

**T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA CİSPLATİNİN OLUŞTURDUĞU KARACİĞER
HASARINDA BEYAZ ÇAYIN ETKİSİ**

Fatih DİZMAN

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ADNAN YILMAZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**RİZE-2019
Her Hakkı Saklıdır**

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA CİSPLATİNİN OLUŞTURDUĞU KARACİĞER
HASARINDA BEYAZ ÇAYIN ETKİSİ**

Prof. Dr. Adnan Yılmaz danışmanlığında, Fatih Dizman tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 02 / 09 / 2019 tarihinde Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Ünvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan

: Prof. Dr. Ahmet ALVER

Üye

: Prof. Dr. Adnan YILMAZ

Üye

: Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU

Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

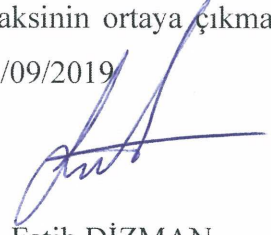
Çalışmam boyunca maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen başta danışmam hocam Prof. Dr. Adnan YILMAZ'a ve en az danışman hocam kadar yardımlarını eksik etmeyen Prof. Dr. Hüseyin Avni UYDU'ya ve Doç. Dr. Levent TÜMKAYA'ya, laboratuvar çalışmalarımızda bizlere bilgi ve deneyimleriyle katkısını esirgemeyen Öğr. Gör. Sibel Karakaş'a ve yüksek lisans arkadaşım Köksal ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Fatih DİZMAN



TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan ‘Ratlarda Cisplatinin Oluşturduğu Karaciğer Hasarında Beyaz ayın Etkisi’ başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 05/09/2019



Fatih DIZMAN

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

RATLARDA CİSPLATİNİN OLUŞTURDUĞU KARACİĞER HASARINDA BEYAZ ÇAYIN ETKİSİ

Fatih DİZMAN

**Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Prof. Dr. Adnan YILMAZ**

Bu çalışmanın amacı kronik beyaz çay ile beslenen ratlarda cisplatin kaynaklı karaciğer hasarının azalması veya yok edilmesinin araştırılmasıdır. Bu amaçla 8'erli 3 ayrı gruptan toplamda Sprague Dawley cinsi 24 dişi rat kullanıldı. Kontrol grubuna sadece çeşme suyu verildi, beyaz çay + cisplatin grubuna ise 4 hafta boyunca %0,5 (w/v) oranında beyaz çay ekstreli içme suları verildi. 4. hafta sonunda hem beyaz çay + cisplatin grubuna hem de cisplatin grubuna tek doz 7 mg/kg cisplatin intraperitoneal olarak uygulandı. Beşinci günün sonunda, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için anestezi uygulanmış ratlardan karaciğer dokusu ve kan örnekleri alındı ve uygun ortamlarda muhafaza edildiler. Cisplatin kaynaklı hücre hasarını belirlemek için serum AST, ALT değerleri ve oksidatif stresi belirlemek için doku MDA, GSH değerleri belirlendi. Gerekli boyamalar yapılarak bloklanan doku numunelerinin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirilmeleri için fotoğraflandılar. Biyokimyasal bulgulara bakıldığında, kontrol gruplarına göre cisplatin gruplarında anlamlı artışlar ($p<0,05$) görüldü. Beyaz çay + cisplatin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasada düşüşler gözlemlendi. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgulara bakıldığında kontrol grubuna göre cisplatin gruplarında apoptik hücreler, vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlar gözlemlendi. Cisplatin grubuna göre beyaz çay + cisplatin tedavi gruplarında bu olumsuz durumlarda azalmalar gözlemlendi. Sonuç olarak beyaz çayın cisplatin kaynaklı karaciğer hasarlarına etkisini olumlu olarak söyleyebiliriz.

2019, 62 sayfa

Anahtar Kelimeler: Cisplatin, Beyaz Çay, Karaciğer, Oksidatif Stres, Rat

ABSTRACT

THE EFFECT OF WHITE TEA ON CISPLATIN-INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS

Fatih DİZMAN

**Recep Tayyip Erdogan UniverSity
Graduate School of Health Sciences
Department of Medical Biochemistry
Master's Thesis
Supervisor: Prof. Dr. Adnan YILMAZ**

The aim of this study was to investigate the reduction or elimination of cisplatin-induced liver damage in chronic white tea-fed rats. For this purpose, 24 female Sprague Dawley rats from 3 groups of 8 were used. Only tap water was given to the control group, white tea + cisplatin group was given 0.5% (w/v) white tea extract drinking water for 4 weeks. At the end of the 4th week, a single dose of 7 mg/kg cisplatin was administered intraperitoneal to both the white tea + cisplatin group and cisplatin groups. At the end of the 5th day, liver tissue and blood samples were taken from anesthetized rats for evaluation biochemical, histopathological and immunohistochemical parameters and kept in suitable environments. Serum AST, ALT values and tissue MDA, GSH values were determined to determine cisplatin-induced cell damage and oxidative stres. They were photographed for histopathological and immunohistochemical evaluation of the blocked tissue samples with necessary staining. When the biochemical findings were examined, significant increases were observed in cisplatin groups compared to the control groups ($p < 0.05$). Decreases were observed in white tea + cisplatin groups, although not statistically significant. When histopathological and immunohistochemical findings were examined, apoptic cells, vascular congestion and sinusoidal dilatations were observed in cisplatin groups compared to control group. Reductions in these negative conditions were observed in white tea + cisplatin treatment groups compared to cisplatin group. As a result, we can say that the effect of white tea on cisplatin-induced liver damage is positive.

2019, 62 pages

Keywords: Cisplatin, White Tea, Liver, Oxidative Stres, Rat

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Karaciğer.....	4
1.2.1. Karaciğer anatomisi	4
1.2.2. Karaciğer histolojisi	5
1.2.3. Karaciğer fizyolojisi	6
1.2.4. Karaciğer enzimleri.....	7
1.2.4.1. Aspartat aminotransferaz (AST).....	7
1.2.4.2. Alanin aminotransferaz (ALT)	8
1.3. Oksidatif Stres.....	9
1.3.1. Serbest radikaller	10
1.3.1.1. Reaktif oksijen türleri (ROT).....	11
1.3.2. Serbest radikallerin vücut üzerine etkileri	12
1.3.2.1. Membran lipitleri üzerine etkileri ve malondialdehit (MDA)	13
1.3.2.2. Proteinler üzerine etkileri.....	13
1.3.2.3. Karbonhidratlar üzerine etkileri.....	14

1.3.2.4.	DNA üzerine etkileri.....	14
1.4.	Cisplatin.....	14
1.5.	Antioksidanlar.....	16
1.5.1.	Bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar	17
1.5.1.1.	Süperoksit dismutaz (SOD)	17
1.5.1.2.	Katalaz (CAT).....	18
1.5.1.3.	Glutasyon peroksidaz (GPx)	18
1.5.1.4.	Glutasyon redüktaz (GRx)	18
1.5.1.5.	Glutasyon	18
1.6.	Beyaz Çay	20
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	23
2.1.	İstatiksel Analizler	23
2.2.	Etik Protokoller.....	23
2.3.	Beyaz Çay Örneklerinin Temini	23
2.4.	Deney Hayvanları	24
2.5.	Deney Uygulamaları.....	25
2.5.1.	Kan ve doku örneklerinin toplanması	25
2.5.2.	Biyokimyasal işlemler	25
2.5.2.1.	Homojenatların hazırlanması	27
2.5.2.2.	Malondialdehit (MDA) tayini	27
2.5.2.2.1.	Kullanılan çözeltiler.....	27
2.5.2.2.2.	Deneyin yapılışı	27
2.5.2.2.3.	Standart çözeltilerin hazırlanması ve deneyin yapılışı	28
2.5.2.3.	Glutasyon (GSH) tayini.....	29
2.5.2.3.1.	Kullanılan çözeltiler.....	29
2.5.2.3.2.	Standart çözeltilerin hazırlanması.....	29

2.5.3.	Aspartat aminotransferaz enzim testi ve test prosedürünün ilkeleri	30
2.5.4.	Alanin aminotransferaz enzim testi ve test prosedürünün ilkeleri.....	30
2.5.5.	İmmünohistokimyasal ve histopatolojik analizler	31
2.5.5.1.	Histopatolojik analiz	31
2.5.5.2.	İmmünohistokimyasal analiz	31
3.	BULGULAR	33
3.1.	Biyokimyasal Bulgular	33
3.2.	Histopatolojik Bulgular.....	36
3.2.1.	Hematoksilen ve eosin boyama	36
3.2.1.1.	Kontrol grubuna ait bulgular.....	36
3.2.1.2.	Cisplatin grubuna ait bulgular.....	37
3.2.1.3.	Beyaz çay + cisplatin grubuna ait bulgular.....	38
3.2.2.	Goldner's masson trikrom boyaması	39
3.2.2.1.	Kontrol grubuna ait bulgular.....	39
3.2.2.2.	Cisplatin grubuna ait bulgular.....	39
3.2.2.3.	Beyaz çay + cisplatin grubuna ait bulgular.....	40
3.3.	İmmünohistokimyasal Bulgular.....	41
3.3.1.	Kontrol grubuna ait bulgular.....	41
3.3.2.	Cisplatin grubuna ait bulgular.....	41
3.3.3.	Beyaz çay + cisplatin grubuna ait bulgular.....	42
3.4.	Semi-kantitatif Analiz.....	43
4.	TARTIŞMA VE SONUÇ	44
5.	ÖNERİLER	51
	KAYNAKLAR	52
	EKLER	61
	ÖZGEÇMİŞ	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Karaciğerin anatomik yapısı	4
Şekil 2. AST enziminin katalizlediği kimyasal reaksiyon.....	8
Şekil 3. ALT enziminin katalizlediği kimyasal reaksiyon	8
Şekil 4. Oksidatif denge.....	9
Şekil 5. Serbest radikallerin neden olduğu hasarlar	12
Şekil 6. MDA'nın kimyasal yapısı.....	13
Şekil 7. Cisplatin'in kimyasal yapısı.....	15
Şekil 8. Glutatyon'un kimyasal yapısı	19
Şekil 9. GSH sentez reaksiyonları	19
Şekil 10. Polifenol familyası içerisinde flavonoidler	20
Şekil 11. Beyaz çay	21
Şekil 12. Çay üretim aşamaları.....	21
Şekil 13. MDA standart grafiği	28
Şekil 14. GSH standart grafiği.....	30
Şekil 15. Tüm gruplardaki karaciğer doku MDA düzeyleri.....	34
Şekil 16. Tüm gruplardaki karaciğer doku GSH düzeyleri.....	34
Şekil 17. Tüm gruplardaki serum AST düzeyleri.....	35
Şekil 18. Tüm gruplardaki serum ALT düzeyleri.....	36
Şekil 19. H&E ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	37
Şekil 20. H&E ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	37
Şekil 21. H&E ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	38
Şekil 22. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	39
Şekil 23. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	40
Şekil 24. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....	40

- Şekil 25.** Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri..... 41
- Şekil 26.** Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....42
- Şekil 27.** Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.....42



