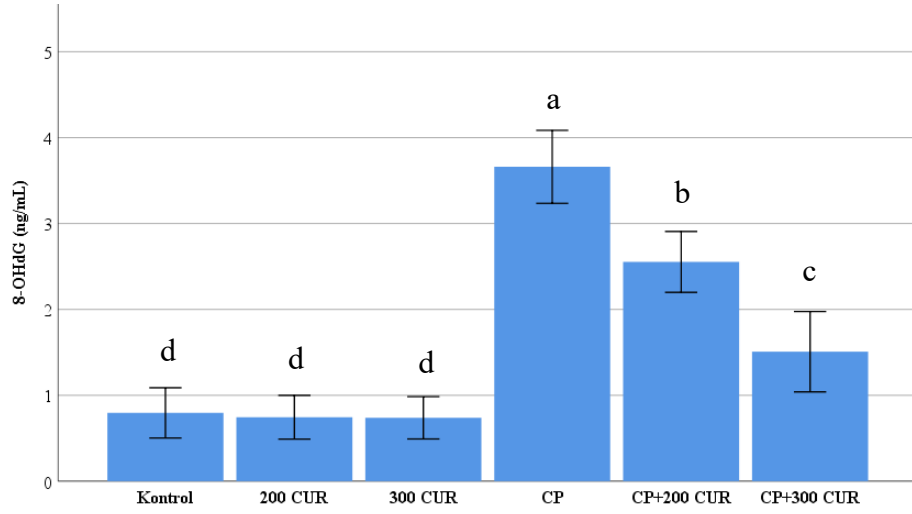
Böbrek doku homojenatında ölçülen 8-OHdG konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda 8-OHdG konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak 8-OHdG konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 24. Böbrek 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

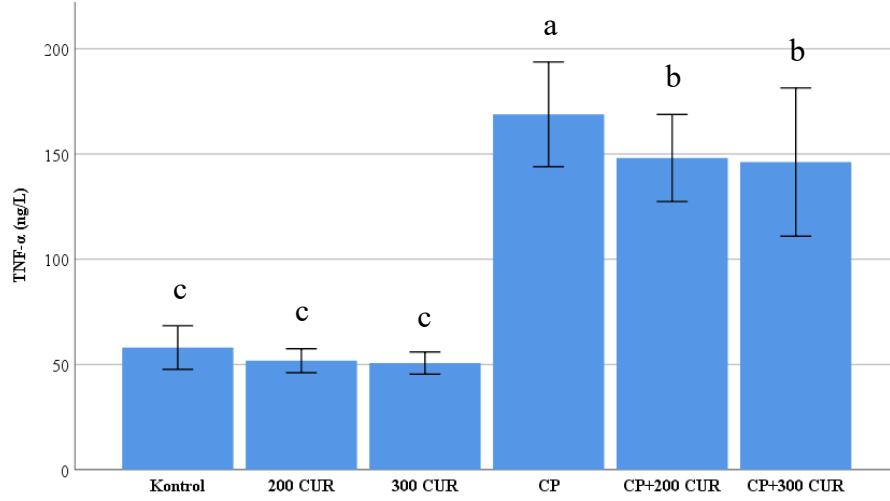
Kalp doku homojenatında ölçülen 8-OHdG konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda 8-OHdG konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak 8-OHdG konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$).



Grafik 25. Kalp 8-OHdG Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

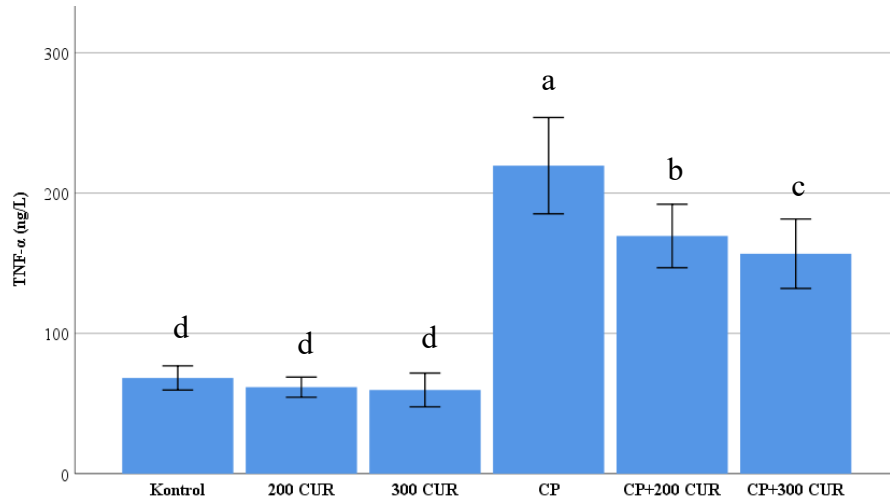
Karaciğer doku homojenatında ölçülen TNF- α konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda TNF- α konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda TNF- α konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 26. Karaciğer TNF- α Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

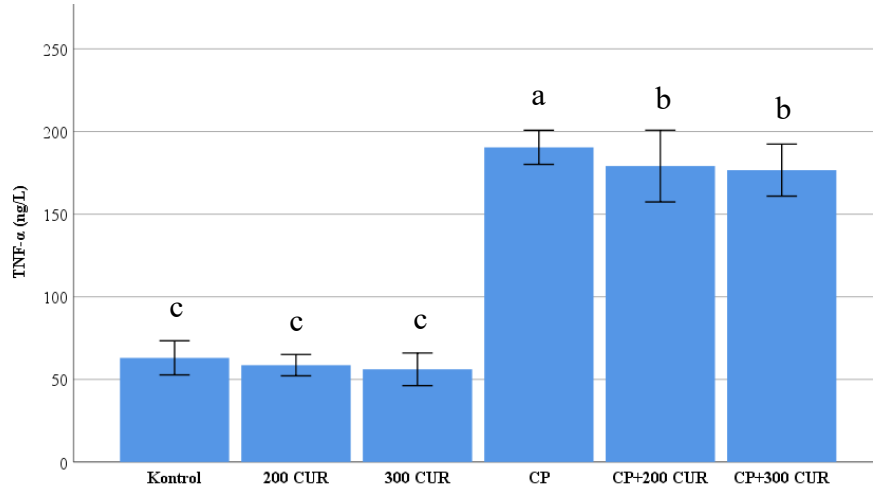
Böbrek doku homojenatında ölçülen TNF- α konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$). CP uygulanan gruplarda TNF- α konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak TNF- α konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$).



Grafik 27. Böbrek TNF- α Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c,d : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

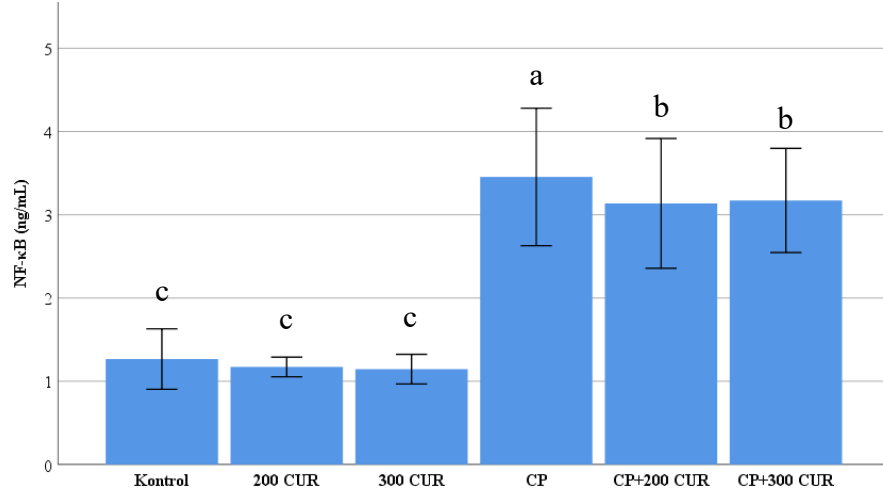
Kalp doku homojenatında ölçülen TNF- α konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda TNF- α konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda TNF- α konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 28. Kalp TNF- α Konsantrasyonları Grafiği

^{a,b,c} : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

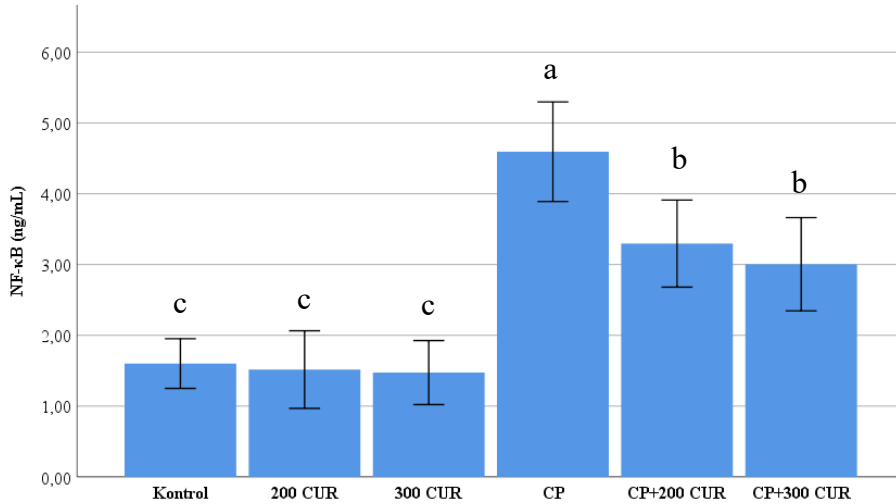
Karaciğer doku homojenatında ölçülen NF- κ B konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda NF- κ B konsantrasyonunda artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplarda uygulanan CUR dozuyla orantılı olarak NF- κ B konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. CP ile CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu ($p<0.05$), CP ile CP+200 CUR grupları arasındaki ve CP+200 CUR ile CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olmadığı tespit edildi. ($p>0.05$).



Grafik 29. Karaciğer NF-κB Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

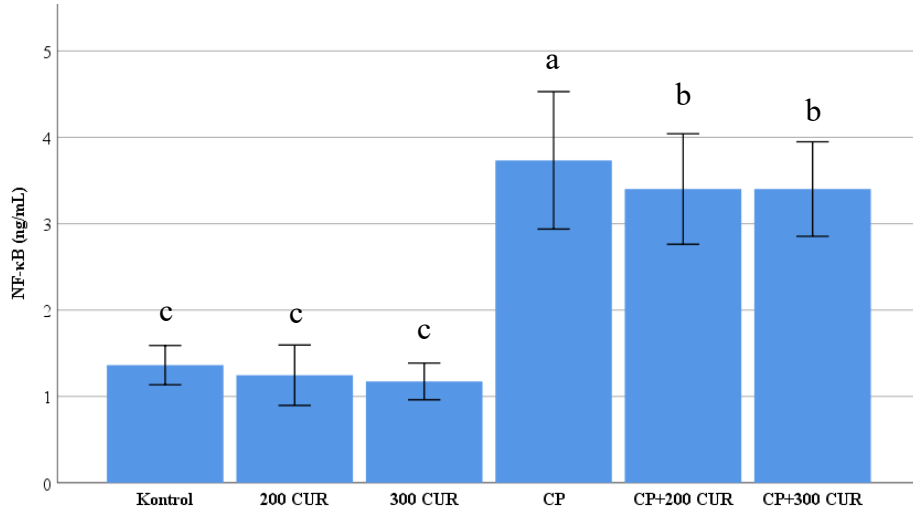
Böbrek doku homojenatında ölçülen NF-κB konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda NF-κB konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda NF-κB konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300CUR grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 30. Böbrek NF-κB Konsantrasyonları Grafiği

a,b,c : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Kalp doku homojenatında ölçülen NF- κ B konsantrasyonları incelendiğinde CP uygulanmayan gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). CP uygulanan gruplarda NF- κ B konsantrasyonlarında artış olduğu görüldü ve CP uygulanmayan gruplarla aralarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0.05$). CP uygulanan gruplar incelendiğinde CUR uygulanan gruplarda NF- κ B konsantrasyonlarında azalma olduğu ve CP grubuyla aralarındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). CP+200 CUR ve CP+300CUR grupları arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).



Grafik 31. Kalp NF- κ B Konsantrasyonları Grafiği

^{a,b,c} : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

Tablo 1. Tam kan GSH, plazma MDA ve NO, serum cTn-1, BUN ve Cr konsantrasyonları ve ALT, AST, ALP ve CK-MB aktiviteleri (x±SD).

Parametreler	Kontrol	200 CUR	300 CUR	CP	CP+200 CUR	CP+300 CUR
MDA (µmol/L)	5,07 ± 0,92 ^d	4,63 ± 0,52 ^d	4,61 ± 0,62 ^d	13,42 ± 0,84 ^a	10,37 ± 0,96 ^b	8,57 ± 0,96 ^c
GSH (mg/dL)	10,99 ± 0,7 ^a	11,21 ± 0,5 ^a	11,12 ± 0,93 ^a	5,7 ± 0,69 ^d	8,16 ± 0,7 ^c	9,88 ± 0,76 ^b
NO (µM)	20,6 ± 0,63 ^c	20,44 ± 1,03 ^c	20,28 ± 0,9 ^c	34,86 ± 1,74 ^a	30,21 ± 1,46 ^b	30,46 ± 1,94 ^b
ALT (U/L)	36,12 ± 2,66 ^d	34,72 ± 2,97 ^d	33,88 ± 2,68 ^d	71,67 ± 6,36 ^a	65,59 ± 2,86 ^b	60,54 ± 3,68 ^c
AST (U/L)	55,17 ± 2,4 ^d	52,88 ± 2,92 ^d	51,78 ± 3,65 ^d	86,76 ± 4,56 ^a	74,5 ± 5,71 ^b	70,09 ± 4,97 ^c
ALP (KU/100mL)	7,88 ± 1,13 ^d	7,76 ± 0,94 ^d	7,7 ± 0,79 ^d	15,13 ± 1,19 ^a	12,8 ± 0,95 ^b	11,1 ± 0,77 ^c
Üre (mmol/L)	3,89 ± 0,41 ^c	3,87 ± 0,24 ^c	3,76 ± 0,43 ^c	8,18 ± 0,44 ^a	7,72 ± 0,41 ^b	7,58 ± 0,39 ^b
Kreatinin (µmol/L)	56,33 ± 3,29 ^d	55,9 ± 2,81 ^d	55,58 ± 2,29 ^d	129,91 ± 4,18 ^a	124,97 ± 6,37 ^b	120,42 ± 4,57 ^c
Troponin (ng/ml)	1,44 ± 0,21 ^c	1,41 ± 0,18 ^c	1,41 ± 0,13 ^c	3,57 ± 0,21 ^a	2,93 ± 0,19 ^b	2,91 ± 0,08 ^b
CK-MB (ng/ml)	2,71 ± 0,29 ^c	2,6 ± 0,25 ^c	2,58 ± 0,24 ^c	10,77 ± 0,56 ^a	9,25 ± 0,73 ^b	9,23 ± 0,77 ^b

^{a,b,c,d} : Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (p<0.05).