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1. Hayvan deney grupları.....	24
Tablo 2. Ratlara yapılan uygulamalar	25
Tablo 3: Kullanılan araç ve gereçler	26
Tablo 4. Deneylerde kullanılan ilaç ve kimyasal maddeler	26
Tablo 5. Glutasyon tayini için pipetleme miktarları.....	29
Tablo 6. Ratların karaciğer dokusundaki MDA ve GSH düzeyleri	33
Tablo 7. Ratların serumlarındaki AST ve ALT düzeyleri.....	35
Tablo 8. Kaspaz-3 pozitivite skorlama tablosu	43
Tablo 9. Semi-Kantitatif analiz sonuçları	43

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aşpartat aminotransferaz
BÇ	Beyaz çay
CAT	Katalaz
CP	Cisplatin
DNA	Deoksiribonükleik asit
EGCG	Epigallo kateşin gallat
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPx	Glutatyon peroksidaz
GPT	Glutamat piruvat transaminaz
GRx	Glutatyon reduktaz
GSH	Redükte glutatyon
GST	Glutatyon s transferaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
IARC	International Agency Research of Cancer
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MDH	Malat dehidrogenaz
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
O₂	Moleküler oksijen
O₂[•]	Süperoksit radikali
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikali
TBA	Tiyobarbitürik asit
OH[•]	Hidroksil radikali
WT	White tea
PP	Piridoksal fosfat
H&E	Hematoksilen ve Eosin
CV	Santral ven

İ.P.	İntraperiotenal
SH	Standart hata
Ort.	Ortalama
g	Gram
nm	Nanometre
mL	Mililitre
kg	Kilogram
°C	Santigrat derece
mg	Miligram
µL	Mikrolitre
rpm	Revolutions per minute
dk	Dakika
pH	Power of hydrogen
mM	Milimolar
M	Molar
nmol	Nanomol
µM	Mikromolar
µmol	Mikromol
mmol	Milimol
w/v	Ağırlık/hacim
µm	Mikrometre
U/L	Ünite/litre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş ve Amaç

Kanser, genetik ve çevresel faktörlerin etkisi altında hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünerek çoğaldığı ve bunun neticesinde organizmanın ölümüne kadar neden olduğu ve 100'den fazla türünün bulunduğu bir hastalık çeşididir (URL-1, 2019; Baykara, 2017).

Kanserin ortaya çıkmasında tütün ve tütün ürünlerinin kullanımı, alkol, kötü beslenme, obezite, virüsler, kanserojen ajanlara maruz kalma, iyonize veya ultraviyole ışınlar maruziyet, mesleki hastalıklar, insan yapımı kimyasallar olan trafik ve çevresel kirlenimler sayılabilir (Blackadar, 2016; Venitt ve Phillips, 1995).

Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) tarafından yayımlanan *Globocan 2012* verilerine göre ülkemizde erkeklerde en sık görülen ilk beş kanser türünün dağılımı akciğer, prostat, mesane, kolorektal ve mide olarak gelmektedir. Kadınlarda ise bu dağılım meme, tiroid, kolorektal, uterus korpusu ve akciğer şeklindedir. Tütün ve tütün ürünlerinin yol açtığı en önemli kanser türü olan akciğer kanseri, ülkemizde erkeklerde ilk sırada, kadınlarda ise beşinci sırada görülmektedir. Ülkemizde görülen kanser vakaları ve türüne göre dağılım oranları dünyadaki diğer ülkelerin dağılım oranlarıyla benzerlik göstermektedir (URL-2, 2019).

Kanser tedavisinde kullanılan yöntemlerden kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler hem tek başına hem de gerekirse kombineli bir şekilde en sık başvurulan tedavi yöntemlerindedir. Kemoterapinin amacı, tümör hücrelerini kemoterapötik kimyasal ajanlar olan sitotoksik veya antineoplastik ilaçları oral ve/veya intravenöz yolla alarak öldürmektir (Baykara, 2017).

Antineoplastik ilaçlar DNA üzerine ya doğrudan etki ederek veya hücre bölünmesini durdurarak tümör hücrelerini yok ettikleri gibi sağlıklı hücrelere de zarar vermektedirler (Aynacıoğlu vd., 2014; Kayaalp, 1998).

Antineoplastik ilaçlardan biri olan *cisplatin* (*cis-diaminodikloroplatinum (II)*) organik platin türevi olup, en çok bilinen ve kanser tedavisinde en çok kullanılan kemoterapötik ajanlardan birisidir. Mesane, baş, boyun, akciğer, yumurtalık ve testis kanserleri dâhil olmak üzere birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmaktadır (Dasari ve Tchounwou, 2014).

Cisplatin kullanımını sınırlayan yan etkilerinin en başında kullanım dozuna bağlı olarak, nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite, testiküler toksisite, gastrointestinal bozukluklar görülmektedir (Dasari ve Tchounwou, 2014; Olinski vd., 1987). Cisplatin'in yüksek doz kullanımı karaciğerde ciddi yan etkilere sebep olmakta ve de bireyi hepatotoksisite yönünden olumsuz etkilemektedir (Nazıroğlu vd., 2004).

Cisplatin kökenli karaciğer hasarlarında ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşturduğu oksidatif stresin zararlı etkileri hücrelerde bulunan enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemler tarafından bertaraf edilmeye çalışılır (Guemouri vd., 1991).

Çalışmamızda kemoterapide kullanılan cisplatinin neden olduğu karaciğer hasarının düzeyini ve bu hasarın kronik *beyaz çay* tüketimi ile azaltılması veya ortadan kaldırılmasının araştırılması amaçlanmıştır. Çünkü beyaz çay içeriğindeki yüksek flavonoid, kateşin, epigallo kateşin gallat (EGCG) aracılığı ile cisplatinin neden olduğu hücresel hasarın önlenmesine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Bir başka amacımız elde edilecek sonuçlar ile bu alana yönelik çalışan bilim insanları ve hekimlere önleyici veya tedaviye yönelik farklı bakış açıları sunulmasıdır. Çünkü kemoterapi ciddi yan etkileri olan bir tedavi protokolüdür. Özellikle nörotoksisite, karaciğer, böbrek, testis ve ovaryum hasarı gibi çok sayıda yan etkisi bulunmaktadır. Kemoterapiye bağlı karaciğer dejenerasyonunun önlenmesine yönelik farmakolojik tedavi yaklaşımlarının yanı sıra diyetle fonksiyonel gıdaların ilavesi ile de tedaviye katkı sağlanabileceğine yönelik sonuçlar gösterilmiştir. Sunulacak veriler ile fonksiyonel bir gıda olan beyaz çayın karaciğer hasarını önleyici etkisi araştırılacaktır. Bunun

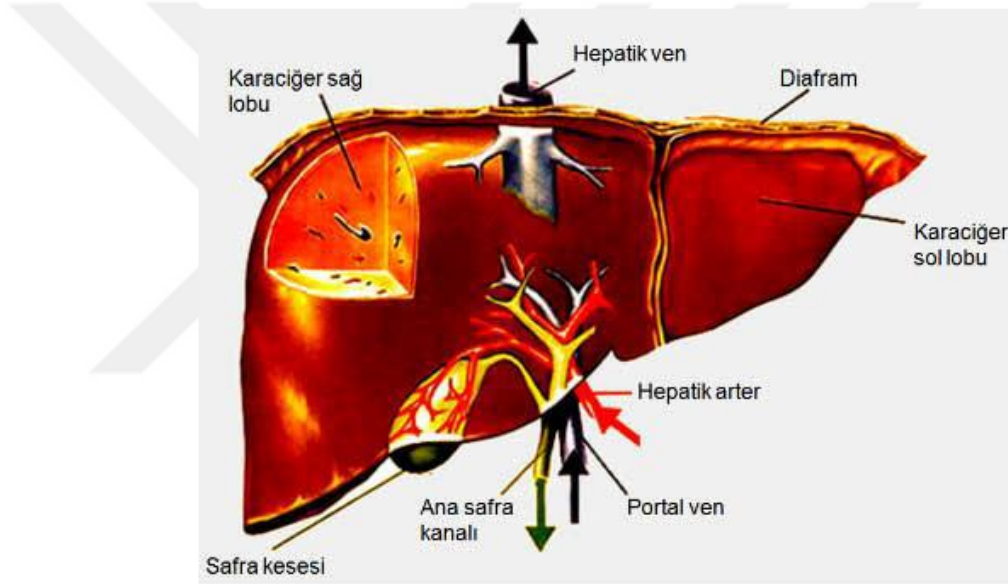
sonucunda mevcut tedavide kullanılan ilaçların ve cerrahi girişimlerin yan etkilerini azaltılabileceği öngörülmüştür.



1.2. Karaciğer

1.2.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, kırmızımtrak kahverengi rengine sahip, yetişkinlerde ortalama 1,5 kg ağırlığında olup diyaframın altında abdominal boşluğun sağ tarafında mide ve bağırsakların üstünde yerleşmiştir. Deriden sonra vücudun en büyük organı ve bezidir. Sağ lob ve sol lob olarak iki loba ayrılır (Şekil 1) ve bunlardan sağ lob sol loba göre daha büyüktür (Hall, 2013; Netter, 2010).



Şekil 1. Karaciğerin anatomik yapısı (Netter, 2010)

Facies diaphragmatica ve *facies visceralis* olmak üzere iki yüzü vardır. *Facies diaphragmatica*, karaciğerin üst yüzü olup diyaframa dayalı yüzüdür. Diyafram aracılığı ile plevra, akciğerler, perikardiyum ve kalple komşudur ve periton zarıyla örtülüdür. *Facies visceralis*, karaciğerin alt yüzeyi olup karaciğerin karın organlarıyla komşu olan iç bükey yüzüdür. Sağ böbrek, mide, duodenum ve kolonla temas halindedir. Karaciğerin arka yüzü böbrek ve adrenal bez ile temas halinde olan omurga yüzüdür. Arka yüzün büyük bir bölümü peritonsuzdur. Bu yüzde *porta hepatis* denilen karaciğer kapısı bulunur. Karaciğere giren ve çıkan bütün kan damarları, sinirler ve safra yolları buradan geçerler. *Porta hepatis*te bulunan kanallardan hepatic arter; aortun devamı olan

çölyak arterinin bir dalıdır ve organa oksijence zengin kanı getirir. Karaciğere gelen kanın %20'si bu damardan gelir. *Hepatik portal ven* ise bütün gastrointestinal sistemden toplanan venöz kanı getirir. Besin ve metabolitler bakımından zengin olan bu kan, kanın %80'ini oluşturur. *Hepatik ven*; karaciğerden toplanan kanı inferior vena kavaya direne eden damardır. Safra kanalı; hepatositler tarafından üretilen safra, safra kanaliküllerine verilir. Birleşen kanaliküller safraı hepatic kanallarla safra kesesine gönderir. Safra kesesinden çıkan sistik kanallar birleşerek ana safra kanalını yani koledok kanalını oluşturur. Koledok kanalı pankreatik kanalla birleşerek duodenuma açılır (Şen, 2015; Netter, 2010; Yıldırım, 2004; Moore vd., 2013; Carola vd., 1992).

1.2.2. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer dokusunun %80'ini, temel yapısal elemanı olan karaciğer hücresi olan hepatositlerden meydana gelen parankim kısmı, kalan %20'lik kısmını ise organı çevreleyen *glisson kapsülü* ve parankimi destekleyen *stroma* kapsar. Glisson kapsülü fibröz bağ dokusundan meydana gelmektedir. Kapsülün çevresi, karaciğer diyaframa ve diğer organlara direkt temas ettiği yerler dışında seröz bir kılıf olan *periton* ile örtülüdür. Bu seröz kılıf patojenlerin ve diğer zararlı maddelerin girişini önlemeye yardımcı olur (Müftüoğlu vd., 2009).

Karaciğerin temel yapısı *hepatosit* hücreleridir. Hepatositler; organizmadaki toksik etkileri ortadan kaldırdığı, kan moleküllerinin ve glikojen sentezlediği için sitoplazmalarındaki sayısı fazladır. Bu hücreler karaciğerin en küçük yapı taşı olan lobülleri oluştururlar. Lobülün ortasında bir *santral ven* yer alır. Hepatositler bu venden portal boşluğa doğru ışımsal bir dizilim gösterirler. Bu hepatosit dizileri arasında kapiller ağ içeren *sinüzoidler* bulunur. Hepatositler ile sinüzoid endoteli arasındaki alana *Disse aralığı* denilmektedir. Bu alanda kan ile karaciğer hücreleri arasında madde alışverişi gerçekleşir. Hepatositlerin bazal yüzeylerindeki *mikrovilluslar* disse aralığına uzanmaktadır. Bu sayede kan hücreleri ile yapılan madde alışverişi sırasında yüzey alan artırılmış olur. Bu alışveriş esnasında safra dışındaki diğer karaciğer salgıları proteinler ve lipoproteinler disse aralığından kana taşınır. Endotel tabakası hücreleri arasında aktif

fagositoz görevi olan kupffer hücreleri vardır. Bu hücreler endotel hücrelerinin lümenine bakan yüzeyinde bulunan tipik makrofaj hücreleridir (Şen, 2015; Akyıldız, 2015).

1.2.3. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğer, vücudun bütün sistemleriyle ilişkisi bulunan ve önemli fonksiyonları olan son derece karmaşık bir organdır. Karaciğerin kan hacmi yaklaşık 450 mL olmakla birlikte vücudun kan hacmi azaldığında ek kan sağlama, kan hacmi arttığında ise kan depolayabilme özelliğine sahip venöz bir organdır (Aktümsek, 2006).

Karaciğer, ürettiği safra nedeniyle ekzokrin bir bez, sentezlediği bazı maddeleri doğrudan kana verdiği için dolayısı ile endokrin bir bezdir. Hem ekzokrin hem de endokrin bir bez olan karaciğerin 100'den fazla fonksiyonu bulunur. Bu fonksiyonların çoğu hepatositler tarafından gerçekleştirilir (Moore ve Daley, 2007).

Karaciğerin birçok önemli görevlerinden bazılarını kısaca sıralayacak olursak (Solomon, 1997):

a) Vücuda giren birçok zehirli maddenin bunlara ilaçlar da dahil meydana getirdiği toksik etkiyi azaltmak ya da yok etmek.

b) Glukozu glikojene çevirerek depolamak ve kandaki glukoz konsantrasyon düzeyinin düştüğü durumlarda glikojeni tekrar glukozla çevirip kana vermek. Böylece vücudun enerji kaynağı olan glukozun kandaki konsantrasyon düzeyinin kontrolü sağlanmış olur.

c) Kupffer hücreleri tarafından bakterileri ortadan kaldırmak.

d) Protein, karbohidrat ve yağ metabolizmasında birçok önemli görevleri vardır.

e) Yağların sindiriminde önemli görevleri olan safrayı salgılamak.

f) Proteinlerin yıkımıyla ortaya çıkan amonyağı üreye çevirmek ve vücuttan dışarı atılımını sağlamak.

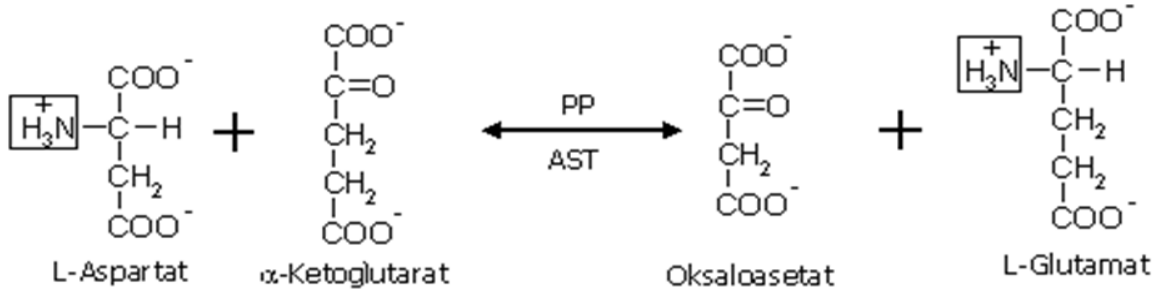
g) Vitaminleri depolamak ve dolaşımdaki birçok proteinleri sentezlemek.

1.2.4. Karaciğer Enzimleri

Karaciğer enzimleri, hepatositler tarafından üretilir ve depo edilirler. Sağlıklı bireylerde karaciğer enzimlerinin plazmaya salınma ve plazmadan temizlenme hızları sabittir, plazma seviyeleri denge halindedir. Ancak hasta bireylerin karaciğer hücrelerinde meydana gelen hasarlardan, hücre harabiyetlerinden dolayı bu intrasellüler enzimlerin plazma seviyelerinde artışa neden olur. Bunlardan ikisi transaminazlardan ; *Aspartat aminotransferaz (AST)* ve *Alanin aminotransferaz (ALT)*'dir. Transaminazlar, bir *aminoasit* ile bir *α -ketoasit* arasında amin grubu alışverişi yaparlar. Hücre hasarının en duyarlı göstergesi; sitozolik enzimler, mitokondriyal ve membrana bağımlı enzimlerdir. Sitozolik enzimlerin yalnız başına artması geri dönüşümlü hücre hasarını, hem sitozolik hem de mitokondriyal enzimlerin artışı nekroza işaretir (Kaynar, 2014; Saha and Maity, 2002).

1.2.4.1. Aspartat Aminotransferaz (AST)

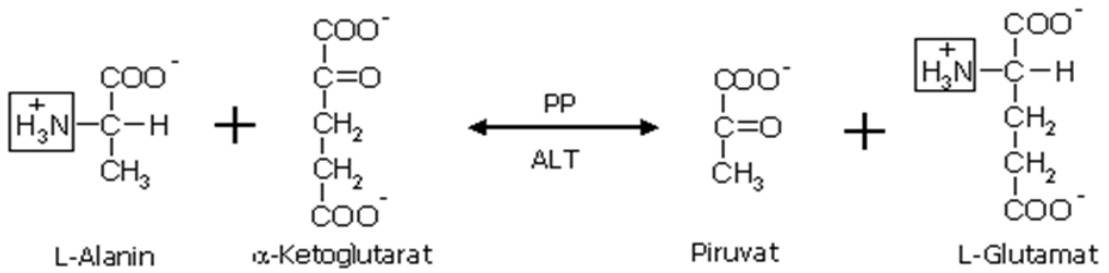
Glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT) olarak da adlandırılan *aspartat aminotransferaz (AST)*, amino asitlerin ve α -keto asitlerin ara dönüşümünü amino gruplarının transferi ile katalize eder. Bu enzim L-aspartattan bir amin grubunu α -ketoglutarata aktarır ve L-aspartatın kendisi oksaloasetata dönerken α -ketoglutaratı glutamata çevirir (Şekil-2). AST'nin en yüksek konsantrasyonları kalp, karaciğer, kas ve böbrek dokularındadır ve bu dokulardaki hasarlar, plazma AST düzeylerini önemli düzeylerde artırabilirler. Karaciğerde mitokondriyal, diğer dokularda sitozolik yerleşir (Burtis ve Ashwood, 1994; Friedman ve Young, 1989).



Şekil 2. AST enziminin katalizlediği kimyasal reaksiyon (PP: Piridoksal fosfat)

1.2.4.2. Alanin Aminotransferaz (ALT)

Glutamat piruvat transaminaz (GPT) olarak da adlandırılan alanin aminotransferaz (ALT), alaninden bir amin grubunu α -ketoglutarata aktarır ve alaninin kendisi piruvata dönerken α -ketoglutaratı glutamata çevirir (Şekil 3). Birçok dokuda bulunur ancak en yüksek düzeyleri karaciğer ve böbrek dokularında bulunur. Çok yüksek ALT düzeyleri miyokardiyal enfarktüs gibi diğer hastalık süreçlerinde gözlenmez. Bu nedenle ALT karaciğer hastalığının önemli spesifik bir göstergesidir. ALT sadece sitoplazmik yerleşimli bir enzimdir (Burtis ve Ashwood, 1994; Williams vd., 1987; Cuccherini vd., 1983; Ruby vd., 1988).

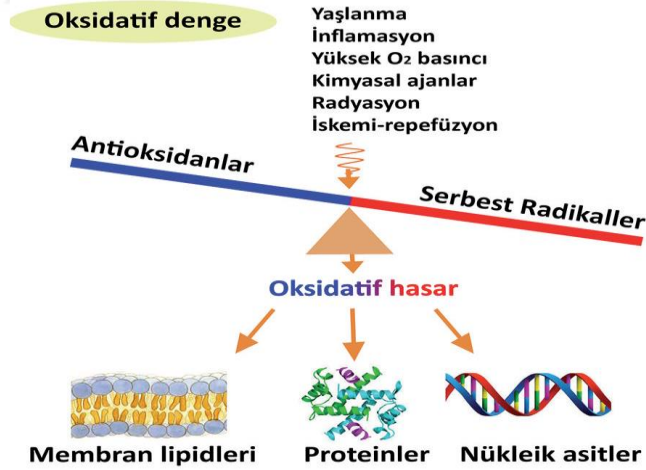


Şekil 3. ALT enziminin katalizlediği kimyasal reaksiyon (PP: Piridoksal fosfat)

1.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücrel metabolizma sırasında oluşan *serbest oksijen radikallerinin* (SOR) artışı ile ve onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır (Şekil 4). Oksidatif stresteki artış sonucunda oluşan SOR'lar hücre içi lipid ve protein yapıların çift bağ içeren gruplarına ve DNA'daki bazların çift bağlarına saldırır ve bir hidrojen atomu kopararak zincirleme oksidasyon reaksiyonlarını başlatırlar. Sonuçta *hücre içi lipid*, *protein* ve *DNA* gibi makromoleküller hasarlanarak hücre zedelenmesi veya hücre ölümü meydana gelir (Özcan vd., 2015).

SOR'lar oldukça yüksek reaktiviteye sahiptirler. Başta mitokondriyum olmak üzere hücre organellerinde gerçekleşen normal metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebeplere bağlı olarak üretilirler (Yan ve Sohal, 1998; Yan, 2014; Dokuyucu vd., 2014).



Şekil 4. Oksidatif denge (Özcan, 2015)

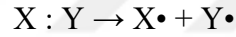
SOR'lar, endojen glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon reduktaz (GRx), glutasyon s transferaz (GST), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve diğer enzimatik veya nonenzimatik antioksidan (A, C, E vitaminleri, GSH gibi) savunma sistemlerince nötralize edilirler (Urso ve Clarkson, 2003).

Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinden sorumludur (Berlett ve Stadtman, 1997; Motor vd., 2014; Aydın vd., 2012; Şahin vd., 2012).