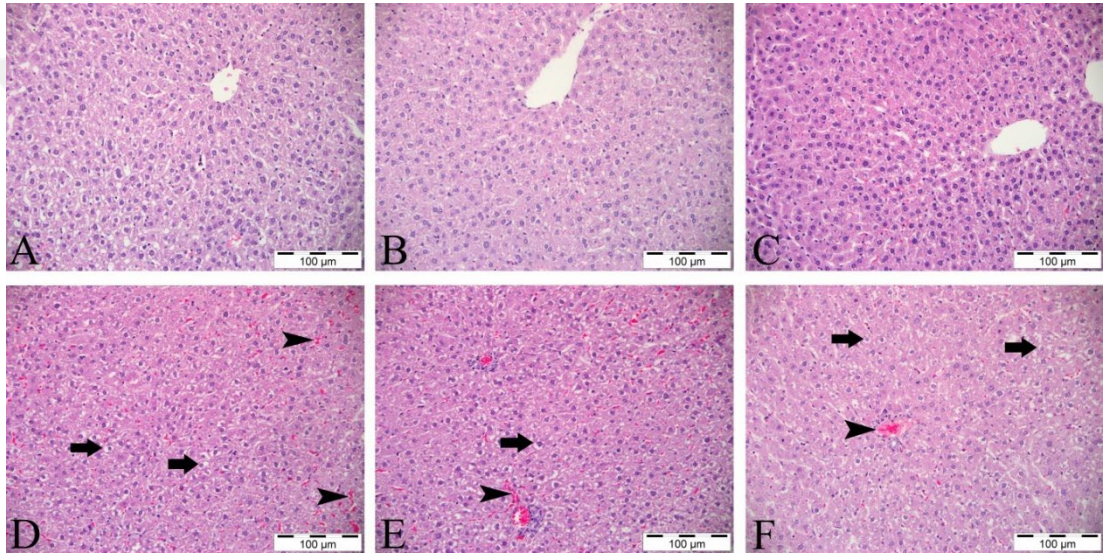
Tablo 2. Karaciğer, böbrek ve kalp dokuları 8-OHdG, TNF- α ve NF- κ B konsantrasyonları (\bar{x} \pm SD).

Parametreler		Kontrol	200 CUR	300 CUR	CP	CP+200 CUR	CP+300 CUR
Karaciğer	8-OHdG	0,8 \pm 0,2 ^d	0,79 \pm 0,13 ^d	0,73 \pm 0,21 ^d	3,32 \pm 0,24 ^a	2,19 \pm 0,29 ^b	1,37 \pm 0,4 ^c
	TNF- α	58,04 \pm 5,18 ^c	51,79 \pm 2,85 ^c	50,66 \pm 2,65 ^c	168,84 \pm 12,45 ^a	148,1 \pm 10,34 ^b	146,14 \pm 17,61 ^b
	NF- κ B	1,27 \pm 0,18 ^c	1,17 \pm 0,06 ^c	1,15 \pm 0,09 ^c	3,45 \pm 0,41 ^a	3,14 \pm 0,39 ^{a,b}	3,17 \pm 0,31 ^b
Böbrek	8-OHdG	0,75 \pm 0,07 ^d	0,71 \pm 0,13 ^d	0,7 \pm 0,08 ^d	4,26 \pm 0,34 ^a	3,11 \pm 0,55 ^b	2,06 \pm 0,33 ^c
	TNF- α	68,22 \pm 4,31 ^d	61,64 \pm 3,58 ^d	59,69 \pm 6,01 ^d	219,55 \pm 17,17 ^a	169,42 \pm 11,32 ^b	156,76 \pm 12,37 ^c
	NF- κ B	1,6 \pm 0,18 ^c	1,52 \pm 0,27 ^c	1,47 \pm 0,23 ^c	4,59 \pm 0,35 ^a	3,3 \pm 0,31 ^b	3 \pm 0,33 ^b
Kalp	8-OHdG	0,8 \pm 0,15 ^d	0,75 \pm 0,13 ^d	0,74 \pm 0,12 ^d	3,66 \pm 0,21 ^a	2,55 \pm 0,18 ^b	1,51 \pm 0,23 ^c
	TNF- α	63,04 \pm 5,17 ^c	58,63 \pm 3,23 ^c	56,09 \pm 4,93 ^c	190,43 \pm 5,16 ^a	179,1 \pm 10,85 ^b	176,66 \pm 7,86 ^b
	NF- κ B	1,36 \pm 0,11 ^c	1,25 \pm 0,17 ^c	1,17 \pm 0,11 ^c	3,73 \pm 0,4 ^a	3,4 \pm 0,32 ^b	3,4 \pm 0,27 ^b

^{a,b,c,d}: Aynı satırdaki farklı harfler, gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

4.2. Histopatolojik Bulgular

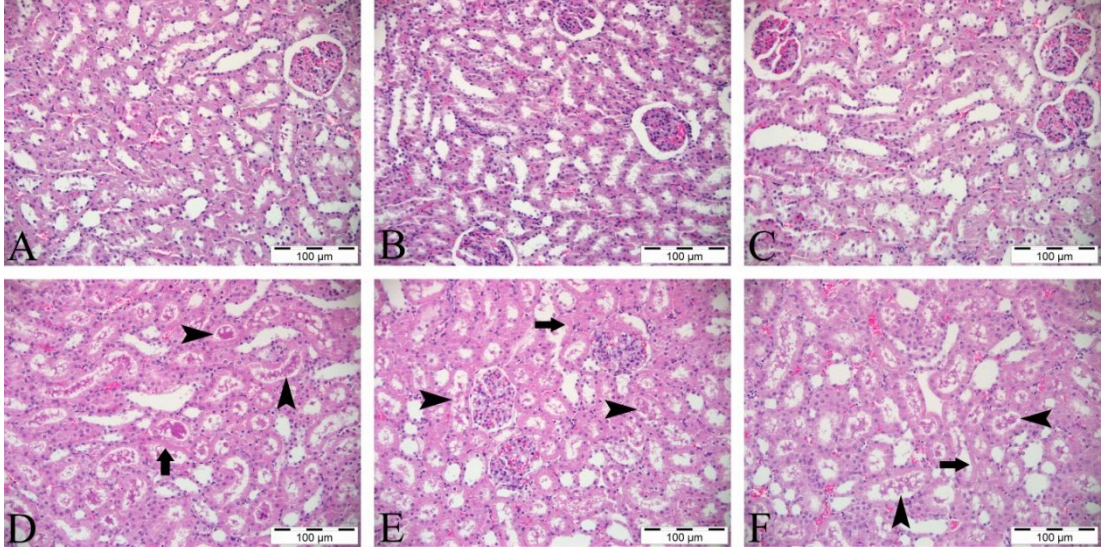
Histopatolojik incelemelerde; kontrol, 200CUR ve 300CUR gruplarına ait ratların karaciğer dokularında herhangi bir lezyona rastlanılmadı. Dokuların normal görünüm sergilediği tespit edildi (Şekil 4A, 4B, 4C). CP grubunda ise remark kordonlarında dissosiyasyon (Şekil 4D), hepatositlerde şiddetli dejenerasyon (oklar) ve nekroz, sinüzoidlerde hiperemi (ok başları) ve damar çevresinde çoğunlukla mononükleer hücrelerin oluşturduğu yangısal infiltrasyon gözlemlendi. CP grubu ile CUR tedavisi yapılan gruplar arasında lezyonların şekli ve şiddeti açısından paralellik mevcuttu (Şekil 4E, 4F).



Şekil 4. Karaciğer Dokusu Histopatolojisi

A:Kontrol grubu, B:200CUR grubu, C:300CUR grubu, D:CP grubu, remark kordonlarında dissosiyasyon, hepatositlerde dejenerasyon (oklar), sinüzoidlerde hiperemi (ok başları), E:CP+200CUR grubu hepatositlerde dejenerasyon (ok) ve sinüzoidlerde hiperemi (ok başı), F:CP+300CUR grubu, hepatositlerde dejenerasyon (ok) ve sinüzoidlerde hiperemi H&E, Bar= 100 µm.

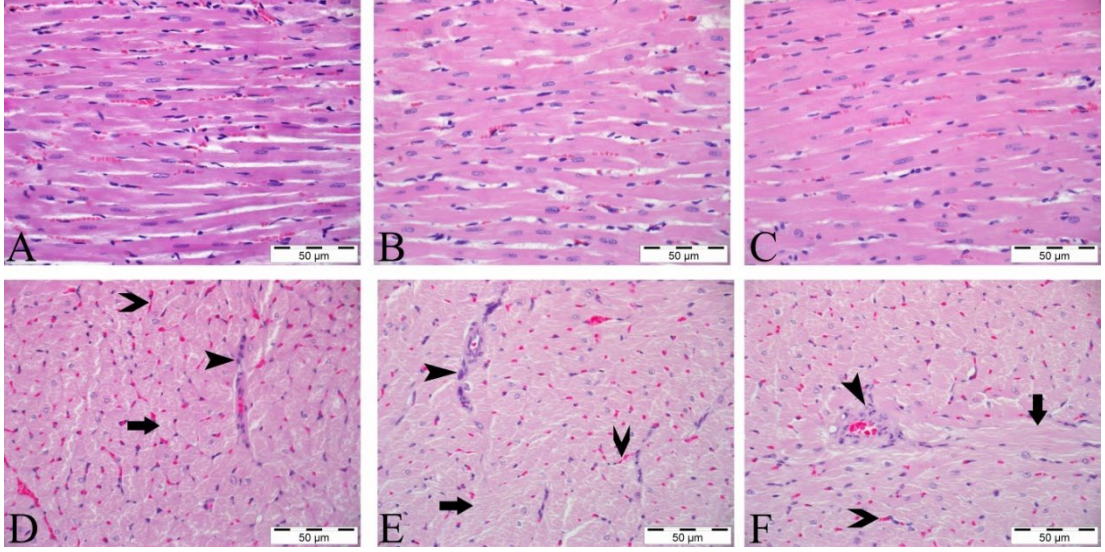
Kontrol, 200CUR ve 300CUR gruplarındaki ratların böbrek dokularında herhangi bir patolojik bulgu tespit edilmedi (Şekil 5A, 5B, 5C). CP grubundaki ratlarda tubulus epitelinde şiddetli düzeyde dejenerasyon ve nekroz gözlemlendi (Şekil 5D) (ok). Tubuluslarda çok sayıda hiyalin silindirlere varlığı dikkat çekiciydi (ok başı). Karaciğer bulgularına benzer şekilde CP grubu ile beraber CUR tedavisi uygulanan gruplar arasında tespit edilen patolojik bulgular açısından dikkate değer bir fark gözlemlenmedi (Şekil 5E, 5F).



Şekil 5. Böbrek Dokusu Histopatolojisi

A:Kontrol grubu, B:200CUR grubu, C:300CUR grubu, D:CP grubu, Böbrek tubul epitellerinde dejenerasyon ve nekroz (ok), tubulus lümenlerinde hiyalin silindirleri (ok başları), E:CP+200CUR grubu tubul epitellerinde dejenerasyon ve nekroz (ok), tubulus lümenlerinde hiyalin silindirleri (ok başları) F:CP+300CUR grubu, tubul epitellerinde dejenerasyon ve nekroz (ok), tubulus lümenlerinde hiyalin silindirleri (ok başları) H&E, Bar= 100 µm.

Kontrol, 200CUR ve 300CUR gruplarındaki ratların kalp dokularında dikkate değer herhangi bir lezyona rastlanılmadı (Şekil 6A, 6B, 6C). CP grubundaki ratlarda kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz gözlemlendi (Şekil 6D) (ok). Bu bulgulara ek olarak hiperemi (V) ve bazı damarlar çevresinde ise çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu yangısal infiltrasyon mevcuttu (ok başı). Karaciğer ve böbrekte saptanan histopatolojik bulgulara uyumlu şekilde CP grubu ile beraber CUR tedavisi uygulanan tedavi grupları arasında ise herhangi bir fark yoktu. Bu gruplarda da CP grubundaki benzer şiddette ve dağılımda lezyonlar mevcuttu (Şekil 6E, 6F).



Şekil 6. Kalp Dokusu Histopatolojisi

A:Kontrol grubu, B:200CUR grubu, C:300CUR grubu, D:CP grubu, Kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz (ok) damar çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başları) ve hiperemi (V), E:CP+200CUR grubu, Kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz (ok), damar çevresinde hücre infiltrasyonu (ok başları) ve hiperemi (V), F:CP+300CUR grubu, grubu Kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz (ok), damar çevresinde hücre infiltrasyonu (ok başları) ve hiperemi (V), H&E, Bar= 50 µm.

5. TARTIŞMA

CP alkile edici ajanlar arasında bulunan, farklı kanser türlerinde kemoterapi tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Hepatotoksisite, nefrotoksisite ve kardiyotoksisite dahil olmak üzere ciddi yan etkiler nedeniyle kullanım dozu kısıtlanmaktadır (Ahmed ve ark. 2023, Alam ve ark. 2023, Uyumlu ve ark. 2023). Karaciğerde CPY enzimleri tarafından metabolik olarak aktive edilen CP, son olarak aktif metabolitleri olan akrolein ve fosforamid mustardı oluşturur (Ayhanci ve ark. 2009, Jeelani ve ark. 2017). CP'nin toksik metaboliti ve ciddi yan etkilerinin ana sebebi olan akrolein, ROS artışına neden olarak dokularda oksidatif strese neden olur, lipid peroksidasyonunu ve hücre hasarını yoğunlaştırır, DNA'yı alkilleyerek DNA çarpaz bağlarının oluşmasına yol açar ve son olarak apoptoza neden olur (Caglayan ve ark. 2018, Fei ve ark. 2022). CP nedeniyle oluşan doku hasarlarının ana etki mekanizmaları, oksidatif stres ve inflamatuvar kaskadının aktive edilmesidir (Mostafa ve ark. 2022, Attia ve ark. 2023). Bu nedenle akroleinin neden olduğu bu yan etkilere karşı antioksidanların kullanımı, dokuların korunmasında veya oluşan hasarların iyileştirilmesinde rol oynayabilir.

Zerdeçaldan elde edilen biyoaktif bir fenol olan kurkumin, antioksidan, antiinflamatuvar ve antibakteriyel özellikleriyle öne çıkan bir moleküldür (Maheshwari ve ark. 2006, Anand ve ark. 2008, Hamilton ve Gilbert 2023). CUR serbest radikalleri baskımlarken CAT, SOD ve GPx gibi antioksidan enzimleri indükler ve hücrel oksidatif stresin baskılanmasını sağlayan Nrf2 gibi antioksidatif protein belirteçlerin yükselmesini sağlar (Gupta ve ark. 2020).

Bu çalışma CP uygulaması sonucunda oluşan oksidatif stres ve DNA hasarı ile CP'nin doz kısıtlayıcı toksik etkilerinden olan kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisitenin iyileştirilmesinde CUR'un olası rolünü değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Erkek wistar albino ratlarda *in vivo* olarak oksidatif stres, DNA ve doku hasarları oluşturulmuştur. Bunun için çalışmanın ilk günü ratlara 200mg/kg dozda CP intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir. Ardından doku hasarının iyileştirilmesi için 7 gün süreyle oral yolla CUR uygulaması yapılmıştır. Antioksidan/antiinflamatuvar özellikleri ile bilinen CUR'un etkisinin ortaya konulması adına çalışma sonunda alınan örneklerden tam kanda GSH düzeyi, serumda MDA, NO, cTn-I, BUN ve Cr düzeyleri ile ALT, AST, ALP ve CK-MB enzim aktiviteleri, karaciğer, böbrek ve kalp dokularında ise 8-OHdG, TNF- α ve NF- κ B düzeyleri analiz edilmiş ve değerlendirilmiştir. Ayrıca karaciğer, böbrek ve kalp dokularında yapılan histopatolojik incelemelerle çalışma desteklenmiştir.

CP uygulaması nedeniyle artan ROS, lipidler ve proteinler de dahil olmak üzere hücrelerdeki farklı bileşenlere zarar verir, antioksidan enzim aktivitelerinin azalmasına neden olur, lipid peroksidasyonunu tetikler ve bu durum hücre zarının bütünlüğünü etkileyerek hücre ölümüne neden olur. Ayrıca ROS hücrel proteinleri oksitleyerek DNA zincirinin kırılması yoluyla hücrelerde belirgin bir hasara neden olabilir (Amirkhizi ve ark. 2010, Smathers ve ark. 2011, Preiser 2012, Saghir ve ark. 2020). Bu bağlamda CP uygulaması nedeniyle oluşan oksidatif stres ve apoptozun, kalp, karaciğer ve böbrek dahil olmak üzere farklı dokularda neden olduğu doku hasarı bir çok çalışmada bildirilmiştir (Alqahtani ve Mahmoud 2016, Mahipal ve Pawar 2017, Mahmoud ve ark. 2017, ALHaithloul ve ark. 2019, Ayza, Zewdie, ve ark. 2020).

ROS'un hücre membranlarıyla etkileşimi sonucunda membran lipidlerini kolayca peroksidasyona uğratar ve lipid peroksidasyonunun nihai ürünü olarak MDA

oluşur (Taghiabadi ve ark. 2012, Avcı ve ark. 2017). Daha önce ratlarda 200 mg/kg dozda CP uygulaması yapılarak gerçekleştirilen çalışmalarda CP'nin ROS oluşumunu, biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonunu ve MDA seviyesini arttığı gösterilmiştir (Gunes ve ark. 2017, Afkhami-Ardakani ve ark. 2018, Cengiz ve ark. 2020). Çeşitli ajanlarla deneysel olarak oksidatif stresin indüklendiği çalışmalarda, CUR uygulamasının MDA düzeyini düşürerek lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi iyileştirdiği gösterilmiştir (Salgintas ve ark. 2021, Tubsakul ve ark. 2021, Hatipoglu ve Keskin 2022). Yapmış olduğumuz çalışmada MDA düzeyi açısından kontrol grubuyla CP uygulanmayan sadece CUR uygulanan 200 CUR ve 300 CUR grupları arasında herhangi bir fark tespit edilmedi. Yapılan diğer çalışmalarda (Gunes ve ark. 2017, Afkhami-Ardakani ve ark. 2018, Cengiz ve ark. 2020) tespit edilen bulgulara benzer olarak CP uygulanan grupta lipid peroksidasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış göstermesiyle MDA düzeyinin arttığı ($p<0.05$) tespit edildi. CP ile tedavinin tetiklediği ROS artışıyla bağlantılı olarak MDA düzeyinde artış gözlemlenmiş olabilir. CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ise uygulanan CUR etkisiyle MDA düzeyinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Bu azalma CUR'un artan lipid peroksidasyonunu ve dolayısıyla oksidatif stresi iyileştirdiğini düşündürmektedir.

Antioksidan olarak hücre için hayati bir rol oynayan GSH güçlü bir serbest radikal ve ROS tutucudur. GSH düzeyi genellikle hücrelerin antioksidatif kapasitesinin bir belirteci olarak kullanılan hücresel redoks durumunu belirler. GSH düzeyinin azalmasıyla ilişkili en iyi bilinen durumlar arasında karaciğer, böbrek ve kardiyovasküler hastalıklar ile birlikte yaşlanma süreci bulunmaktadır (Fang ve ark. 2002, Atessahin ve ark. 2005, Jones 2006, Schmitt ve ark. 2015). Yapılan çalışmalarda CP'nin toksik metaboliti akroleinin ROS üretimi yoluyla GSH gibi antioksidan savunma mekanizmalarına etki ettiğini ve GSH'ın belirgin olarak tükenmesine neden olduğu gösterilmektedir (Olayinka ve ark. 2015, AR ve ark. 2016). Elhanas ve ark. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında CP uygulaması yapılan ratlarda GSH seviyesinde azalma gözlemlenirken, CP ile birlikte CUR tedavisi yapılan rat grubunda GSH seviyesinde önemli bir artış gözlemlenmiştir. Bu çalışmada tespit edilen bulgulara benzer olarak, yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan ratlarda GSH konsantrasyonlarında azalma olduğu görüldü ve CP

uygulanmayan gruplarla arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu azalma CP tarafından üretilen ROS'un GSH'yı tükettiğini düşündürmektedir. Bu da hücre membranlarını ROS saldırısına maruz bırakabilir ve yine çalışmada ifade edilen MDA seviyelerinin artışı ile gösterilen lipid peroksidasyonuna yol açabilir. CP uygulanan ratlara yapılan CUR tedavisinin dozuyla orantılı olarak GSH konsantrasyonunda artış olduğu görüldü. CP, CP+200 CUR ve CP+300 CUR grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu sonuçlar CUR'un güçlü radikal süpürücü özelliğiyle GSH'nin tükenmesini önlediğini, dolayısıyla GSH düzeyini arttırdığını düşündürmektedir.

Bir serbest radikal ve zayıf oksidan olan NO, sulu çözeltilerde $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girerek ONOO⁻ oluşturur (Radi 2018). Peroksinitrit ise süperoksit ve NO'nin belirli biyolojik etkilerine aracılık eden güçlü bir oksidan ve nitratlayıcı türdür. NO ve/veya ONOO⁻ gibi RNS'ler, antioksidan savunma sisteminin tükenmesinin ardından lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücrel biyomoleküllerle etkileşime girer ve nitrozatif stresin indüksiyonu yoluyla doku hasarlarını ortaya çıkarır (Speckmann ve ark. 2016, Buchwalow ve ark. 2018). Ratlarda CP uygulaması ile gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda NO ve dolayısıyla peroksinitrit üretiminin artmasıyla antioksidan savunma sisteminin tükenmesine neden olduğu gösterilmiştir (Fouad ve ark. 2016, Aladaileh ve ark. 2019, Akamo ve ark. 2021). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak, yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan ratlarda NO düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği ($p<0.05$) tespit edildi. Ratlarda sisplatin gibi kemoterapik bir ajan kullanılması ya da demir yüklemesi yapılması gibi deneysel olarak NO düzeyinin yükseltildiği çalışmalarda, CUR uygulamasının NO düzeyini düşürdüğü, dolayısıyla antioksidan sistemlerin tükenmesine neden olan peroksinitrit oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (Badria ve ark. 2015, El-Gizawy ve ark. 2020). Bizim çalışmamızda da CP uygulaması ile NO düzeyleri yükselen ratlara CUR tedavisi yapılmasıyla CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında NO düzeyinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü.

AST, ALT ve ALP enzim aktivitelerinin ölçümü karaciğer hasarını belirlemek için kullanılan analizler arasında yer alır ve muhtemelen hem klinik tanıda hem de karaciğer hasarıyla ilgili araştırmalarda en yaygın kullanılan biyobelirteçlerdir (Senior 2012, McGill 2016). ALT, AST ve ALP genellikle sitoplazma içinde bulunur ve

hücrel hasardan sonra sitoplazmadan dolaşıma salındığından, ratlarda CP tedavisinden sonra ALT, AST ve ALP seviyelerinde tespit edilen önemli bir artış hepatosit hasarının meydana geldiğini ifade eder (Singh ve ark. 2011, Ahmed ve ark. 2021). Ahmed ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada; CP uygulaması yapılan ratlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinde artış gözlemlenirken, CP ile birlikte CUR tedavisi uygulanan rat grubunda bu enzim aktivitelerinde önemli bir azalma olduğu tespit edilmiş ve CUR'un CP uygulaması nedeniyle oluşan hepatoksisite üzerinde etkili olduğu ortaya koyulmuştur. Yapılan çalışmalarda sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubu ratlara göre ALT, AST ve ALP düzeyleri önemli bir derecede yüksek bulunmuştur (Avcı ve ark. 2016, Bülbül ve ark. 2018, Cengiz ve ark. 2019). CUR'un hepatoprotektif yeteneğinin ortaya konulması amacıyla yapılmış bazı çalışmalarda deneysel olarak ratlarda hepatoksisite meydana getirilmiş ve CUR tedavisi uygulanan ratlarda ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinin önemli bir düzeyde azaldığı gösterilmiştir (Kadasa ve ark. 2015, Khorsandi ve ark. 2016, AlBasher ve ark. 2020). Bahsedilen bu çalışmalardan elde edilen verilere benzer olarak, yapmış olduğumuz çalışmada sadece CP uygulanan ratlarda ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği ($p < 0.05$) tespit edildi. Bu durum CP'nin hepatotoksik özelliğinden ileri gelmektedir. CP ile birlikte CUR tedavisi uygulanan ratların bulunduğu CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. CP tarafından indüklenen hepatotoksisitede ALT, AST ve ALP enzim aktivitelerindeki yükselmenin tersine çevrilmesi, CUR'un karaciğerde hepatositlerin ölümünü azaltabileceğini göstermektedir.

cTn-I, kardiyotoksisite denildiğinde akla gelen ilk biyobelirteçtir. Miyokard enfarktüsü başta olmak üzere birçok kalp hastalığının teşhisinde kullanılmaktadır. Troponin, iskelet kası ve kardiyak miyositlerde bulunan kasılma aparatının bir bileşenidir (Garg ve ark. 2017, Ceyhun 2022). Al-Bayati ve Jaffat (2023) tarafından ratlarda deneysel olarak CP kaynaklı kardiyotoksisite oluşturularak CUR'un kardiyotoksisite üzerinde etkilerinin incelendiği çalışmada, kalp hasarını tanımlamak için filamentleri üzerinde bulunan cTn-I'in serum düzeyleri ölçülmüş, CP uygulanan ratlarda hiç bir uygulama yapılmayan ratlara göre düzeyin önemli bir şekilde

yükseldiği, CUR kullanılarak CP etkilerine karşı korunan ratlarda ise cTn-I düzeyinde anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. CP uygulamasının neden olduğu kardiyotoksisite üzerine yapılan diğer çalışmalarda, sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubu ratlara göre cTn-I düzeyleri önemli derecede yüksek bulunmuştur (Omole ve ark. 2018, Ayza, Balasubramanian, ve ark. 2020, Alhowail ve Aldubayan 2023). Kemoterapik ajan olan doksorubisin kullanımıyla deneysel olarak kardiyotoksisite oluşturulan ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, CUR'un artan cTn-I düzeyini iyileştirdiği gösterilmiştir (Benzer, Kandemir, Ozkaraca, ve ark. 2018, Jafarinezhad ve ark. 2019, Ibrahim Fouad ve Ahmed 2022). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan grupta cTn-I düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artış göstermiştir ($p < 0.05$). CP biyoaktivasyonu sırasında antioksidatif kapasitenin azalmasına neden olan reaktif oksijen türleri miyositlerin membran bütünlüğünde bozulmalara neden olur. Hasarlı miyositlerden salınan cTn-I serumda ölçülerek artan değerlerin tespiti CP'nin kardiyotoksik etkisini ortaya koymaktadır. CP uygulaması ile birlikte aynı zamanda CUR tedavisi uygulanan CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ise CUR etkisiyle cTn-I düzeyinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi. Bu durum ise CUR'un antioksidatif kapasiteyi destekleyerek kardiyoprotektif özelliğini ortaya koyduğunu düşündürmektedir.