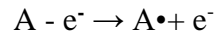
1.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller oldukça reaktif ve aynı zamanda kısa ömürlüdürler. Dış yörüngelerinin birinde eşleşmemiş elektronlar içeren bileşiklerdir. Kararsız yapıdadırlar ve kararlı yapıya gelebilmek için DNA'ya, lipitlere ve enzimlere saldırarak hücrel faaliyetlerini bozarlar.3 yolla meydana geldikleri düşünülmektedir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

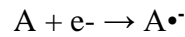
1- Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi:



2- Normal bir molekülün bir elektronun kaybına uğraması:



3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi:



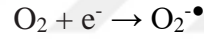
Üretilen bu radikaller membran lipitlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makromoleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açtığı ve hücrel hasar meydana getirdiği bilinmektedir (Özcan, 2015).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller, *reaktif oksijen türleri (ROT)*, reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır (Yu, 1994). Memelilerde bulunan serbest radikallerin O₂ kaynaklı serbest radikaller olduğu bilinmektedir (Wu ve Cederbaum, 2003).

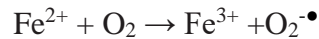
1.3.1.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Biyolojik sistemlerdeki serbest radikaller en çok, son yörüngesinde iki tane eşlenmemiş elektron bulunan O₂ kaynaklıdır. Canlı sistemlerdeki ROT'lara ; Süperoksit radikali (O₂^{•-}), Hidrojen peroksit (H₂O₂), Hidroksil radikalleri (OH[•]), Singlet oksijen (O₂), Nitrik oksit (NO) radikallerini verebiliriz (Yu, 1994).

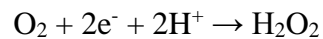
Süperoksit radikali (O₂^{•-}): Aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda O₂^{•-} radikali oluşurlar. Direkt olarak kendisi zararlı olmasada hidrojen peroksit kaynağı olmasından dolayı zararlı bir radikaldir.



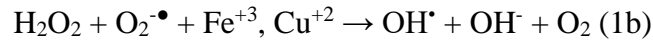
Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (Valko vd., 2005).



Hidrojen peroksit (H₂O₂): O₂ molekülünün diğer moleküllerden enzimatik şekilde iki elektron alması sonucu oluşur. Serbest radikal olmadığı halde ROT kapsamına girer ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Geçiş metalleri veya Fe²⁺ varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının (O₂^{•-}) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH[•]) oluşturur (Gutteridge, 1995).

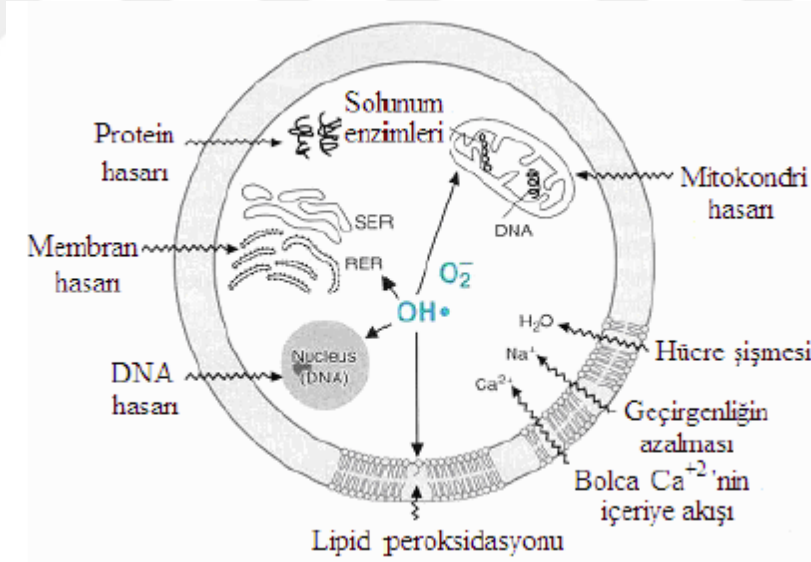


Hidroksil radikalleri (OH•): Son derece reaktif radikallerdir, yarılanma ömrü 9-10 saniye olup oldukça kısadır ve ROT'ların en güçlüsüdürler (Ayala, 2014). Hidroksil radikali, geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu (1a) ve süperoksit radikalının varlığında Haber-Weiss reaksiyonu (1b) sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (Moncada, 1991; Jomova ve Valko, 2011).



1.3.2. Serbest Radikallerin Vücut Üzerine Etkileri

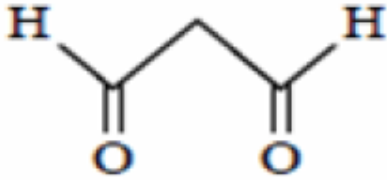
Serbest radikaller hücrelerde, başta membran lipitleri olmak üzere, proteinler, nükleik asitler, karbohidratlar ve enzimlerin yapısında ve aktivitesinde bozulmalara ve olumsuzluklara neden olurlar (Şekil-5). Bu olumsuzlukların sebebi serbest radikallerin aşırı artışı ve/veya antioksidan sisteminin yetersiz kalması durumlarıdır (Kavas, 1989).



Şekil 5. Serbest radikallerin neden olduğu hasarlar(Yaykaşlı, 2006)

1.3.2.1. Membran Lipitleri Üzerine Etkileri ve Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin neden olduğu en önemli olumsuz etki hücre membran lipitlerine yaptığı etkilerdir. Hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri serbest radikallerle reaksiyona girer ve lipid peroksidasyonuna sebep olurlar. Membranda varolan doymamış yağ asitleri ile $O_2^{\cdot-}$ radikalinin reaksiyona girerek L-OOH'u oluşturarak meydana gelen lipid peroksidasyon sonucu membran yapısı zarar görür ve doymamış yağ asitleri işlev göremez hale gelir. Membran akışkanlığında azalma ve hatta bozulmalar görülür. Lipitlerde meydana gelen hasar sonucu görülen lipid peroksidasyonunun en önemli belirteci *malondialdehit (MDA)*'tir. MDA (Şekil 6) üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelir. MDA hücrede bazı özelliklerin değişmesine veya işlevini kaybetmesine, iyon transport bozukluklarına, hücre bileşenlerinin agregasyonuna, nükleik asitlerle etkileşime girerek gen ve DNA diziliminde mutasyonlara neden olabilmektedir. Yağ asitlerinin oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörüdür. Lipid peroksidasyonu, L-OOH'lerinin aldehyd ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir. Hücrede MDA'nın tespiti için sıklıkla *tiyobarbitürikasit (TBA) testi* kullanılmaktadır (Erenel vd., 1992; Marnett, 2000; Moslen, 1994).



Şekil 6. MDA'nın kimyasal yapısı

1.3.2.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin radikallerden, etkilenme dereceleri, içerdikleri aminoasit bileşimine bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerden (triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein vb.) meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden daha çabuk etkilenirler. Proteinlerin radikallerle reaksiyona girmesi sonucu karbon merkezli

radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelir. Bu karbon merkezli radikallerden karbonillerin ölçülmesi ile proteinlerde meydana gelen oksidatif hasar ölçülebilir (Akkuş, 1995).

1.3.2.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu peroksitler, oksoaldehitler ve hidrojen peroksitler oluşmaktadır (Maxwell, 1995).

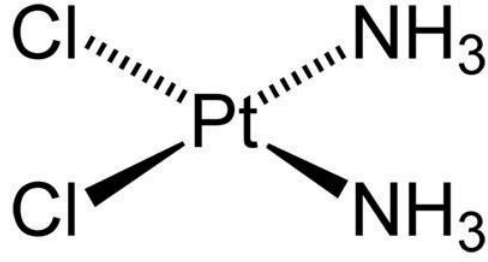
1.3.2.4. DNA Üzerine Etkileri

Serbest radikaller DNA üzerinde mutasyonlara, DNA zincirinin yarılmasına, DNA-protein çapraz bağlarına sebep olabilmektedir. Serbest radikallerin DNA ile bu reaksiyonları geri dönüşümsüz DNA mutasyonlarına ve hücrenin ölümüyle sonuçlanmaktadır. Kanser ve bazı genetik hastalıkların patogenezinde sorumludurlar (Marnett , 2002).

1.4. Cisplatin

Cisplatin, *cis-diaminodikloroplatinum (II)* olarak da adlandırılan ve ilk olarak 1844'te M. Peyrone tarafından sentezlenmiş ve kimyasal yapısı ilk olarak 1893'te Alfred Werner tarafından açıklanmıştır. Bu bileşik hakkında 1960'lı yıllara kadar bilimsel araştırmalar yapılmamıştır. 1960 yılında Rosenberg ve arkadaşlarının ilk gözlemleri, platin ağ elektrotlarının bazı elektroliz ürünlerinin *Escherichia coli*'de hücre bölünmesini engelleyebildiğini ve bu ürünlerin kanser kemoterapisinde muhtemel kullanımında büyük ilgi yaratacağını belirtmişlerdir (Dasari ve Tchounwou, 2014).

Cisplatin, merkezdeki iki değerlikli platin atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor bağı içerir (Şekil 7). Bileşiğin *cis* ve *trans* olarak iki izomerinden sadece *cis* formu sitotoksiktir (Olinski vd., 1987).



Şekil 7. Cisplatin'in kimyasal yapısı (Lebwohl ve Canetta, 1998)

Etki şekli, DNA üzerindeki pürin bazlarla çapraz bağlanma, DNA onarım mekanizmalarına müdahale etme, DNA hasarına neden olma ve ardından kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye kabiliyeti ile bağlantılıdır (Dasari ve Tchounwou, 2014).

Cisplatinin antineoplastik etki mekanizmasının DNA üzerindeki etkisi, pürin bazlarla özellikle Guanin bazının oldukça reaktif olan 7. azot atomuyla kolayca tepkimeye girerek birçok zincir içi ve zincirler arası çapraz kovalent bağlar oluşturarak hücre siklusunu G₂ fazında durdurması ve apoptozisi tetiklemesi şeklinde açıklanmıştır. Cisplatin en sık DNA zincirinde komşu guaninler arasında [*cis-platinum diamine-d(GpG)*] daha sonra guanin-adenin [*cis-platinum diamine-d(ApG)*] en az sıklıkta ise zincirler arası çapraz bağları oluştururlar (Welters vd., 1999).

Cisplatin, en çok bilinen ve kanser tedavisinde en çok kullanılan kemoterapötik ajanlardan birisidir. Mesane, baş ve boyun, akciğer, yumurtalık ve testis kanserleri dahil olmak üzere birçok kanser türünün tedavisinde kullanılmıştır (Dasari ve Tchounwou, 2014; Kayaalp, 1994; Antunes, 2001).

İlaç direnci ve şiddetli böbrek problemleri, alerjik reaksiyonlar, enfeksiyonlara karşı bağışıklık, gastrointestinal bozukluklar, kanama ve özellikle genç hastalarda işitme kaybı gibi sayısız istenmeyen yan etkiler, ilacın kullanımıyla ortaya çıkmaktadır. Renal, hepatik ve testiküler hasarın patogenezi genellikle ilacın kullanımıyla ortaya çıkan oksidatif stresin hasarına bağlanır. Bu hasar hücrelerde lipid peroksidasyonuna ve hücreleri oksidatif strese karşı koruyan enzimatik ve non-enzimatik antioksidan sistemlerin etkinliklerinin azalmasına neden olur (Welters, 1999).