CK, hücre sitoplazmasında bulunan yüksek enerjili fosfatlar için taşıyıcı bir proteindir. İzoenzimi olan CK-MB ise en çok kalp dokusunda bulunur ve kardiyotoksisitenin belirlenmesinde kardiyak troponin yerine alternatif olarak kabul edilen bir biyobelirteçtir (Jaffe ve ark. 2006, Daubert ve ark. 2010). Ratlarda CP uygulamasının neden olduğu kardiyotoksisite üzerine yapılan çalışmalar, sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubunda bulunan ratlara göre CK-MB enzim aktivitesindeki artışla kendini gösteren önemli bir kardiyotoksisiteye neden olduğunu göstermiştir (Cetik ve ark. 2015, Gunes ve ark. 2017, Ye ve ark. 2022). Benzer ve ark. (2018) tarafından kemoterapik bir ajan olarak doksorubisinin kullanıldığı bir çalışmada, deneysel olarak kardiyotoksisite oluşturulan ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkileri araştırılmış, sonuç olarak CUR'un artan CK-MB enzim aktivitesini iyileştirdiği gösterilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ROS üretiminde artışa neden olan ve sentetik bir adrenerjik agonisti olan izoproternol kullanılarak miyokardiyal

hasarın indüklendiği ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarda kardiyak hasarın biyobelirteci olan CK-MB enzim aktivitesinin önemli bir artış olduğu gösterilmiş ve CUR tedavisinin ratlarda enzim aktivitesini düşürdüğü tespit edilerek, CUR'un miyokardiyal hasara karşı kouyucu etkisi ortaya koyulmuştur. Bu koruyucu etki, serbest radikal oluşumunu inhibe eden CUR'un antioksidan özelliklerine bağlanmıştır (Hussein ve ark. 2018, Boarescu ve ark. 2019, Rahnavard ve ark. 2019). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan grupta CK-MB enzim aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.05$). CP uygulaması ile birlikte aynı zamanda CUR tedavisi uygulanan CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ise CUR etkisiyle CK-MB enzim aktiviteleri CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi. Bu durum CUR'un antioksidatif kapasiteyi destekleyerek serbest radikallerin oluşumunu inhibe etmesi sonucunda kardiyoprotektif etkisini gösterdiğini düşündürmektedir.

BUN ve Cr, böbreklerin glomerülleri tarafından serbestçe süzülen metabolizma atık ürünleri olup nefrotoksisite ve böbrek fonksiyon bozukluğunun tespitinde kullanılan geleneksel biyobelirteçleridir (Johnson 2011, Campos ve ark. 2018). Ratlarda CP uygulamasının neden olduğu nefrotoksisite üzerine yapılan çalışmalar, sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubunda bulunan ratlara göre BUN ve Cr düzeylerindeki anlamlı artış olduğunu göstermiştir (Olayinka ve ark. 2015, Hamzeh ve ark. 2018, Temel ve ark. 2020). Serum BUN ve Cr seviyelerinde belirgin artış, nefrotoksisite nedeniyle anormal böbrek fonksiyonunun bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda ROS üretiminde artışa neden olan gentamisin ve colistin gibi antibiyotikler kullanılarak nefrotoksisitenin indüklendiği ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarda böbrek hasarının biyobelirteçleri olan BUN ve Cr düzeylerinde önemli bir artış olduğu gösterilmiş ve CUR tedavisinin ratlarda BUN ve Cr düzeyini düşürdüğü tespit edilerek, CUR'un nefrotoksisiteye karşı kouyucu etkisi ortaya koyulmuştur (Edrees ve ark. 2018, Laorodphun ve ark. 2022, Tomşa ve ark. 2022). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan grupta BUN ve Cr düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.05$). CP uygulaması ile birlikte aynı zamanda CUR tedavisi uygulanan CP+200 CUR ve

CP+300 CUR gruplarında ise CUR etkisiyle BUN ve Cr düzeylerinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi.

CP ile kemoterapi gören hastalarda aşırı maruz kalmalar yüksek düzeyde DNA hasarına neden olur (Swift ve Golsteyn 2014). CP tedavisinde artan ROS'un genomik materyal ile etkileşimi, DNA bazlarının oksitlenmesine ve DNA iplikçik kırılmalarının oluşmasına yol açar. Spesifik olarak 8-OHdG, bol miktarda üretilen oksidatif DNA hasarının bir biyobelirtecidir (Farmer 2004). Ratlarda CP uygulamasının neden olduğu nefrotoksisite, hepatoksisite, kardiyotoksisite ve diğer dokuların hasarları üzerine yapılan çalışmalar, sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubunda bulunan ratlara göre 8-OHdG düzeylerinde anlamlı artış olduğunu göstermiştir (Caglayan ve ark. 2018, Kolikpınar ve ark. 2021, Yadav ve ark. 2023). Yapılan bazı çalışmalarda ROS üretiminde artışa neden olan deksorubisin ve formaldehit gibi kimyasal maddeler kullanılarak oksidatif DNA hasarının indüklendiği ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarda oksidatif DNA hasarının biyobelirteci olan 8-OHdG düzeyinde önemli bir artış olduğu gösterilmiş ve CUR tedavisinin ratlarda 8-OHdG düzeyini düşürdüğü tespit edilerek, CUR'un oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkisi ortaya koyulmuştur (Ciftci ve ark. 2015, Benzer ve ark. 2018, Aksu ve ark. 2019). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan grupta karaciğer, böbrek ve kalp dokularında ölçülen 8-OHdG düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.05$). Bu durum artan ROS miktarının oksidatif DNA hasarına neden olduğunu düşündürmektedir. CP uygulaması ile birlikte aynı zamanda CUR tedavisi uygulanan CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ise CUR etkisiyle 8-OHdG düzeylerinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi.

Kronik inflamasyon ve oksidatif stres bağlantılı olduğundan, artan ROS inflamatuvar molekülleri aktive edebilir (Reuter ve ark. 2010). Bir transkripsiyon faktörü olan NF- κ B, akut inflamatuvar reaksiyonların üretiminde önem taşıyan TNF- α gibi bir çok sitokinin transkripsiyonunu aktive eder (Cowburn ve ark. 2004). Ratlarda CP uygulamasının neden olduğu doku hasarları ve inflamasyon üzerine yapılan çalışmalar, sadece CP uygulanan ratlarda kontrol grubunda bulunan ratlara göre NF- κ B ve TNF- α düzeylerinde anlamlı artış olduğunu göstermiştir (El-Sheikh ve ark. 2017, Al-joda ve Zalzala 2019, Hasan ve ark. 2020). Yapılan bazı çalışmalarda ROS

üretiminde artışa neden olan bir doksorubisin kullanılarak artan ROS etkisiyle NF-κB aktivasyonunun ve TNF-α transkripsiyonunun indüklendiği ratlarda CUR uygulamasının iyileştirici etkileri araştırılmıştır. Çalışmalarda NF-κB ve TNF-α düzeylerinde düzeyinde önemli bir artış olduğu gösterilmiş ve CUR tedavisinin ratlarda NF-κB ve TNF-α düzeylerini düşürdüğü tespit edilerek, CUR'un anti-inflamatuar potansiyeli gösterilmiştir (Meiyanto ve ark. 2014, Ibrahim Fouad ve Ahmed 2022). Bu çalışmalarda tespit edilen bulgulara benzer olarak yapmış olduğumuz çalışmada CP uygulanan grupta karaciğer, böbrek ve kalp dokularında ölçülen NF-κB ve TNF-α düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.05$). Bu sonuçlar yüksek dozda CP uygulamasının akut inflamatuvar yanıtların şiddetlenmesine katıldığını bildiren önceki çalışmalarla uyumludur. CP uygulaması ile birlikte aynı zamanda CUR tedavisi uygulanan CP+200 CUR ve CP+300 CUR gruplarında ise CUR etkisiyle NF-κB ve TNF-α düzeylerinin CP grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.05$) tespit edildi. Bu durum da önceki çalışmalarla uyumlu olarak CUR'un anti-inflamatuar potansiyeli ortaya koymaktadır.

Biyokimyasal analizlerin dışında elde edilen histopatolojik veriler ışığında CP uygulaması yapılmayan gruplarda bulunan ratların karaciğer, böbrek ve kalp dokularında patolojik belirtiler bulunmazken, CP grubunda bulunan ratlarda; karaciğer dokusunda remark kordonlarında dissosiyasyon, hepatositlerde şiddetli dejenerasyon ve nekroz, sinüzoidlerde hiperemi ve damar çevresinde çoğunlukla mononükleer hücrelerin oluşturduğu yangısal infiltrasyon gözlenmesi; böbrek dokusunda tubulus epitellerinde şiddetli düzeyde dejenerasyon ve nekroz gözlenmesi, ayrıca tubuluslarda çok sayıda hiyalin silindirlerinin varlığı; kalp dokusunda kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz, hiperemi ve bazı damarların çevresinde çoğunluğunu mononükleer hücrelerin oluşturduğu yangısal infiltrasyonun gözlemlenmesi CP'nin bu dokular üzerindeki toksik etkisinin ortaya koymaktadır. CP ile CP+CUR tedavisi uygulanan gruplarda bulunan ratların karaciğer, böbrek ve kalp dokularındaki lezyonların şekli ve şiddeti açısından paralellik mevcut olması hematoksilen & eozin boyamasının genel bir boyama yöntemi olması nedeniyle detaylı bir tespiti imkan tanımamasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışma sonunda elde edilen biyokimyasal veriler düşünüldüğünde, çalışmada hematoksilen & eozin boyaması yerine

immunohistokimyasal boyama yöntemlerinin kullanılması durumunda histopatolojik incelemelerde farklı bulgular tespit edebileceğimizi düşündürmektedir.

6. SONUÇ

Ratlarda yapılan CP uygulaması ardından biyokimyasal analizlerle MDA, NO, cTn-I, BUN, Cr, 8-OHdG, TNF- α ve NF- κ B düzeyleri ile ALT, AST, ALP ve CK-MB enzim aktivitelerinde artış, GSH düzeyinde ise düşüş tespit edilmiştir. Bu durum CP'nin oksidatif strese, hepatoksisiteye, nefrotoksisiteye ve kardiyotoksisiteye neden olduğunu, ayrıca bu dokularda DNA hasarı oluşturduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular histopatolojik incelemelerle de desteklenmiştir.

CP uygulamasının ardından 7 gün boyunca oral gavaj ile 200mg/kg CUR uygulanan ratlarda CP'nin bütün toksik etkilerinde iyileştirme gösterdiği tespit edilmiştir. 7 gün boyunca oral gavaj ile 300mg/kg CUR uygulanan ratlarda ise tam kanda ölçülen GSH, plazmada ölçülen MDA, ALT, AST, ALP, Cr, kalp, karaciğer ve böbrek dokularında ölçülen 8-OHdG ve böbrek dokusunda ölçülen TNF- α parametreleri açısından 200mg/kg CUR uygulamasına göre anlamlı bir fark oluşturduğu tespit edilmiş, yüksek CUR dozunun toksik etkiler üzerinde iyileştirme özelliğinin daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak CP ile birlikte CUR'un farklı doz uygulamalarının CP'nin toksik etkilerini iyileştirdiği tespit edildi. Yapılan çalışma sonucunda CP'nin toksik etkilerinin oksidatif strese bağlı olduğu, CUR uygulaması ile tespit edilen iyileşmenin CUR'un antioksidan özelliğiyle ilişkili olduğu ve kemoterapi uygulanan hastalarda CP'nin meydana gelen toksik etkilerin tedavisinde CUR kullanımının faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Wahhab KG, Mannaa FA, Ashry M, Khaled DM, Hassan LK, Gomaa HF: Chenopodium quinoa ethanolic extract ameliorates cyclophosphamide®-induced hepatotoxicity in male rats. *Comparative Clinical Pathology*, 30: 267-276, 2021.
- Abotaleb M, Samuel SM, Varghese E, Varghese S, Kubatka P, Liskova A, Büsselberg D: Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1): 28, 2018.
- Abrahams S, Haylett WL, Johnson G, Carr JA, Bardien S: Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. *Neuroscience*, 406: 1-21, 2019.
- Abudayyak M, Yalçın CÖ, Korkut E: Kemoterapi ile indüklenmiş periferel nöropatinin tedavisi ve önlenmesine yönelik farmakolojik yaklaşımlar. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43(2): 113-127, 2018.
- Afkhami-Ardakani M, Hasanzadeh S, Shahrooz R, Delirez N, Malekinejad H. (2018). Antioxidant effects of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. *Veterinary Research Forum*,
- Ahmed M, Abdel Magid AD, Ali HA: Therapeutic and protective role of curcumin nanoparticles against experimentally induced hepatotoxicity in rats. *Benha Veterinary Medical Journal*, 40(2): 105-110, 2021.
- Ahmed RA, Alam MF, Alshahrani S, Jali AM, Qahl AM, Khalid M, Muzafar HM, Alhamami HN, Anwer T: Capsaicin Ameliorates the Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity by Inhibiting Free Radicals Generation, Inflammatory Cytokines, and Apoptotic Pathway in Rats. *Life*, 13(3): 786, 2023.
- Akamo AJ, Akinloye DI, Ugbaja RN, Adeleye OO, Dosumu OA, Eteng OE, Antiya MC, Amah G, Ajayi OA, Faseun SO: Naringin prevents cyclophosphamide-induced erythrocytotoxicity in rats by abrogating oxidative stress. *Toxicology Reports*, 8: 1803-1813, 2021.
- Aksu EH, Kandemir FM, Yıldırım S, Küçükler S, Dörtbudak MB, Çağlayan C, Benzer F: Palliative effect of curcumin on doxorubicin-induced testicular damage in male rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 33(10): e22384, 2019.
- Aladaileh SH, Abukhalil MH, Saghir SA, Hanieh H, Alfwuaires MA, Almaiman AA, Bin-Jumah M, Mahmoud AM: Galangin activates Nrf2 signaling and attenuates oxidative damage, inflammation, and apoptosis in a rat model of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity. *Biomolecules*, 9(8): 346, 2019.

- Alam MF, Ajeibi AO, Safhi MH, Alabdly AJ, Alshahrani S, Rashid H, Qadri M, Jali AM, Alqahtani S, Nomier Y: Therapeutic Potential of Capsaicin against Cyclophosphamide-Induced Liver Damage. *Journal of Clinical Medicine*, 12(3): 911, 2023.
- AlBasher G, Abdel-Daim MM, Almeer R, Ibrahim KA, Hamza RZ, Bungau S, Aleya L: Synergistic antioxidant effects of resveratrol and curcumin against fipronil-triggered oxidative damage in male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 6505-6514, 2020.
- AlBasher G, Abdel-Daim MM, Almeer R, Ibrahim KA, Hamza RZ, Bungau S, Aleya L: Synergistic antioxidant effects of resveratrol and curcumin against fipronil-triggered oxidative damage in male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 6505-6514, 2020.
- Al-Bayati HBT, Jaffat HS. (2023). The Role of curcumin extract in Ameliorating Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity. *BIO Web of Conferences*,
- ALHaithloul HA, Alotaibi MF, Bin-Jumah M, Elgebaly H, Mahmoud AM: Olea europaea leaf extract up-regulates Nrf2/ARE/HO-1 signaling and attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111: 676-685, 2019.
- Alhowail AH, Aldubayan MA: The Impact of Metformin on the Development of Hypothyroidism and Cardiotoxicity Induced by Cyclophosphamide, Methotrexate, and Fluorouracil in Rats. *Pharmaceuticals*, 16(9): 1312, 2023.
- Alizadeh M, Kheirouri S: Curcumin reduces malondialdehyde and improves antioxidants in humans with diseased conditions: A comprehensive meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomedicine*, 9(4), 2019.
- Al-joda AM, Zalzal MH: Inhibition of NF-kB Pathway by Gggulsterone in the Protective Effects of Cyclophosphamide-Induced Renal Toxicity. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences (P-ISSN 1683-3597 E-ISSN 2521-3512)*, 28(2): 180-185, 2019.
- Alqahtani S, Mahmoud AM: Gamma-glutamylcysteine ethyl ester protects against cyclophosphamide-induced liver injury and hematologic alterations via upregulation of ppar γ and attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 2016.
- Amirkhizi F, Siassi F, Minaie S, Djalali M, Rahimi A, Chamari M: Is obesity associated with increased plasma lipid peroxidation and oxidative stress in women? *ARYA Atherosclerosis Journal*, 2(4), 2010.
- Anand P, Thomas SG, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Sung B, Tharakan ST, Misra K, Priyadarsini IK, Rajasekharan KN: Biological activities of curcumin and its

- analogues (Congeners) made by man and Mother Nature. *Biochemical pharmacology*, 76(11): 1590-1611, 2008.
- Andersson M, Tobin G, Giglio D: Cholinergic nitric oxide release from the urinary bladder mucosa in cyclophosphamide-induced cystitis of the anaesthetized rat. *British journal of pharmacology*, 153(7): 1438-1444, 2008.
- Aoyama K: Glutathione in the Brain. *International journal of molecular sciences*, 22(9): 5010, 2021.
- Ar AAS, Karale S, Kamath JV: Cardioprotective effect of *Mentha longifolia* against cyclophosphamide induced cardiotoxicity in rats: a biochemical, electrocardiographic and histopathological study. 2016.
- Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A: Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology*, 212(2-3): 116-123, 2005.
- Attia AA, Sorour JM, Mohamed NA, Mansour TT, Al-Eisa RA, El-Shenawy NS: Biochemical, Histological, and Ultrastructural Studies of the Protective Role of Vitamin E on Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity in Male Rats. *Biomedicines*, 11(2): 390, 2023.
- Aulbach A, Amuzie C. (2017). Biomarkers in nonclinical drug development. In *A Comprehensive guide to toxicology in nonclinical drug development* (pp. 447-471). Elsevier.
- Avci H, Epikmen ET, İpek E, Tunca R, Birincioglu S, Akşit H, Sekkin S, Akkoç AN, Boyacioglu M: Protective effects of silymarin and curcumin on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(5): 317-327, 2017.
- Avci H, Sekkin S, Boyacıoğlu M, Akşit H, Tunca R, Et E, Ss B: Protective and antigenotoxic effects of Silymarin and Curcumin in experimental cyclophosphamide intoxication in rats. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(5), 2016.
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S: Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 2014.
- Ayhancı A, Yaman S, Appak S, Gunes S: Hematoprotective effect of seleno-L-methionine on cyclophosphamide toxicity in rats. *Drug and chemical toxicology*, 32(4): 424-428, 2009.
- Ayza MA, Balasubramanian R, Berhe AH: Cardioprotective effect of *Croton macrostachyus* stem bark extract and solvent fractions on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2020: 1-13, 2020.
- Ayza MA, Zewdie KA, Tesfaye BA, Wondafrash DZ, Berhe AH: The role of antioxidants in ameliorating cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020.

- Badria FA, Ibrahim AS, Badria AF, Elmarakby AA: Curcumin attenuates iron accumulation and oxidative stress in the liver and spleen of chronic iron-overloaded rats. *PLoS One*, 10(7): e0134156, 2015.
- Barmore W, Azad F, Stone WL: Physiology, urea cycle. 2018.
- Basu A, Bhattacharjee A, Samanta A, Bhattacharya S: Prevention of cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and genotoxicity: Effect of an L-cysteine based oxovanadium (IV) complex on oxidative stress and DNA damage. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(3): 747-757, 2015.
- Baykara O: Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(3): 154-165, 2016.
- Bengmark S: Curcumin, An atoxic antioxidant and natural NfκB, cyclooxygenase-2, lipoxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: A shield against acute and chronic diseases. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 30(1): 45-51, 2006.
- Benzer F, Kandemir FM, Kucukler S, Comaklı S, Caglayan C: Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Archives of physiology and biochemistry*, 124(5): 448-457, 2018.
- Benzer F, Kandemir FM, Ozkaraca M, Kucukler S, Caglayan C: Curcumin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by abrogation of inflammation, apoptosis, oxidative DNA damage, and protein oxidation in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(2): e22030, 2018.
- Bhandarkar SS, Arbiser JL: Curcumin as an inhibitor of angiogenesis. *The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease*: 185-195, 2007.
- Bhattacharjee A, Basu A, Biswas J, Bhattacharya S: Nano-Se attenuates cyclophosphamide-induced pulmonary injury through modulation of oxidative stress and DNA damage in Swiss albino mice. *Molecular and cellular biochemistry*, 405: 243-256, 2015.
- Bhattacharyya S, Acharya S, Dey SK, Vipparthi K, Singh S, Mukherjee A: Fluorescent cyclic phosphoramidate mustards and their cytotoxicity against cancer and cancer stem cells. *Polyhedron*, 172: 205-215, 2019.
- Boarescu P-M, Chirilă I, Bulboacă AE, Bocşan IC, Pop RM, Gheban D, Bolboacă SD: Effects of curcumin nanoparticles in isoproterenol-induced myocardial infarction. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2019.

- Boaz M, Matas Z, Biro A, Katzir Ze, Green M, Fainaru M, Smetana S: Serum malondialdehyde and prevalent cardiovascular disease in hemodialysis. *Kidney international*, 56(3): 1078-1083, 1999.
- Boshtam M, Asgary S, Kouhpayeh S, Shariati L, Khanahmad H: Aptamers against pro-and anti-inflammatory cytokines: a review. *Inflammation*, 40: 340-349, 2017.
- Brás JP, Bravo J, Freitas J, Barbosa MA, Santos SG, Summavielle T, Almeida MI: TNF-alpha-induced microglia activation requires miR-342: impact on NF-kB signaling and neurotoxicity. *Cell death & disease*, 11(6): 415, 2020.
- Brassea-Pérez E, Hernández-Camacho CJ, Labrada-Martagón V, Vázquez-Medina JP, Gaxiola-Robles R, Zenteno-Savín T: Oxidative stress induced by phthalates in mammals: state of the art and potential biomarkers. *Environmental Research*, 206: 112636, 2022.
- Breitenbach M, Rinnerthaler M, Weber M, Breitenbach-Koller H, Karl T, Cullen P, Basu S, Haskova D, Hasek J: The defense and signaling role of NADPH oxidases in eukaryotic cells. *Wiener Medizinische Wochenschrift (1946)*, 168(11): 286, 2018.
- Brenner D, Blaser H, Mak TW: Regulation of tumour necrosis factor signalling: live or let die. *Nature Reviews Immunology*, 15(6): 362-374, 2015.
- Brigelius-Flohé R, Maiorino M: Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5): 3289-3303, 2013.
- Buchwalow I, Schnekenburger J, Samoilova V, Boecker W, Neumann J, Tiemann K: New insight into the role of nitric oxide pathways in pancreas. *Acta Histochem. Cytochem.*, 51(6): 167-172, 2018.
- Burcham PC, Thompson CA, Henry PJ: Invited review: Acrolein and the lung: Chemical, molecular, and pathological aspects. *Advances in molecular toxicology*, 4: 1-36, 2010.
- Burklund A, Tadimety A, Nie Y, Hao N, Zhang JX: Advances in diagnostic microfluidics. *Advances in clinical chemistry*, 95: 1-72, 2020.
- Burtis CA, Bruns DE. (2014). *Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Bülbül G, Mis L, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A: Protective effects of Naringin on liver enzymes (AST, ALT, ALP) and histopathology in Cyclophosphamide-induced rats. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(2): 182-190, 2018.
- Çağlayan C, Temel Y, Kandemir FM, Yıldırım S, Küçükler S: Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of

- oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 20968-20984, 2018.
- Campos MA, de Almeida LA, Grossi MF, Tagliati CA: In vitro evaluation of biomarkers of nephrotoxicity through gene expression using gentamicin. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 32(9): e22189, 2018.
- Cao Z, Zhao M, Xu C, Zhang T, Jia Y, Wang T, Zhu B: Diagnostic roles of postmortem cTn I and cTn T in cardiac death with special regard to myocardial infarction: a systematic literature review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*, 20(13): 3351, 2019.
- Cengiz M, Şahintürk V, Yıldız SC, Şahin İK, Bilici N, Yaman SO, Altuner Y, Appak-Baskoy S, Ayhancı A: Cyclophosphamide induced oxidative stress, lipid per oxidation, apoptosis and histopathological changes in rats: Protective role of boron. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62: 126574, 2020.
- Cengiz M, Yıldız SC, Demir C, Şahin İK, Teksoy Ö, Ayhancı A: Hepato-preventive and anti-apoptotic role of boric acid against liver injury induced by cyclophosphamide. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 53: 1-7, 2019.
- Cetik S, Ayhancı A, Şahintürk V: Protective effect of carvacrol against oxidative stress and heart injury in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rat. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58: 569-576, 2015.
- Ceyhun G: Sensitive Marker Affected by All Systemic Abnormalities--troponine. *Eurasian Journal of Medicine*, 54, 2022.
- Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK: Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current science*: 44-53, 2004.
- Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, Chen Z: Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury: the role of nitric oxide. *Journal of Surgical Research*, 149(2): 287-295, 2008.
- Chen M, Wang Y, Zhao X, Zhang J, Peng Y, Bai J, Li S, Han D, Ren S, Qin K: Target-responsive DNA hydrogel with microfluidic chip smart readout for quantitative point-of-care testing of creatine kinase MB. *Talanta*, 243: 123338, 2022.
- Cho Y, Challa S, Moquin D, Genga R, Ray TD, Guildford M, Chan FK-M: Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell*, 137(6): 1112-1123, 2009.
- Çiftçi G, Aksoy A, Çenesiz S, Sogut MU, Yarım GF, Nisbet C, Güvenç D, Ertekin A: Therapeutic role of curcumin in oxidative DNA damage caused by formaldehyde. *Microscopy Research and Technique*, 78(5): 391-395, 2015.

- Cleeland CS: Symptom burden: multiple symptoms and their impact as patient-reported outcomes. *J Natl Cancer Inst Monogr*(37): 16-21, 2007.
- Çobanoğlu U, Demir H, Çebi A, Sayir F, Alp HH, Akan Z, Gür T, Bakan E: Lipid peroxidation, DNA damage and coenzyme Q10 in lung cancer patients--markers for risk assessment. *Asian Pac J Cancer Prev*, 12(6): 1399-1403, 2011.
- Concetti J, Wilson CL: NFKB1 and cancer: friend or foe? *Cells*, 7(9): 133, 2018.
- Cowburn AS, Deighton J, Walmsley SR, Chilvers ER: The survival effect of TNF- α in human neutrophils is mediated via NF- κ B-dependent IL-8 release. *Eur. J. Immunol.*, 34(6): 1733-1743, 2004.
- Cristalli DO, Arnal N, Marra FA, de Alaniz MJ, Marra CA: Peripheral markers in neurodegenerative patients and their first-degree relatives. *J. Neurol. Sci.*, 314(1-2): 48-56, 2012.
- Cyr AR, Huckaby LV, Shiva SS, Zuckerbraun BS: Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Critical care clinics*, 36(2): 307-321, 2020.
- Çayakar A: Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa. *Türkiye Klinikleri J Intern Med*, 3(2): 67-76, 2018.
- Çelik HEA, Tuna G, Ceylan D, Küçükgöncü S: A comparative meta-analysis of peripheral 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) or 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) levels across mood episodes in bipolar disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 151: 106078, 2023.
- Çiğ B: Renal hücrelerde metotreksat kaynaklı sitotoksosite: Kurkumin'in koruyucu rolü. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 8(2): 281-292, 2020.
- Daubert MA, Jeremias A, Brown DL. (2010). CHAPTER 10 - Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. In Jeremias A, Brown DL (Eds.), *Cardiac Intensive Care (Second Edition)* (pp. 97-105). W.B. Saunders. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3773-6.10010-2>
- Daubert MA, Jeremias A, Brown DL. (2010). Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. In *Cardiac Intensive Care* (pp. 97-105). Elsevier Inc.
- DB M, Sreedharan S, Mahadik K: Role of piperine as an effective bioenhancer in drug absorption. *Pharm Anal Acta*, 9(7): 1-4, 2018.
- De Gregorio E, Colell A, Morales A, Marí M: Relevance of SIRT1-NF- κ B axis as therapeutic target to ameliorate inflammation in liver disease. *International journal of molecular sciences*, 21(11): 3858, 2020.