Cisplatin'in diğer ilaçlarla kombinasyonuyla yapılan terapilerinin ilaç direncinin üstesinden gelmek ve toksisiteyi azaltmak için etkili olduğu düşünölmektedir (Dasari ve Tchounwou, 2014).

1.5. Antioksidanlar

Canlı organizmaların, hücrelerde serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek ve ortadan kaldırmak için geliştirdikleri savunma mekanizmalarına *antioksidan savunma sistemleri* ya da *antioksidanlar* denilmektedir. Bu mekanizmalar gerek serbest radikal üretimini engelleyerek, gerekse oluşan radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırarak etki göstermektedirler (Marnett, 2002; Murray vd., 2000).

Antioksidanlar, serbest radikallerle oldukça hızlı bir şekilde reaksiyona girerek ootoksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesini önlerler ve bu radikallerin toksik etkilerine karşı hücreyi koruyarak ve hastalıkları önleyerek çok önemli katkı sunarlar (Dündar ve Aslan, 1999; Pham vd., 2008).

Antioksidanlar üzerine yapılan birçok çalışma da hücrelerde serbest radikallerin yaptığı olumsuz durumlara karşı antioksidanların olumlu etkileri ortaya konulmuştur (Marnett, 2000; Gülçin vd., 2011).

Antioksidanlar kendi içerisinde endojenik ve eksojenik antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar. Endojenik antioksidanlar da enzimatik ve nonenzimatik olarak ikiye ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlara örnek olarak *Süperoksit dismutaz (SOD)*, *Katalaz (CAT)*, *Glutasyon S-Transferaz (GST)*, *Glutasyon peroksidaz (GPx)*, *Glutasyon redüktaz (GR)* gibi enzimsel antioksidanlar ve *Glutasyon (GSH)*, *melatonin*, *albümin*, *ferritin* ve *transferin* proteinleri gibi nonenzimatik antioksidanlar örnek verilebilir. Eksojen kaynaklı antioksidanlar ise *vitamin A*, *E*, *C* ve *folik asit* gibi dışarıdan besinle ya da ilaçla alınan antioksidanlardır (Karabulut ve Gülay, 2016).

Antioksidanların etki mekanizmaları 4 farklı şekilde özetlenebilir (Akkuş, 1995).

Toplayıcı Etki: Serbest radikalleri tutup onları etkisiz hale getirirler.

Bastırıcı Etki: Serbest radikallere H atomu vererek onları inaktif hale dönüştürürler.

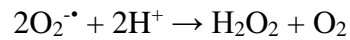
Onarıcı Etki: SOD enziminin serbest radikallerin tahribine karşılık onarıcı rol üstlenmesidir.

Zincir Kırıcı Etki: Serbest radikalleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak etkisiz hale getirirler.

1.5.1. Bazı Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

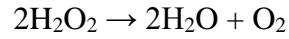
Süperoksit dismutaz enzimi süperoksit radikallerini ($O_2^{\bullet-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimlerdir. Hidrojen peroksit daha sonra CAT ya da GPx ile ortamdaki uzaklaştırılır (Young ve Woodside, 2001).



İnsanlarda SOD'un üç formu bulunur. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) sitozolde, manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) mitokondride ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD) hücre dışı sıvılarda bulunur (Sen ve Chakraborty, 2011; Young ve Woodside, 2001).

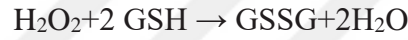
1.5.1.2. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyerek hücreleri H₂O₂'nin zararlı etkilerinden korurlar. Katalaz, büyük ölçüde peroksizomlar gibi hücre içi organellerde ve daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur (Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009).



1.5.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Katalaz gibi hücreleri hidrojen peroksitin zararlı etkilerine karşı korur. Ancak elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanır (Nordberg ve Arner, 2001).



1.5.1.4. Glutatyon Redüktaz (GRx)

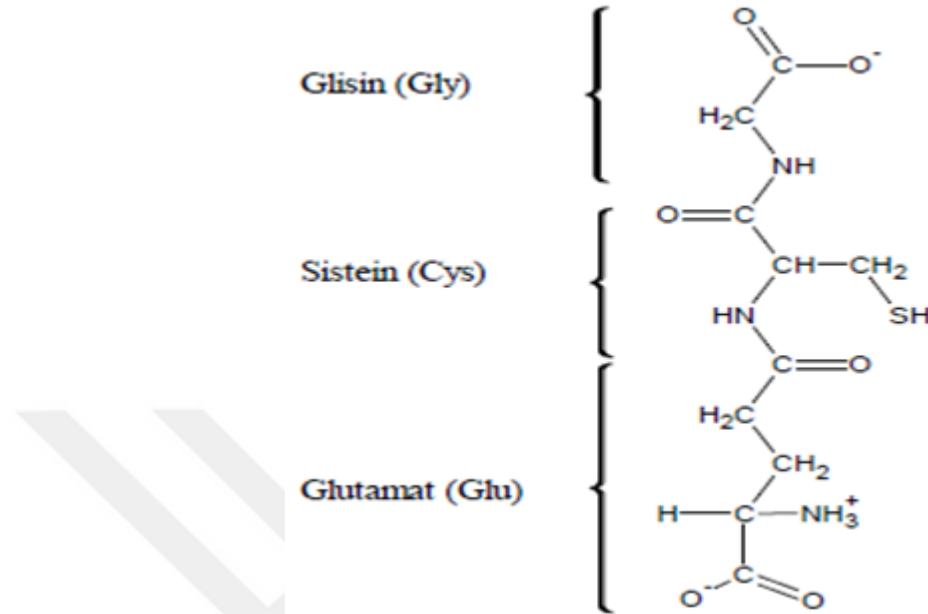
Glutatyon redüktaz, NADPH'nin bir elektronunu okside glutatyonun disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürülür. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir ve en önemli kaynağı heksoz monofosfat (pentoz fosfat) yoludur (Karabulut ve Gülay, 2016).



1.5.1.5. Glutatyon

Glutatyon, karaciğerde sentezlenen ve *L-glutamat*, *L-sistein* ve *glisinden* meydana gelen bir tripeptittir (Şekil 8). *İndirgenmiş hali (tiyol)* ve *okside olmuş hali (GSSG)*

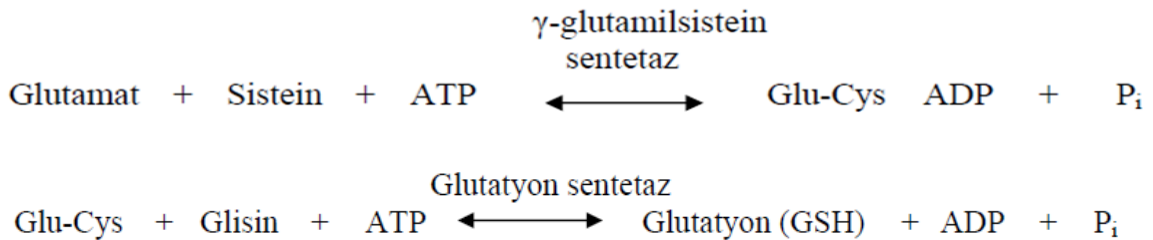
olarak iki formu bulunur ve bunlardan tiyol grubu antioksidan özelliğe sahiptir (Bati, 2013).



Şekil 8. Glutatyon'un kimyasal yapısı

Glutatyon, serbest radikallerle ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasara karşı korurlar. Hemoglobinin zararlı bir formu olan methemoglobine dönüşümünü de engeller (Arteel and Sies, 2001; Yılmaz vd., 2014).

GSH , *GSH sentetaz* enzimi ile üretilir ve iki basamaklı olarak gerçekleşir. İlk basamak, L-glutamat ve L-sisteinin *g-glutamil sistein sentetaz* enzimi ile katalizlenmesi ikinci basamak ise, GSH sentetaz enziminin g-glutamil sistein ve glisinlerden, glutatyon oluşturmasıdır (Şekil 9) (Kılıçgün, 2008; Koç, 2008).

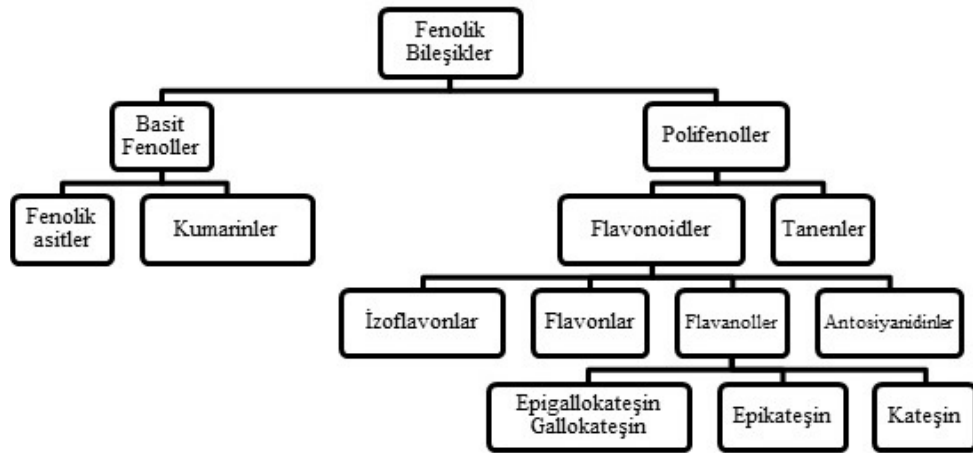


Şekil 9. GSH sentez reaksiyonları

1.6. Beyaz Çay

Çay (*Camellia sinensis*), çaygiller familyasından (*Theaceae*) nemli iklimlerde yetişen bitkinin yapraklarından elde edilmektedir. Farklı çeşitleri (siyah, yeşil ve beyaz) olmakla birlikte dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecektir. Dünyada ilk defa Çin ve Hindistan'da yetiştirilmeye başlanmıştır. *Camellia assamica* ve *Camellia sinensis* olmak üzere iki türü bulunmaktadır. Ülkemizde de bulunan *Camellia sinensis* uzun ömürlü, soğuğa dayanıklı ve küçük yapraklardan oluşur. Hindistan'ın Çin'e bakan Asam'da yetiştirilen *Camellia assamica* daha büyük, kısa ömürlü, tropik ve bol yağışlı yerlerde kolayca yetiştirilir. Yapılan çalışmalarla çayın, antioksidatif, antiinflamatuvar, antimutajenik, antikarsinojenik, antianjiyojenik, apoptotik, antiobezite, hipokolesterolemik, antiaterosklerotik, antidiabetik, antibakteriyel, antiviral, yaşlanmayı geciktirici gibi değişik farmakolojik etkileri olduğu gösterilmiştir (Üstün ve Demirci, 2013).

Yeşil çay kateşinlerinden epigallokateşin gallat (EGCG) (Şekil 10), *in vitro* ve deneysel obezite oluşturulan hayvan modellerinde adiposit farklılaşması ve çoğalması, lipogenez, yağ doku, vücut ağırlığı, yağ emilimi, plazma kolesterol, serbest yağ asidi, glukoz ve trigliserit düzeylerini azaltmaktadır. İlave olarak, lipoliz için temel mekanizmalar olan oksidasyon ve termogenezi ise uyarmaktadır (Wolfram vd., 2006; Richard vd., 2009).