- De Jonge ME, Huitema AD, Rodenhuis S, Beijnen JH: Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clinical pharmacokinetics*, 44(11): 1135-1164, 2005.
- Dei Cas M, Ghidoni R: Dietary curcumin: correlation between bioavailability and health potential. *Nutrients*, 11(9): 2147, 2019.
- DeJarnett N, Conklin DJ, Riggs DW, Myers JA, O'Toole TE, Hamzeh I, Wagner S, Chugh A, Ramos KS, Srivastava S: Acrolein exposure is associated with increased cardiovascular disease risk. *Journal of the American Heart Association*, 3(4): e000934, 2014.
- Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N: A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 15(4): 316-328, 2005.
- Dhulkefl AJ, Atacan K, Bas SZ, Ozmen M: An Ag-TiO₂-reduced graphene oxide hybrid film for electrochemical detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as an oxidative DNA damage biomarker. *Analytical Methods*, 12(4): 499-506, 2020.
- Di Meo F, Margarucci S, Galderisi U, Crispi S, Peluso G: Curcumin, gut microbiota, and neuroprotection. *Nutrients*, 11(10): 2426, 2019.
- Dias AEMSÁS, Melnikov P, Cônsolo LZZ: Oxidative stress in coronary artery bypass surgery. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 30: 417-424, 2015.
- Diotallevi M, Checconi P, Palamara AT, Celestino I, Coppo L, Holmgren A, Abbas K, Peyrot F, Mengozzi M, Ghezzi P: Glutathione fine-tunes the innate immune response toward antiviral pathways in a macrophage cell line independently of its antioxidant properties. *Frontiers in immunology*: 1239, 2017.
- Djordjević A, Kotnik P, Horvat D, Knez Ž, Antoniĉ M: Pharmacodynamics of malondialdehyde as indirect oxidative stress marker after arrested-heart cardiopulmonary bypass surgery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 132: 110877, 2020.
- Dzoyem JP, Kuete V, Eloff JN. (2014). Biochemical parameters in toxicological studies in Africa: significance, principle of methods, data interpretation, and use in plant screenings. In *Toxicological survey of African medicinal plants* (pp. 659-715). Elsevier.
- Edrees NE, Galal AA, Monaem ARA, Beheiry RR, Metwally MM: Curcumin alleviates colistin-induced nephrotoxicity and neurotoxicity in rats via attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Chemico-biological interactions*, 294: 56-64, 2018.
- El-Gizawy MM, Hosny EN, Mourad HH, Abd-El Razik AN: Curcumin nanoparticles ameliorate hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by cisplatin in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 393: 1941-1953, 2020.

- El-Kholy AA, Elkablawy MA, El-Agamy DS: Lutein mitigates cyclophosphamide induced lung and liver injury via NF- κ B/MAPK dependent mechanism. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92: 519-527, 2017.
- Elnahas KH, Aziza SA, El-Senosi YA, Aggag MA: Curcumin and Hesperidin alleviates oxidative stress and hormonal alterations in a rat model of cyclophosphamide-induced premature ovarian failure. *Benha Veterinary Medical Journal*, 39(1): 95-100, 2020.
- El-Serafi I, Fares M, Abedi-Valugherdi M, Afsharian P, Moshfegh A, Terelius Y, Potáková Z, Hassan M: Cytochrome P450 2J2, a new key enzyme in cyclophosphamide bioactivation and a potential biomarker for hematological malignancies. *The Pharmacogenomics Journal*, 15(5): 405-413, 2015.
- El-Sheikh AA, Morsy MA, Okasha AM: 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, 2017.
- Eskimez Z, Tosunöz İK, Öztunç G, Demirci PY, Paydaş S, Kumaş G: Kemoterapi Alan Meme Kanserli Hastalara Bakım Veren Yakınlarının Yaşam Kalitesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 30(1): 21-30, 2021.
- Fang Y-Z, Yang S, Wu G: Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10): 872-879, 2002.
- Farmer PB: DNA and protein adducts as markers of genotoxicity. *Toxicology letters*, 149(1-3): 3-9, 2004.
- Fei W, Zhang J, Yu S, Yue N, Ye D, Zhu Y, Tao R, Chen Y, Chen Y, Li A: Antioxidative and Energy Metabolism-Improving Effects of Maca Polysaccharide on Cyclophosphamide-Induced Hepatotoxicity Mice via Metabolomic Analysis and Keap1-Nrf2 Pathway. *Nutrients*, 14(20): 4264, 2022.
- Fenselau C, Kan M-NN, Rao SS, Myles A, Friedman OM, Colvin M: Identification of aldophosphamide as a metabolite of cyclophosphamide in vitro and in vivo in humans. *Cancer research*, 37(8_Part_1): 2538-2543, 1977.
- Forman HJ, Zhang H: Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(9): 689-709, 2021.
- Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griending KK: Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation research*, 122(6): 877-902, 2018.
- Fouad AA, Qutub HO, Al-Melhim WN: Punicalagin alleviates hepatotoxicity in rats challenged with cyclophosphamide. *Environmental toxicology and pharmacology*, 45: 158-162, 2016.

- Förstermann U, Sessa WC: Nitric oxide synthases: regulation and function. *European heart journal*, 33(7): 829-837, 2012.
- Franklin CC, Backos DS, Mohar I, White CC, Forman HJ, Kavanagh TJ: Structure, function, and post-translational regulation of the catalytic and modifier subunits of glutamate cysteine ligase. *Molecular aspects of medicine*, 30(1-2): 86-98, 2009.
- Gantner BN, LaFond KM, Bonini MG: Nitric oxide in cellular adaptation and disease. *Redox Biology*, 34: 101550, 2020.
- Garg P, Morris P, Fazlanie A, Vijayan S, Dancso B, Dastidar A, Plein S, Mueller C, Haaf P: Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitivity cardiac troponin. *Intern. Emerg. Med.*, 12(2): 147-155, 2017.
- Gerlach B, Cordier SM, Schmukle AC, Emmerich CH, Rieser E, Haas TL, Webb AI, Rickard JA, Anderton H, Wong WW-L: Linear ubiquitination prevents inflammation and regulates immune signalling. *Nature*, 471(7340): 591-596, 2011.
- Giordano A, Tommonaro G: Curcumin and cancer. *Nutrients*, 11(10): 2376, 2019.
- Glinghammar B, Rafter I, Lindström A-K, Hedberg JJ, Andersson HB, Lindblom P, Berg A-L, Cotgreave I: Detection of the mitochondrial and catalytically active alanine aminotransferase in human tissues and plasma. *Int. J. Mol. Med.*, 23(5): 621-631, 2009.
- Gobe GC, Coombes JS, Fassett RG, Endre ZH: Biomarkers of drug-induced acute kidney injury in the adult. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 11(11): 1683-1694, 2015.
- Gounden V, Bhatt H, Jialal I. (2023). Renal Function Tests. In *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29939598>
- Graille M, Wild P, Sauvain J-J, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB: Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International journal of molecular sciences*, 21(11): 3743, 2020.
- Gresele P, Momi S, Guglielmini G: Nitric oxide-enhancing or-releasing agents as antithrombotic drugs. *Biochemical Pharmacology*, 166: 300-312, 2019.
- Gunes S, Sahinturk V, Karasati P, Sahin IK, Ayhanci A: Cardioprotective effect of selenium against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 177: 107-114, 2017.
- Gupta N, Verma K, Nalla S, Kulshreshtha A, Lall R, Prasad S: Free radicals as a double-edged sword: The cancer preventive and therapeutic roles of curcumin. *Molecules*, 25(22): 5390, 2020.

- Gururaj AE, Belakavadi M, Venkatesh DA, Marmé D, Salimath BP: Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. *Biochemical and biophysical research communications*, 297(4): 934-942, 2002.
- Haas TL, Emmerich CH, Gerlach B, Schmukle AC, Cordier SM, Rieser E, Feltham R, Vince J, Warnken U, Wenger T: Recruitment of the linear ubiquitin chain assembly complex stabilizes the TNF-R1 signaling complex and is required for TNF-mediated gene induction. *Molecular cell*, 36(5): 831-844, 2009.
- Hamilton AE, Gilbert RJ: Curcumin release from biomaterials for enhanced tissue regeneration following injury or disease. *Bioengineering*, 10(2): 262, 2023.
- Hamzeh M, Amiri FT, Beklar SY, Hosseinimehr SJ: Nephroprotective effect of cerium oxide nanoparticles on cyclophosphamide-induced nephrotoxicity via anti-apoptotic and antioxidant properties in BALB/c mice. *Marmara Pharm J*, 22(2): 180-189, 2018.
- Hanff E, Eisenga MF, Beckmann B, Bakker SJ, Tsikas D: Simultaneous pentafluorobenzyl derivatization and GC-ECNICI-MS measurement of nitrite and malondialdehyde in human urine: Close positive correlation between these disparate oxidative stress biomarkers. *Journal of Chromatography B*, 1043: 167-175, 2017.
- HAS AL, Alotaibi MF, Bin-Jumah M, Elgebaly H, Mahmoud AM: Olea europaea leaf extract up-regulates Nrf2/ARE/HO-1 signaling and attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat kidney. *Biomed Pharmacother*, 111: 676-685, 2019.
- Hasan HF, Abdel-Hamid GR, Ebrahim SI: Antioxidant and anti-inflammatory effects of diallyl disulfide on hepatotoxicity induced by cyclophosphamide in rats. *Nat. Prod. Commun.*, 15(10): 1934578X20969083, 2020.
- Hassaninasab A, Hashimoto Y, Tomita-Yokotani K, Kobayashi M: Discovery of the curcumin metabolic pathway involving a unique enzyme in an intestinal microorganism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(16): 6615-6620, 2011.
- Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti F, Torti S: Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and molecular life sciences*, 65: 1631-1652, 2008.
- Hatipoglu D, Keskin E: The effect of curcumin on some cytokines, antioxidants and liver function tests in rats induced by Aflatoxin B1. *Heliyon*, 8(7), 2022.
- Heir R, Stellwagen D: TNF-mediated homeostatic synaptic plasticity: from in vitro to in vivo models. *Frontiers in cellular neuroscience*, 14: 565841, 2020.

- Helsby NA, Hui CY, Goldthorpe MA, Collier JK, Soh MC, Gow PJ, De Zoysa JZ, Tingle MD: The combined impact of CYP2C19 and CYP2B6 pharmacogenetics on cyclophosphamide bioactivation. *British journal of clinical pharmacology*, 70(6): 844-853, 2010.
- Helsby NA, Yong M, van Kan M, de Zoysa JR, Burns KE: The importance of both CYP2C19 and CYP2B6 germline variations in cyclophosphamide pharmacokinetics and clinical outcomes. *Br J Clin Pharmacol*, 85(9): 1925-1934, 2019.
- Hicks KA: Circulating Cardiac Troponins as Specific Biomarkers of Myocardial Damage: Clinical Considerations. *Pathophysiology and Pharmacotherapy of Cardiovascular Disease*: 193-209, 2015.
- Higgins C: Urea and the clinical value of measuring blood urea concentration. *Acute care testing. Org*: 1-6, 2016.
- Hirsch J: An anniversary for cancer chemotherapy. *JAMA*, 296(12): 1518-1520, 2006.
- Holbrook J, Lara-Reyna S, Jarosz-Griffiths H, McDermott MF: Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000Research*, 8(111): 111, 2019.
- Huang J, Shi W, Zhang J, Chou JW, Paules RS, Gerrish K, Li J, Luo J, Wolfinger RD, Bao W: Genomic indicators in the blood predict drug-induced liver injury. *The pharmacogenomics journal*, 10(4): 267-277, 2010.
- Huang J, Yu S, Ji C, Li J: Structural basis of cell apoptosis and necrosis in TNFR signaling. *Apoptosis*, 20: 210-215, 2015.
- Huang Z, Roy P, Waxman DJ: Role of human liver microsomal CYP3A4 and CYP2B6 in catalyzing N-dechloroethylation of cyclophosphamide and ifosfamide. *Biochemical pharmacology*, 59(8): 961-972, 2000.
- Hussein SA, Azab ME, Abdelwahed SM: Biochemical effect of curcumin on experimentally induced myocardial injury in rats. *Benha Veterinary Medical Journal*, 35(1): 375-387, 2018.
- Ibrahim Fouad G, Ahmed KA: Curcumin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity via suppressing oxidative stress and modulating iNOS, NF- κ B, and TNF- α in rats. *Cardiovascular toxicology*, 22(2): 152-166, 2022.
- Imran M, Rauf A, Abu-Izneid T, Nadeem M, Shariati MA, Khan IA, Imran A, Orhan IE, Rizwan M, Atif M: Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112: 108612, 2019.
- Iqbal A, Iqbal MK, Sharma S, Ansari MA, Najmi AK, Ali SM, Ali J, Haque SE: Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: Old drug with a new vision. *Life sciences*, 218: 112-131, 2019.

- Ismahil MA, Hamid T, Haberzettl P, Gu Y, Chandrasekar B, Srivastava S, Bhatnagar A, Prabhu SD: Chronic oral exposure to the aldehyde pollutant acrolein induces dilated cardiomyopathy. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 301(5): H2050-H2060, 2011.
- Jafarinezhad Z, Rafati A, Ketabchi F, Noorafshan A, Karbalay-Doust S: Cardioprotective effects of curcumin and carvacrol in doxorubicin-treated rats: Stereological study. *Food Science & Nutrition*, 7(11): 3581-3588, 2019.
- Jaffe AS, Babuin L, Apple FS: Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 48(1): 1-11, 2006.
- Jaganjac M, Milkovic L, Sunjic SB, Zarkovic N: The NRF2, thioredoxin, and glutathione system in tumorigenesis and anticancer therapies. *Antioxidants*, 9(11): 1151, 2020.
- Jaganjac M, Milkovic L, Zarkovic N, Zarkovic K: Oxidative stress and regeneration. *Free Radical Biology and Medicine*, 181: 154-165, 2022.
- Jakubczyk K, Drużga A, Katarzyna J, Skonieczna-Żydecka K: Antioxidant potential of curcumin— A meta-analysis of randomized clinical trials. *Antioxidants*, 9(11): 1092, 2020.
- Jang D-i, Lee A-H, Shin H-Y, Song H-R, Park J-H, Kang T-B, Lee S-R, Yang S-H: The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International journal of molecular sciences*, 22(5): 2719, 2021.
- Janssen SL, Berge K, Luiken T, Aengevaeren VL, Eijsvogels TM: Cardiac troponin release in athletes: What do we know and where should we go? *Current Opinion in Physiology*: 100629, 2023.
- Jeelani R, Khan SN, Shaeib F, Kohan-Ghadr H-R, Aldhaheeri SR, Najafi T, Thakur M, Morris R, Abu-Soud HM: Cyclophosphamide and acrolein induced oxidative stress leading to deterioration of metaphase II mouse oocyte quality. *Free Radical Biology and Medicine*, 110: 11-18, 2017.
- Jiang X, Chang H, Zhou Y: Expression, purification and preliminary crystallographic studies of human glutamate oxaloacetate transaminase 1 (GOT1). *Protein Expression and Purification*, 113: 102-106, 2015.
- Jiang Y, Yu M, Hu X, Han L, Yang K, Ba H, Zhang Z, Yin B, Yang X-P, Li Z: STAT1 mediates transmembrane TNF-alpha-induced formation of death-inducing signaling complex and apoptotic signaling via TNFR1. *Cell Death & Differentiation*, 24(4): 660-671, 2017.
- Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA, Sartor RB: Curcumin blocks cytokine-mediated NF- κ B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting