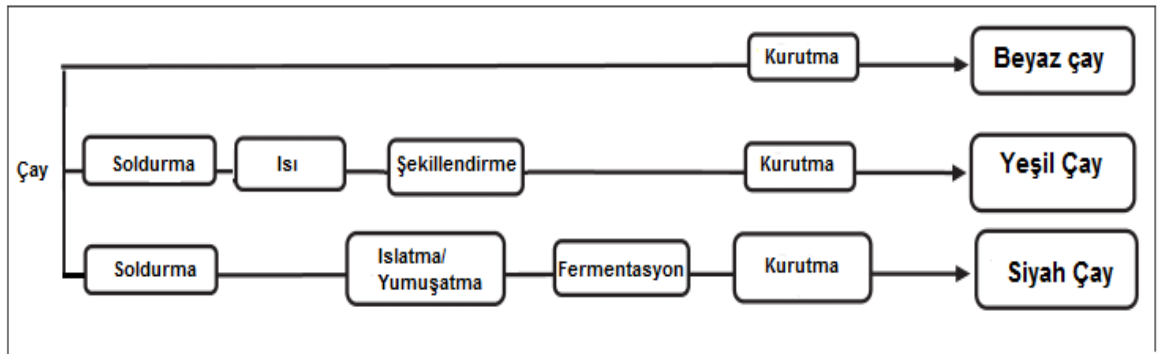
Şekil 10. Polifenol familyası içerisinde flavonoidler (Üstün ve Demirci, 2013)

Yeşil ve siyah çay insan sağlığı açısından çok yararlı olmakla birlikte beyaz çay en az üretilen ve antioksidan miktarı en fazla olan çay çeşididir. Beyaz çay, dünyanın en nadide ve pahalı çayı olarak erken bahar döneminde yılda sadece bir kez toplanan çay tomurcuklarından elde edilir. Tomurcuklar, beyaz çaya açık gri renk veren gümüş rengi tüylerle kaplıdır (Şekil 11). Beyaz çay demi açık sarı renklidir ve yeşil çaya özgü çimensi aromanın dışında hafif tatlı bir aroması vardır (Üstün ve Demirci, 2013).



Şekil 11. Beyaz çay (Fidan, 2017)

Diğer çaylara göre ısı ya da oksidasyon işlemine en az uğrayan türdür. Hasat edildikten sonra sadece soldurular kurutulur (Şekil 12). Bu nedenle içeriğindeki etken maddelerin kaybı çok azdır. Beyaz çay en yüksek antioksidan içeren çay çeşidi olarak bilinmektedir (Üstün ve Demirci, 2013).



Şekil 12. Çay üretim aşamaları (Hilal and Engelhardt, 2007)

Bütün çay tiplerinin analiz edildiği bir çalışmada predominant kateşin olan EGCG'nin en yüksek olduğu türün beyaz çay olduğu tespit edilmiştir (Zhao vd., 2011). Benzer şekilde Hilal and Engelhardt (2007). beyaz çayın EGCG değerini (8 g/100 g) yeşil çaydan (6,75 g/100 g) daha yüksek tespit etmişlerdir.

Dünya'da yapılmış olan birçok klinik deney, yüksek miktarda kateşin özellikle de EGCG içeren beyaz çayın bu bileşen ve diğer önemli çay bileşenleri sebebiyle insan sağlığına yararlarını şu şekilde sıralamışlardır: Beyaz çayda bulunan antioksidanların bir grubu olan flavonoidler, kanser hücrelerinin büyümesini engellediği ve yenilerinin oluşmasını önlediği, yine içerdiği antioksidanlar nedeniyle antibakteriyel, antiviral etkiye sahip olduğu, diğer bir antioksidan grubu olan kateşinlerin kolesterolü düşürdüğü bulunmuştur. Bunların yanı sıra beyaz çayın, dişleri daha güçlü ve sağlıklı yapan az miktarda florid ve diğer besin elementlerini içerdiği, kan basıncını düşürdüğü, kalbi koruduğu, kemikleri güçlendirdiği ve metabolizmayı hızlandırdığı bildirilmektedir (Üstün ve Demirci, 2013).

Sonuç olarak, tüm bu veriler ışığında çay bitkisinin antiinflamatuvar ve antioksidatif etkisi aracılığıyla hem koruyucu hem de düzenleyici etkisi olduğu ve bu etkiye aracılık eden en önemli bileşenlerin başında EGCG geldiği ifade edilmiştir. Yapılan literatür değerlendirmesinde beyaz çayın cisplatin ile indüklenen deneysel hepatoksisite modeli üzerine bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada ratlarda cisplatin ile indüklenen hepatoksisitede, kronik beyaz çay tüketiminin muhtemel koruyucu etkisi araştırılacaktır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. İstatiksel Analizler

Biyokimyasal analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 18.00 istatistik programı kullanılarak gruplar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık düzeyi için, tek yönlü varyans analiz testi (ANOVA), Mann Whitney U testi ve posthoc Tukey's LSD denemeleri yapılarak $p < 0.05$ olan istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart hata (Ort. \pm S.H.) olarak verildi.

İmmünohistokimyasal analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 18.00 istatistik programı kullanılarak parametrik olmayan veriler median ve standart deviation (maximum, minimum) şeklinde hesaplanarak gruplar arasında analizler için Kruskal Wallis ve Tamhane T2 testi kullanılarak analiz edilmiştir. $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

2.2. Etik Protokoller

Bu çalışmanın etik protokolleri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığının 27.02.2019 tarihli 2019/12 Karar No'suyla alındı ve araştırmada tüm etik protokollere uyuldu.

2.3. Beyaz Çay Örneklerinin Temini

Çalışmada kullanılan beyaz çay örnekleri ÇAYKUR Genel Müdürlüğü'nün 2017 yılı bahar döneminde Rize ilinden hasat edilen beyaz çay sürgünlerinden elde edilmiştir.

2.4. Deney Hayvanları

Araştırmada 250-300 g arası 12-14 haftalık 24 adet Sprague Dawley ırkı dişi rat kullanıldı. Deney hayvanları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edildi. Sıçanlar her kafeste 8 hayvan olacak şekilde şeffaf polietilen kafeslerde barındırıldı ve ad libitum beslenme sağlandı. Adaptasyon amacıyla ratlar 1 hafta önce ısısı $23(\pm 2)$ °C, ışığı 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık foto periyotta ve nemi %55 ($\pm 5\%$) yapay olarak kontrol edilen odalara alındı. Adaptasyon aşamasından sonra Tablo 1’de gösterildiği gibi her grupta 8 hayvan olacak şekilde 3 farklı deney grubu oluşturuldu.

Gruplar sırasıyla:

Grup 1: Kontrol Grubu (K); herhangi bir işlem yapılmayan sadece çeşme suyu verilen grup.

Grup 2: Cisplatin Grubu (CP) belirlenen dozlarda cisplatin verilen grup.

Grup 3: Beyaz Çay (BÇ, % 0.5, içme suyuna) + Cisplatin (BÇ + CP) grubu şeklinde oluşturuldu.

Tablo 1. Hayvan deney grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Grup Başına Hayvan Adeti	Tekrar Sayısı	Kullanılan Toplam Hayvan Sayısı
Grup 1: Kontrol Grubu	8		8
Grup 2: Cisplatin Grubu	8	Tek doz	8
Grup 3: Beyaz Çay + Cisplatin Grubu	8	4 hafta	8
TOPLAM	24		24

2.5. Deneysel Uygulamalar

Ratlar rastgele benzer vücut ağırlıkları dikkate alınarak 3 gruba ayrıldılar. K grubuna çeşme suyu, Tablo 2’de gösterildiği gibi BÇ + CP grubuna ise 4 hafta süreyle içme suyuna %0,5 (w/v) oranında beyaz çay katıldı ve günlük olarak hazırlanarak sıçanlara verildi. 4 hafta sonra hem BÇ + CP grubuna hem de CP grubuna 7 mg/kg tek doz cisplatin intraperitoneal (İ.P.) olarak uygulandı. Ratların yüksek doz ketamin (1000 mg/kg) ve ksilazin eşliğinde sakrifiye edilmesi ile uygulama sonlandırıldı.

Tablo 2. Ratlara yapılan uygulamalar

Ajan	Doz	Veriliş yolu	Hacim	Veriliş sıklığı
Cisplatin	7 mg/kg	İ.P.	7 mg/kg	Tek doz
Beyaz Çay	% 0,5	İçme suyuna		4 hafta

2.5.1. Kan ve Doku Örneklerinin Toplanması

Kan örnekleri anestezi altındaki ratlardan intrakardiak sol ventrikülden girişimle elde edildi. Alınan kan örnekleri hızlı bir şekilde 3500 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri -20°C’de saklandı. Serum örneklerinde ALT, AST enzim aktiviteleri ölçülerek karaciğer fonksiyonları değerlendirildi. Ratlardan karaciğer dokuları alındı ve bu dokulardaki MDA ve GSH düzeyleri değerlendirildi.

2.5.2. Biyokimyasal İşlemler

Deneylerde kullanılan araç ve gereçler, ilaç ve kimyasal maddeler Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarından temin edilmiştir (Tablo 3; Tablo 4).

Tablo 3. Kullanılan araç ve gereçler

Cihaz Adı	Markası
Homojenizatör	TissueLyser II QIAGEN
Santrifüj	Thermo SCIENTIFIC Multifuge 3SR+
Eliza Okuyucu	Thermo SCIENTIFIC Multiskan GO
Eliza Yıkayıcı	Biotek ELX50/8
Su Banyosu	Memmert WNB 14
Etüv	Memmert UF 55
Hassas Terazı	ACCULAB
Manyetik Karıştırıcı	WiseStir MSH-20D
Otomatik Pipet	Brand, Socorex
pH Metre	HANNA HI 2210

Tablo 4. Deneylerde kullanılan ilaç ve kimyasal maddeler

Kimyasalın Adı	Markası
Di sodyum hidrojen fosfat (Na_2PO_4)	HIMEDIA
Tri sodyum sitrat ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	HIMEDIA
Potasyum klorid (KCl)	HIMEDIA
Sodyum di hidrojen fosfat, anhidrat (NaH_2PO_4)	HIMEDIA
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	Sigma-Aldrich
Ditiyobis 2 nitrobenzoik asit (DTNB)	Alfa Aesar
Asetik asit	MERCK
Redükte glutatyon (GSH)	Sigma-Aldrich
Tiyobarbitürik asit (TBA)	MERCK
Sodyum hidroksit (NaOH)	HIMEDIA
Hidroklorik asit (HCl)	MERCK
1,1,3,3 Tetrametoksipropan (TEP)	Fluka
Etanol	MERCK
Cisplatin	KOCAK

2.5.2.1. Homojenatların Hazırlanması

Karaciğer doku numuneleri 0,1 g tartıldı ve ağırlık/hacim oranı 1/10 g/mL olacak şekilde homojenizasyon tamponu içine alındı. Buz üzerinde ependorf tüplerinde korunan dokular daha sonra homojenizatör cihazında 30 frequency/second devirle 3 dakikada parçalandılar. Parçalanmış dokular +4°C'de 10 dk. boyunca 800 g'de santrifüj edildi. Santrifüj edilen dokuların süpernatantlarının biyokimyasal analizleri yapılması için alındı.

2.5.2.2. Malondialdehit (MDA) Tayini

MDA düzeyleri, tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonuna dayanan Ohkawa ve ark. (1979)'nın modifiye yöntemine göre önce standart grafiği kullanılarak spektrofotometrik yöntemle nmol/mL değerleri bulundu. Daha sonra doku başı verilerek nmol/g doku olarak çevrildi.

2.5.2.2.1. Kullanılan Çözeltiler

0,94 g NaH₂PO₄, 1,73 g Na₂HPO₄, 10,44 g KCl tartıldı, pH 7,4'e ayarlandı ve son hacim 1 litreye tamamlanarak doku homojenizasyon tamponu hazırlandı. 8,1 g SDS tartıldı ve 100 mL distile suda çözünerek %8,1'lik SDS hazırlandı. 50 mL asetik asit 50 mL distile suda çözüldürüldü ve hazırlanan %50'lik asetik asit çözeltisinde 0,8 g TBA çözülerek %0,8'lik TBA hazırlandı. 20 mL asetik asit pH 3,5'a ayarlandı ve 100 mL'ye tamamlanarak %20'lik asetik asit çözeltisi hazırlandı.

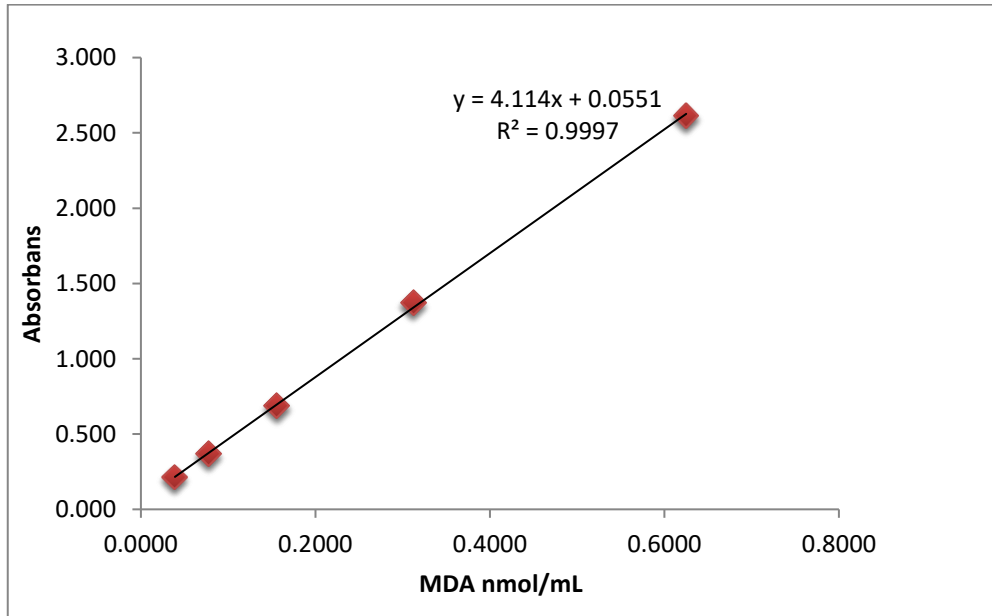
2.5.2.2.2. Deneyin Yapılışı

100 µL numune 100 µL tamponda 1:2 oranında ependorf tüpler içerisinde seyreltildi. Seyreltilen numunelerin içerisine 375 µL asetik asit, 375 µL TBA, 50 µL SDS çözeltileri eklendi ve sıcak su banyosunda çalkalayıcısı çalışır halde 1 saat inkübasyona bırakıldı. Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüj cihazında +4

°C’de 4000 rpm’de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen numunelerin süpernatantlarından alınan örnekler 532 nm’de absorbanları okutuldu ve standart grafiği (Şekil 13) kullanılarak hesaplamaları yapıldı.

2.5.2.2.3. Standart Çözeltilerin Hazırlanması ve Deneyin Yapılışı

Standart çözeltiler için 26µL MDA standardı (1,1,3,3 tetrametahidroksiopropan (TEP)) 10 mL etanole tamamlandı ve elde edilen 10mM stok MDA’dan seri dilüsyonlar yapılarak 10 nmol/mL, 5 nmol/mL, 2,5 nmol/mL, 1,25 nmol/mL, 0,625 nmol/mL, 0,3125 nmol/mL, 0,156 nmol/mL, 0,078 nmol/mL ve 0,039 nmol/mL olacak şekilde standart çözeltiler hazırlandı. 200 µL standart numunelere 375 µL asetik asit, 375 µL TBA, 50 µL % 8,1’lik SDS çözeltileri ependorf tüplere pipetlendi ve 10 dk sıcak su banyosunda inkübasyona bırakıldı. Sıcak su banyosundan çıkarılan tüpler santrifüj cihazında +4 °C’de 4000 rpm’de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilen standart numunelerin her birinden 100 µL alındı ve üzerlerine 500 µL distile su ilave edildi. Meydana gelen bu çözeltiden de 400 µL alındı 50 µL TBA ilave edilerek 532 nm’de absorbanları okutuldu ve standart grafiği çıkarıldı (Şekil 13).



Şekil 13. MDA standart grafiği

2.5.2.3. Glutasyon (GSH) Tayini

Bu yöntemdeki prensip, doku homojenatındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman reaktifiyle oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak sonucu vermesi prensibine dayanmaktadır (Ellman, 1959).

2.5.2.3.1. Kullanılan Çözeltiler

0,94 g NaH_2PO_4 , 1,73 g Na_2HPO_4 , 10,44 g KCl tartıldı, pH 7,4'e ayarlandı ve son hacim 1 litreye tamamlanarak doku homojenizasyon tamponu hazırlandı. 2,13 g Na_2HPO_4 tartıldı ve 50 mL distile suda çözülerek 0,3 M Na_2HPO_4 çözeltisi hazırlandı. %1'lik sodyum sitrat çözeltisi içerisinde 0,004 g DTNB reaktifi çözülerek 10 mL'ye tamamlandı ve Ellman ayırıcı çözeltisi hazırlandı.

2.5.2.3.2. Standart Çözeltilerin Hazırlanması

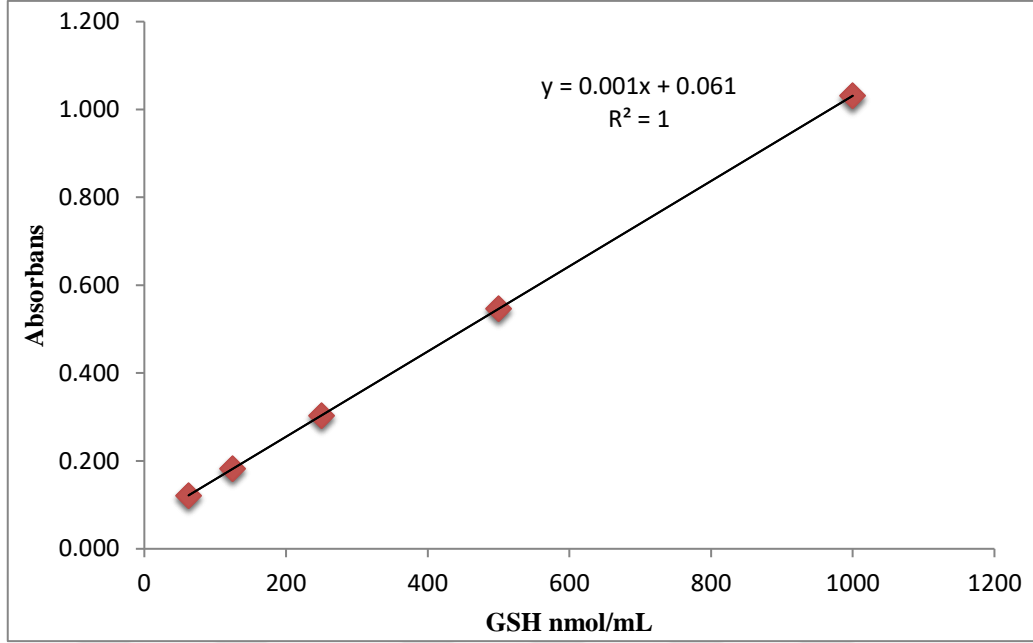
0,0061 g GSH standartı (L-glutasyon reduced) tartıldı ve 2 mL distile suda çözülerek 10.000 μM stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltilerden 1000 nmol/mL, 500 nmol/mL, 250 nmol/mL, 125 nmol/mL, 62,5 nmol/mL standart çözeltileri hazırlandı.

Tablo 5. Glutasyon tayini için pipetleme miktarları

	Numune	Standart	Kör
Tampon	-	-	25 μL
GSH Çözeltisi	-	25 μL	-
Dilüe Homojenat*	25 μL	-	-
Na_2HPO_4	100 μL	100 μL	100 μL
Ellman Ayırıcı	25 μL	25 μL	25 μL

*Spektrofotometrede sonuçlar okunabilir aralıklarda çıkabilmesi için homojenatlar 1:3 oranında dilüe (seyreltme) edilmiştir.

Gerekli çözeltiler eklenerek 412 nm dalga boyunda okutuldu. Standart grafiği kullanılarak hesaplamalar yapıldı (şekil 14). GSH düzeyleri doku başı verilerek nmol/g doku şeklinde tanımlandı.



Şekil 14. GSH standart grafiği

2.5.3. Aspartat Aminotransferaz Enzim Testi ve Test Prosedürünün İlkeleri

Örnekte bulunan AST amino grubunun, oksaloasetat ve L-glutamat oluşturmak üzere L-aspartattan α -ketoglutarata transferini katalize eder. NADH ve malat dehidrojenaz (MDH) varlığında oksaloasetat L-malata indirgenir. Bu reaksiyonda NADH, NAD^+ 'ye oksitlenir. Reaksiyon, NADH'ın NAD^+ 'ye oksitlenmesinden dolayı 340 nm'deki absorbans düşüş hızının ölçümü ile izlenir (2009, Abbott Laboratories).

2.5.4. Alanin Aminotransferaz Enzim Testi ve Test Prosedürünün İlkeleri

Örnekteki ALT varlığı amino grubunun, piruvat ve L-glutamat oluşturarak L-alaninden α -ketoglutarata transferini katalizler. NADH ve laktat dehidrojenaz (LD) varlığındaki piruvat L-laktata indirgenir. Bu reaksiyonda NADH, NAD^+ 'ye oksitlenir. Reaksiyon, NADH'ın NAD^+ 'ye oksitlenmesine bağlı olarak 340 nm'deki absorbans düşüş oranının ölçümü ile izlenir (2009, 2012 Abbott Laboratories).

2.5.5. İmmünohistokimyasal ve Histopatolojik Analizler

Bu hayvanlara 1 ay boyunca içme sularına beyaz çay ekstresi ilave edildi. 1 ay sonunda cisplatin intraperitoneal olarak uygulandı. 5 gün sonra laparotomi ile alınan farklı dokuları konvansiyonel ışık mikroskopik yöntemlerin yanı sıra, immünohistokimyasal ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Tüm gruptaki ratlardan alınan farklı dokular etiket kod numaraları ve grup adları verilerek içinde % 10'luk formaldehit bulunan ve ağzı sızdırmayan özel şişelere bırakıldı. Histopatolojik ve immünohistokimyasal boyama yapmak amacıyla alınan karaciğer dokuları rutin takip işlemlerden geçirilip bloklandı. Bloklanan dokular 4-5 mikron kesitlerinde kesilip hematoksilen-eosin, masson trikrom ve immünohistokimyasal analiz için Kaspaz-3 ile boyanıp uygun görülen yerler fotoğraflandı ve değerlendirildi.