- inhibitory factor I- κ B kinase activity. *The Journal of Immunology*, 163(6): 3474-3483, 1999.
- Johnson DW: Screening and management: Overview. *Handb. Chronic Kidney Dis. Manage*, 1: 32, 2011.
- Jones DP: Redefining oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 8(9-10): 1865-1879, 2006.
- Jyotirmayee B, Mahalik G: A review on selected pharmacological activities of *Curcuma longa* L. *International Journal of Food Properties*, 25(1): 1377-1398, 2022.
- Kadasa NM, Abdallah H, Afifi M, Gowayed S: Hepatoprotective effects of curcumin against diethyl nitrosamine induced hepatotoxicity in albino rats. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 16(1): 103-108, 2015.
- Kalliolias GD, Ivashkiv LB: TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nature reviews rheumatology*, 12(1): 49-62, 2016.
- Kamel MA, Moussa YY, Gowayed MA. (2023). Creatine monohydrate for mitochondrial nutrition. In *Molecular Nutrition and Mitochondria* (pp. 383-415). Elsevier.
- Karunaweera N, Raju R, Gyengesi E, Münch G: (2015). Plant polyphenols as inhibitors of NF- κ B induced cytokine production—a potential anti-inflammatory treatment for Alzheimer's disease? In (Vol. 8, pp. 24): Frontiers Media SA.
- Kashani K, Rosner MH, Ostermann M: Creatinine: From physiology to clinical application. *European journal of internal medicine*, 72: 9-14, 2020.
- Katrukha I: Human cardiac troponin complex. Structure and functions. *Biochemistry (Moscow)*, 78: 1447-1465, 2013.
- Kennedy L, Sandhu JK, Harper M-E, Cuperlovic-Culf M: Role of glutathione in cancer: From mechanisms to therapies. *Biomolecules*, 10(10): 1429, 2020.
- Khongthong P, Roseweir AK, Edwards J: The NF- κ B pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer. *Endocrine-related cancer*, 26(6): R369-R380, 2019.
- Khorsandi L, Mansouri E, Orazizadeh M, Zahra J: Curcumin attenuates hepatotoxicity induced by zinc oxide nanoparticles in rats. *Balkan medical journal*, 33(3): 252-257, 2016.
- Kim J, Chan JJ: Cyclophosphamide in dermatology. *Australasian Journal of Dermatology*, 58(1): 5-17, 2017.
- Kishino Y, Hasegawa T, Kato A, Nishiya Y, Rozhnal V, Watanabe K, Takasaki W, Yamoto T, Mori K: Effect of inter-individual variability in human liver cytochrome P450 isozymes on

- cyclophosphamide-induced micronucleus formation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 838: 37-45, 2019.
- Kiuchi H, Takao T, Yamamoto K, Nakayama J, Miyagawa Y, Tsujimura A, Nonomura N, Okuyama A: Sesquiterpene lactone parthenolide ameliorates bladder inflammation and bladder overactivity in cyclophosphamide induced rat cystitis model by inhibiting nuclear factor- κ B phosphorylation. *The Journal of urology*, 181(5): 2339-2348, 2009.
- Kobayashi A, Suzuki Y, Sugai S: Specificity of transaminase activities in the prediction of drug-induced hepatotoxicity. *The Journal of Toxicological Sciences*, 45(9): 515-537, 2020.
- Kolıkpınar Y, Yusuf D, Tekin S, Yıldıırım S, Azman PD, Atasever A, Bolat M, Laçın BB, Melehat G, Polat ÖE: Investigation of Protective Effects of Naringin on ECG, Cardiac Enzymes, Cardiac Histopathology and 8-OHdG Expression in Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 16(2): 196-203, 2021.
- Koroth J, Nirgude S, Tiwari S, Gopalakrishnan V, Mahadeva R, Kumar S, Karki SS, Choudhary B: Investigation of anti-cancer and migrastatic properties of novel curcumin derivatives on breast and ovarian cancer cell lines. *BMC complementary and alternative medicine*, 19: 1-16, 2019.
- Kulbe H, Chakravarty P, Leinster DA, Charles KA, Kwong J, Thompson RG, Coward JI, Schioppa T, Robinson SC, Gallagher WM: A dynamic inflammatory cytokine network in the human ovarian cancer microenvironment. *Cancer research*, 72(1): 66-75, 2012.
- Kunutsor SK, Apekey TA, Van Hemelrijck M, Calori G, Perseghin G: Gamma glutamyltransferase, alanine aminotransferase and risk of cancer: Systematic review and meta-analysis. *International journal of cancer*, 136(5): 1162-1170, 2015.
- Kurauchi K, Nishikawa T, Miyahara E, Okamoto Y, Kawano Y: Role of metabolites of cyclophosphamide in cardiotoxicity. *BMC research notes*, 10(1): 1-10, 2017.
- Laorodphun P, Cherngwelling R, Panya A, Arjinajarn P: Curcumin protects rats against gentamicin-induced nephrotoxicity by amelioration of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Pharmaceutical Biology*, 60(1): 491-500, 2022.
- Lee R, Margaritis M, M Channon K, Antoniades C: Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. *Current medicinal chemistry*, 19(16): 2504-2520, 2012.
- Lehnert N, Kim E, Dong HT, Harland JB, Hunt AP, Manickas EC, Oakley KM, Pham J, Reed GC, Alfaro VS: The biologically relevant coordination chemistry of iron and nitric oxide: electronic structure and reactivity. *Chemical reviews*, 121(24): 14682-14905, 2021.

- Li M, Liu G-T: Inhibition of Fas/FasL mRNA expression and TNF- α release in concanavalin A-induced liver injury in mice by bicyclol. *World journal of gastroenterology: WJG*, 10(12): 1775, 2004.
- Liao Z, Chua D, Tan NS: Reactive oxygen species: a volatile driver of field cancerization and metastasis. *Molecular cancer*, 18: 1-10, 2019.
- Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G: Cytokines: from clinical significance to quantification. *Advanced Science*, 8(15): 2004433, 2021.
- Liu L, Liu B, Guan G, Kang R, Dai Y, Tang D: Cyclophosphamide-induced GPX4 degradation triggers parthanatos by activating AIFM1. *Biochem Biophys Res Commun*, 606: 68-74, 2022.
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S: Signal transduct. *Target. Ther*, 2(1): 17023, 2017.
- Liu Z, Que S, Xu J, Peng T: Alanine aminotransferase-old biomarker and new concept: a review. *International journal of medical sciences*, 11(9): 925, 2014.
- Lopez-Giacoman S, Madero M: Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. *World journal of nephrology*, 4(1): 57, 2015.
- Lowe D, Sanvictores T, Zubair M, John S. (2022). Alkaline phosphatase. In *StatPearls [internet]*. StatPearls Publishing.
- Lu SC: Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5): 3143-3153, 2013.
- Lucena MI, García-Martín E, Andrade RJ, Martínez C, Stephens C, Ruiz JD, Ulzurrun E, Fernandez MC, Romero-Gomez M, Castiella A: Mitochondrial superoxide dismutase and glutathione peroxidase in idiosyncratic drug-induced liver injury. *Hepatology*, 52(1): 303-312, 2010.
- Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT: The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature reviews Drug discovery*, 7(2): 156-167, 2008.
- MacAllister SL, Martin-Brisac N, Lau V, Yang K, O'Brien PJ: Acrolein and chloroacetaldehyde: an examination of the cell and cell-free biomarkers of toxicity. *Chemico-biological interactions*, 202(1-3): 259-266, 2013.
- Maeshima T, Honda K, Chikazawa M, Shibata T, Kawai Y, Akagawa M, Uchida K: Quantitative analysis of acrolein-specific adducts generated during lipid peroxidation–modification of proteins in vitro: Identification of N τ -(3-propanal) histidine as the major adduct. *Chemical Research in Toxicology*, 25(7): 1384-1392, 2012.
- Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC: Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life sciences*, 78(18): 2081-2087, 2006.

- Mahipal P, Pawar RS: Nephroprotective effect of *Murraya koenigii* on cyclophosphamide induced nephrotoxicity in rats. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 10(8): 808-812, 2017.
- Mahmoud AM, Germoush MO, Alotaibi MF, Hussein OE: Possible involvement of Nrf2 and PPAR γ up-regulation in the protective effect of umbelliferone against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 297-306, 2017.
- Mansouri K, Rasoulpoor S, Daneshkhah A, Abolfathi S, Salari N, Mohammadi M, Rasoulpoor S, Shabani S: Clinical effects of curcumin in enhancing cancer therapy: A systematic review. *BMC Cancer*, 20: 1-11, 2020.
- Matata BM, Galiñanes M: Peroxynitrite is an essential component of cytokines production mechanism in human monocytes through modulation of nuclear factor- κ B DNA binding activity. *Journal of Biological Chemistry*, 277(3): 2330-2335, 2002.
- Matsumoto S, Häberle J, Kido J, Mitsubuchi H, Endo F, Nakamura K: Urea cycle disorders—update. *Journal of human genetics*, 64(9): 833-847, 2019.
- McGill MR: The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI journal*, 15: 817, 2016.
- McKim SE, Gäbele E, Isayama F, Lambert JC, Tucker LM, Wheeler MD, Connor HD, Mason RP, Doll MA, Hein DW: Inducible nitric oxide synthase is required in alcohol-induced liver injury: studies with knockout mice. *Gastroenterology*, 125(6): 1834-1844, 2003.
- Meghwani M, Goswami TK: Piper nigrum and Piperine: An Update. *Phytother. Res.*, 27(8): 1121-1130, 2013.
- Meiyanto E, Putri DDP, Susidarti RA, Murwanti R, Sardjiman S, Fitriyani A, Husna U, Purnomo H, Kawaichi M: Curcumin and its analogues (PGV-0 and PGV-1) enhance sensitivity of resistant MCF-7 cells to doxorubicin through inhibition of HER2 and NF- κ B activation. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 15(1): 179-184, 2014.
- Milkovic L, Cipak Gasparovic A, Cindric M, Mouthuy P-A, Zarkovic N: Short overview of ROS as cell function regulators and their implications in therapy concepts. *Cells*, 8(8): 793, 2019.
- Moghe A, Ghare S, Lamoreau B, Mohammad M, Barve S, McClain C, Joshi-Barve S: Molecular mechanisms of acrolein toxicity: relevance to human disease. *Toxicological Sciences*, 143(2): 242-255, 2015.
- Mohammad MK, Avila D, Zhang J, Barve S, Arteel G, McClain C, Joshi-Barve S: Acrolein cytotoxicity in hepatocytes involves endoplasmic reticulum stress, mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicology and applied pharmacology*, 265(1): 73-82, 2012.

- Moreb JS, Muhoczy D, Ostmark B, Zucali JR: RNAi-mediated knockdown of aldehyde dehydrogenase class-1A1 and class-3A1 is specific and reveals that each contributes equally to the resistance against 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 59: 127-136, 2007.
- Mostafa RE, Morsi AH, Asaad GF: Piracetam attenuates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in rats: Amelioration of necroptosis, pyroptosis and caspase-dependent apoptosis. *Life Sciences*, 303: 120671, 2022.
- Motolani A, Martin M, Sun M, Lu T: NF- κ B and Cancer Therapy Drugs. 2022.
- Ms SAB, Waldman P, Hunter S, Krings P, Ben M, Lamberth P, John, Smith P, JohnEric W, McAllister P, Matthew J: Effect of curcumin supplementation on exercise-induced oxidative stress, inflammation, muscle damage, and muscle soreness. *Journal of Dietary Supplements*, 17(4): 401-414, 2020.
- Ndrepepa G: Aspartate aminotransferase and cardiovascular disease—a narrative review. *J. Lab. Precis. Med*, 6(6), 2021.
- Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, Chapple S, Cohen G, Feher J, Grune T: Pathological aspects of lipid peroxidation. *Free radical research*, 44(10): 1125-1171, 2010.
- Nwose EU, Jelinek H, Richards RS, Kerr P: Erythrocyte oxidative stress in clinical management of diabetes and its cardiovascular complications. *Br. J. Biomed. Sci.*, 64(1): 35-43, 2007.
- Ogino MH, Tadi P: Cyclophosphamide. 2020.
- Olayinka ET, Ore A, Ola OS, Adeyemo OA: Ameliorative effect of gallic acid on cyclophosphamide-induced oxidative injury and hepatic dysfunction in rats. *Medical Sciences*, 3(3): 78-92, 2015.
- Omari Shekaftik S, Nasirzadeh N: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as a biomarker of oxidative DNA damage induced by occupational exposure to nanomaterials: a systematic review. *Nanotoxicology*, 15(6): 850-864, 2021.
- Omole JG, Ayoka OA, Alabi QK, Adefisayo MA, Asafa MA, Olubunmi BO, Fadeyi BA: Protective effect of kolaviron on cyclophosphamide-induced cardiac toxicity in rats. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23: 2156587218757649, 2018.
- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L: Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological reviews*, 87(1): 315-424, 2007.
- Pandey A, Chaturvedi M, Mishra S, Kumar P, Somvanshi P, Chaturvedi R: Reductive metabolites of curcumin and their therapeutic effects. *Heliyon*, 6(11): e05469, 2020.

- Pandey S, Goswami SK, Jain BP. (2020). *Protocols in Biochemistry and Clinical Biochemistry*. Academic Press.
- Papi S, Ahmadizar F, Hasanvand A: The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. *Immunopathologia Persa*, 5(1): e08-e08, 2019.
- Piko N, Ekart R, Bevc S, Hojs R: Atherosclerosis, epigenetic modifications, and arterial stiffness. *Acta Medico-Biotechnica*, 10(2): 10-17, 2017.
- Pobezinskaya YL, Liu Z: The role of TRADD in death receptor signaling. *Cell Cycle*, 11(5): 871-876, 2012.
- Prasad S, Tyagi AK, Aggarwal BB: Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*, 46(1): 2-18, 2014.
- Preiser JC: Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2): 147-154, 2012.
- Probert L: TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*, 302: 2-22, 2015.
- Qu F, Pei H, Kong R, Zhu S, Xia L: Novel turn-on fluorescent detection of alkaline phosphatase based on green synthesized carbon dots and MnO₂ nanosheets. *Talanta*, 165: 136-142, 2017.
- Raccor BS, Claessens AJ, Dinh JC, Park JR, Hawkins DS, Thomas SS, Makar KW, McCune JS, Totah RA: Potential contribution of cytochrome P450 2B6 to hepatic 4-hydroxycyclophosphamide formation in vitro and in vivo. *Drug Metabolism and Disposition*, 40(1): 54-63, 2012.
- Radi R: Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23): 5839-5848, 2018.
- Rahnavard M, Hassanpour M, Ahmadi M, Heidarzadeh M, Amini H, Javanmard MZ, Nouri M, Rahbarghazi R, Safaie N: Curcumin ameliorated myocardial infarction by inhibition of cardiotoxicity in the rat model. *Journal of cellular biochemistry*, 120(7): 11965-11972, 2019.
- Rehman MU, Tahir M, Ali F, Qamar W, Lateef A, Khan R, Quaiyoom A, Sultana S: 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: 119-127, 2012.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB: Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free radical biology and medicine*, 49(11): 1603-1616, 2010.

- Robaczewska J, Kedziora-Kornatowska K, Kozakiewicz M, Zary-Sikorska E, Pawluk H, Pawliszak W, Kedziora J: Role of glutathione metabolism and glutathione-related antioxidant defense systems in hypertension. *J Physiol Pharmacol*, 67(3): 331-337, 2016.
- Ruder B, Atreya R, Becker C: Tumour necrosis factor alpha in intestinal homeostasis and gut related diseases. *International journal of molecular sciences*, 20(8): 1887, 2019.
- Saghir SA, Alharbi SA, Al-Garadi MA, Al-Gabri N, Rady HY, Olama NK, Abdulghani MA, Al Hroob AM, Almaiman AA, Bin-Jumah M: Curcumin prevents cyclophosphamide-induced lung injury in rats by suppressing oxidative stress and apoptosis. *Processes*, 8(2): 127, 2020.
- Sak K, Everaus H: Chemomodulating effects of flavonoids in human leukemia cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 15(9): 1112-1126, 2015.
- Salgintas H, Donmez N, Ozsan M: The Effect of Curcumin on the Antioxidant System in Diabetic Rats. 2021.
- Saxena AK, Kumar A, Saxena AK, Kumar A: Introduction of Cyclophosphamide. *Fish Analysis for Drug and Chemicals Mediated Cellular Toxicity*: 1-5, 2020.
- Sayed-Ahmed M, Rishk AM, Solmon S, Abdel-Aleem S: Protection by L-carnitine against the inhibition of gene expression of heart fatty acid binding protein by chronic administration of doxorubicin. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 12: 275-281, 2000.
- Sayed-Ahmed MM, Aldelemy ML, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Al-Hosaini KA, Al-Harbi NO, Al-Sharary SD, Al-Harbi MM: Inhibition of gene expression of carnitine palmitoyltransferase I and heart fatty acid binding protein in cyclophosphamide and ifosfamide-induced acute cardiotoxic rat models. *Cardiovascular Toxicology*, 14: 232-242, 2014.
- Schiffel H, Lang SM: Update on biomarkers of acute kidney injury: moving closer to clinical impact? *Mol. Diagn. Ther.*, 16: 199-207, 2012.
- Schmitt B, Vicenzi M, Garrel C, Denis FM: Effects of N-acetylcysteine, oral glutathione (GSH) and a novel sublingual form of GSH on oxidative stress markers: A comparative crossover study. *Redox Biology*, 6: 198-205, 2015.
- Senior J: Alanine aminotransferase: a clinical and regulatory tool for detecting liver injury—past, present, and future. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 92(3): 332-339, 2012.
- Serasanambati M, Chilakapati SR: Function of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in human diseases—a review. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2(4): 368-387, 2016.

- Shakibaei M, John T, Schulze-Tanzil G, Lehmann I, Mobasheri A: Suppression of NF- κ B activation by curcumin leads to inhibition of expression of cyclo-oxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human articular chondrocytes: implications for the treatment of osteoarthritis. *Biochemical pharmacology*, 73(9): 1434-1445, 2007.
- Sharif PM, Jabbari P, Razi S, Keshavarz-Fathi M, Rezaei N: Importance of TNF-alpha and its alterations in the development of cancers. *Cytokine*, 130: 155066, 2020.
- Sherif IO: Uroprotective mechanism of quercetin against cyclophosphamide-induced urotoxicity: Effect on oxidative stress and inflammatory markers. *Journal of cellular biochemistry*, 119(9): 7441-7448, 2018.
- Sherman KE: Alanine aminotransferase in clinical practice: a review. *Archives of internal medicine*, 151(2): 260-265, 1991.
- Sies H, Jones DP: Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature reviews Molecular cell biology*, 21(7): 363-383, 2020.
- Sies H. (2019). Oxidative stress: eustress and distress in redox homeostasis. In *Stress: physiology, biochemistry, and pathology* (pp. 153-163). Elsevier.
- Singh A, Bhat T, Sharma O: Clinical biochemistry of hepatotoxicity. *J Clin Toxicol S*, 4: 2161-0495, 2011.
- Sladek N: Metabolism of oxazaphosphorines. *Pharmacol. Ther.*, 37(3): 301-355, 1988.
- Sládek NE, Kollander R, Sreerama L, Kiang DT: Cellular levels of aldehyde dehydrogenases (ALDH1A1 and ALDH3A1) as predictors of therapeutic responses to cyclophosphamide-based chemotherapy of breast cancer: a retrospective study: rational individualization of oxazaphosphorine-based cancer chemotherapeutic regimens. *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, 49(4), 2002.
- Smathers RL, Galligan JJ, Stewart BJ, Petersen DR: Overview of lipid peroxidation products and hepatic protein modification in alcoholic liver disease. *Chemico-biological interactions*, 192(1-2): 107-112, 2011.
- Smith KJ, Lassmann H: The role of nitric oxide in multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, 1(4): 232-241, 2002.
- Speckmann B, Steinbrenner H, Grune T, Klotz L-O: Peroxynitrite: From interception to signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 595: 153-160, 2016.
- Sprague AH, Khalil RA: Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochemical pharmacology*, 78(6): 539-552, 2009.

- Srivastava A, Shivanandappa T: Hepatoprotective effect of the root extract of *Decalepis hamiltonii* against carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Food chemistry*, 118(2): 411-417, 2010.
- Staveness D, Bosque I, Stephenson CR: Free radical chemistry enabled by visible light-induced electron transfer. *Accounts of chemical research*, 49(10): 2295-2306, 2016.
- Struck R, Davis Jr R, Berardini M, Loechler E, Davis Jr R: DNA guanine-guanine crosslinking sequence specificity of isophosphoramidate mustard, the alkylating metabolite of the clinical antitumor agent ifosfamide. *Cancer Chemotherapy & Pharmacology*, 45(1), 2000.
- Sun C, Zhang S, Liu C, Liu X: Curcumin promoted miR-34a expression and suppressed proliferation of gastric cancer cells. *Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals*, 34(10): 634-641, 2019.
- Sun E, Motolani A, Campos L, Lu T: The pivotal role of NF- κ B in the pathogenesis and therapeutics of Alzheimer's disease. *International journal of molecular sciences*, 23(16): 8972, 2022.
- Suo F, Zhou X, Setroikromo R, Quax WJ: Receptor Specificity Engineering of TNF Superfamily Ligands. *Pharmaceutics*, 14(1): 181, 2022.
- Swift LH, Golsteyn RM: Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells. *International journal of molecular sciences*, 15(3): 3403-3431, 2014.
- Taghiabadi E, Imenshahidi M, Abnous K, Mosafa F, Sankian M, Memar B, Karimi G: Protective effect of silymarin against acrolein-induced cardiotoxicity in mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2012, 2012.
- Tang Z, Chen H, He H, Ma C: Assays for alkaline phosphatase activity: Progress and prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 113: 32-43, 2019.
- Temel Y, Kucukler S, Yıldırım S, Caglayan C, Kandemir FM: Protective effect of chrysin on cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via the inhibition of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 393: 325-337, 2020.
- Tiambeng TN, Tucholski T, Wu Z, Zhu Y, Mitchell SD, Roberts DS, Jin Y, Ge Y. (2019). Analysis of cardiac troponin proteoforms by top-down mass spectrometry. In *Methods Enzymol.* (Vol. 626, pp. 347-374). Elsevier.
- Tomşa AM, Răchişan AL, Pandrea SL, Benea A, Uifălean A, Toma C, Popa R, Pârvu AE, Junie LM: Curcumin and Vitamin C Attenuate Gentamicin-Induced Nephrotoxicity by Modulating Distinctive Reactive Species. *Metabolites*, 13(1): 49, 2022.

- Toney MD: Reaction specificity in pyridoxal phosphate enzymes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 433(1): 279-287, 2005.
- Tubsakul A, Sangartit W, Pakdeechote P, Kukongviriyapan V, Apaijit K, Kukongviriyapan U: Curcumin mitigates hypertension, endothelial dysfunction and oxidative stress in rats with chronic exposure to lead and cadmium. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 253(1): 69-76, 2021.
- Ullah F, Liang A, Rangel A, Gyengesi E, Niedermayer G, Münch G: High bioavailability curcumin: an anti-inflammatory and neurosupportive bioactive nutrient for neurodegenerative diseases characterized by chronic neuroinflammation. *Archives of Toxicology*, 91: 1623-1634, 2017.
- Uyumlu AB, Satılmış B, Atıcı B, Taşlıdere A: Phenethyl isothiocyanate protects against cyclophosphamide-induced nephrotoxicity via nuclear factor E2-related factor 2 pathway in rats. *Experimental Biology and Medicine*: 15353702221139206, 2023.
- Vafaie M, Giannitsis E: Diagnosis of Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (NSTEMI). 2018.
- Vimalraj S: Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene*, 754: 144855, 2020.
- Voelcker G. (2017). Enzyme catalyzed decomposition of 4-hydroxycyclophosphamide. *The Open Conference Proceedings Journal*,
- von Eitzen U, Meier-Tackmann D, Agarwal DP, Goedde HW: Detoxification of cyclophosphamide by human aldehyde dehydrogenase isozymes. *Cancer letters*, 76(1): 45-49, 1994.
- Wadia S: Acute cyclophosphamide hemorrhagic myopericarditis: dilemma case report, literature review and proposed diagnostic criteria. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 9(11): OE01, 2015.
- Wang H, Ran J, Jiang T: Urea. *Urea Transporters*: 7-29, 2014.
- Wang L, Du F, Wang X: TNF- α induces two distinct caspase-8 activation pathways. *Cell*, 133(4): 693-703, 2008.
- Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S: Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6): 1915-1928, 2018.
- Washington IM, Van Hoosier G. (2012). Clinical biochemistry and hematology. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 57-116). Elsevier.
- Wasung ME, Chawla LS, Madero M: Biomarkers of renal function, which and when? *Clin. Chim. Acta*, 438: 350-357, 2015.
- Weber GF, Weber GF: DNA damaging drugs. *Molecular therapies of cancer*: 9-112, 2015.

- Weitzberg E, Hezel M, Lundberg JO, Warner DS: Nitrate-nitrite-nitric oxide pathway: implications for anesthesiology and intensive care. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 113(6): 1460-1475, 2010.
- Wilson NS, Dixit V, Ashkenazi A: Death receptor signal transducers: nodes of coordination in immune signaling networks. *Nature immunology*, 10(4): 348-355, 2009.
- Xue Y, Daniels LB, Maisel AS, Iqbal N. (2014). Cardiac Biomarkers. In *Reference Module in Biomedical Sciences*. Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.00022-2>
- Yadav V, Krishnan A, Zahiruddin S, Ahmad S, Vohora D: Amelioration of cyclophosphamide-induced DNA damage, oxidative stress, and hepato-and neurotoxicity by Piper longum extract in rats: The role of γ H2AX and 8-OHdG. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 2023.
- Yanai I, Benjamin H, Shmoish M, Chalifa-Caspi V, Shklar M, Ophir R, Bar-Even A, Horn-Saban S, Safran M, Domany E: Genome-wide midrange transcription profiles reveal expression level relationships in human tissue specification. *Bioinformatics*, 21(5): 650-659, 2005.
- Yang RZ, Park S, Reagan WJ, Goldstein R, Zhong S, Lawton M, Rajamohan F, Qian K, Liu L, Gong DW: Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. *Hepatology*, 49(2): 598-607, 2009.
- Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A: Molecular mechanisms linking oxidative stress and diabetes mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 2020.
- Ye B, Ling W, Wang Y, Jaisi A, Olatunji OJ: Protective Effects of Chrysin against Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity in Rats: A Biochemical and Histopathological Approach. *Chem. Biodivers.*, 19(3): e202100886, 2022.
- Ying L, Hofseth LJ: An emerging role for endothelial nitric oxide synthase in chronic inflammation and cancer. *Cancer research*, 67(4): 1407-1410, 2007.
- Zaky EA, Abd Elhameed SA, Ismail SM, Eldamer NM, Abdelaziz AW: Analysis of urinary 8-hydroxy-2-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in pediatric children with autism spectrum disorder. *Research in Autism Spectrum Disorders*, 102: 102129, 2023.
- Zhang J, Tian Q, Yung Chan S, Chuen Li S, Zhou S, Duan W, Zhu Y-Z: Metabolism and transport of oxazaphosphorines and the clinical implications. *Drug metabolism reviews*, 37(4): 611-703, 2005.
- Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D: 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology. *Cell*, 168(1-2): 37-57, 2017.

Zhang Y, Chang J, Gao H, Qu X, Zhai J, Tao L, Sun J, Song Y: Huaiqihuang (HQH) granule alleviates cyclophosphamide-induced nephrotoxicity via suppressing the MAPK/NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome activation. *Pharmaceutical Biology*, 59(1): 1423-1429, 2021.

Zinatizadeh MR, Schock B, Chalbatani GM, Zarandi PK, Jalali SA, Miri SR: The Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) signaling in cancer development and immune diseases. *Genes & diseases*, 8(3): 287-297, 2021.

Zoccarato A, Nabeebaccus AA, Oexner RR, Santos CX, Shah AM: The nexus between redox state and intermediary metabolism. *The FEBS Journal*, 289(18): 5440-5462, 2022.

Zweier JL, Li H, Samouilov A, Liu X: Mechanisms of nitrite reduction to nitric oxide in the heart and vessel wall. *Nitric Oxide*, 22(2): 83-90, 2010.