2.5.5.1. Histopatolojik Analiz

Ratlardan elde edilen karaciğer dokuları hızlıca trimlendikten sonra %10 'luk formalin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) solüsyonu ile 36 saat boyunca fikse edildi. Rutin takip yöntemlerinden artan alkol serisi, şeffaflaştırma işlemlerinin ardından karaciğer doku örnekleri parafin ile bloklandı (Merck, Darmstadt, Germany). Elde edilen parafin bloklarından mikrotom (Leica, RM2125RT, Germany) ile alınan 4-5 µm kalınlığındaki kesitler hematoksilen (Harris hematoksilen, Merck, Germany) - Eosin (H&E) (Eosin G, Merck, Germany) ve Goldner's Masson trikrom ile boyandı (Merck, Darmstadt, Germany). Boyama işleminin ardından doku örnekleri ışık mikroskopunda (Olympus BX51, Olympus Corporation, Tokyo, Japan) incelenerek Olympus DP71 (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) kamera ile fotoğraflandı.

2.5.5.2. İmmünohistokimyasal Analiz

Apoptotik hepatositlerin belirlenmesi için kullanılan Kaspaz-3 primer antikorunun immünreaktivitesinin belirlenmesi amacıyla avidin-biotin-peroksidaz kompleksi yöntemi uygulandı. Parafin bloklardan 2-3µm kalınlığında elde edilen kesitler pozitif

şarjlı lamlara alınarak deparafinizasyon işlemini uygulandı. Bir sonraki aşamada endojen peroksidaz aktivitesini bloklamak amacıyla 15 dk boyunca %3'lük H₂O₂ solusyonu ile inkübe edildi. Zemin boyamasını engellemek amacıyla 20 dk seconder blocking solusyonu uygulandıktan sonra primer antikor (Caspase-3, Rabbit polyclonal, Abcam, United Kingdom), ile 60 dk inkübe edildi. Primer antikor uygulamasının ardından doku örnekleri sekonder antikor (Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP) (ab205718, Abcam, United Kingdom) ile inkübe edildi. Dokular üzerine diaminobenzidine chromogen (DAB Choromogen, Abcam, United Kingdom) solüsyonu damlatılarak ışık mikroskobunda görüntü sinyali elde edildi. Harris Hematoksilen ile (Merck, Darmstadt, Almanya) ile zıt olarak (*counterstaining*) boyaması yapılan dokular uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

3. BULGULAR

3.1. Biyokimyasal Bulgular

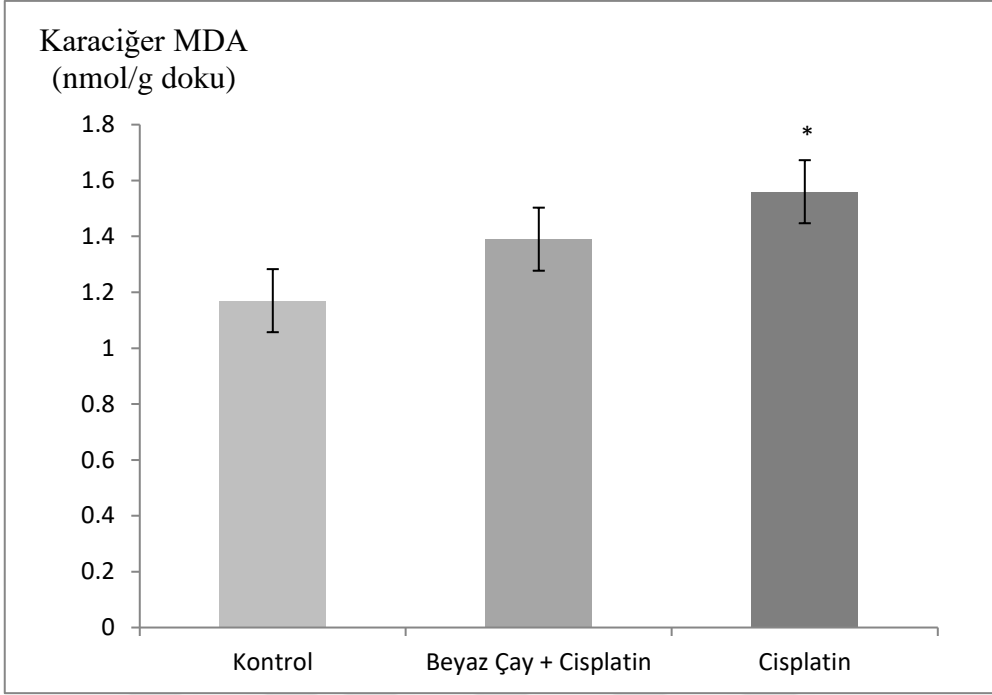
Tablo 6'daki biyokimyasal sonuçlar incelendiğinde kontrol grubuna (K) göre cisplatin grubu (CP) karaciğer doku MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiş ama beyaz çay+cisplatin grubu (BÇ + CP) doku MDA düzeylerinde CP grubuna göre düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 15).

Ayrıca K grubuna göre CP grubu doku GSH düzeylerinde istatistiksel olarak çok anlamlı bir artış gözlenmiş ama BÇ + CP grubu doku GSH düzeylerinde CP grubuna göre düşüş olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır (Şekil 16).

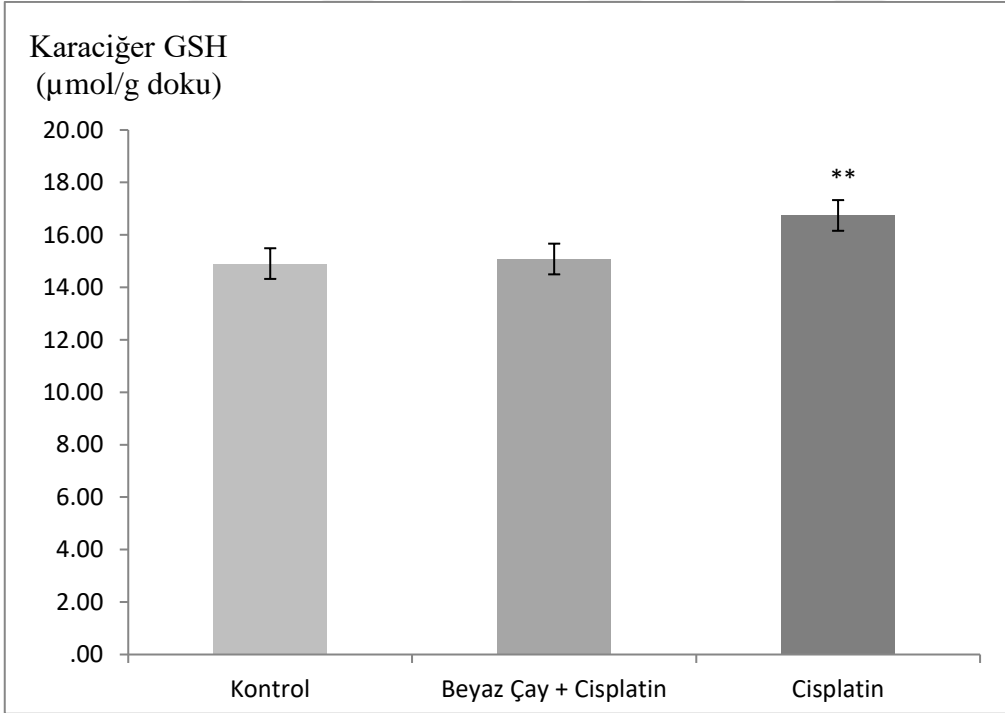
Tablo 6. Ratların karaciğer dokusundaki MDA ve GSH düzeyleri (Ort. \pm SH)

GRUP	KARACİĞER	
	MDA (nmol/g doku)	GSH (μ mol/g doku)
Kontrol	1,17 \pm 0,11	14,90 \pm 2,04
Cisplatin	1,56 \pm 0,26*	16,74 \pm 2,00**
Beyaz Çay + Cisplatin	1,39 \pm 0,39	15,08 \pm 1,38

Kontrol grubuna göre farklar önemlidir. *:p< 0,05, **:p<0,01



Şekil 15. Tüm gruplardaki karaciğer doku MDA (nmol/g doku) düzeyleri.
*: Kontrol grubuna göre fark önemlidir ($p < 0,05$).



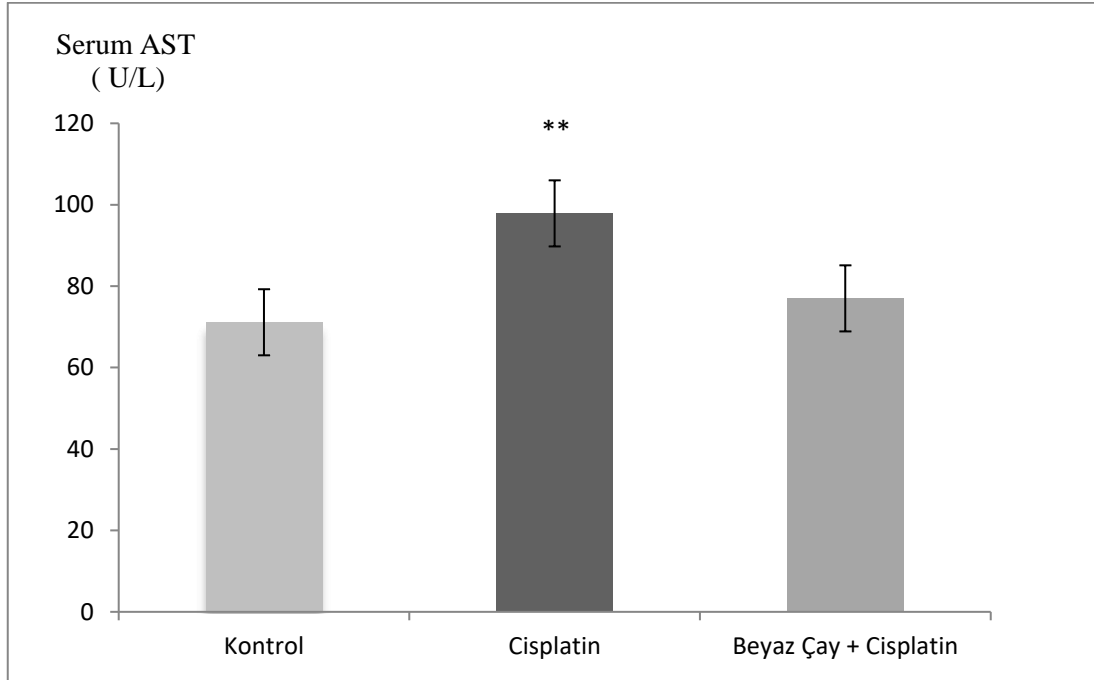
Şekil 16. Tüm gruplardaki karaciğer doku GSH (µmol/g doku) düzeyleri.
**: Kontrol grubuna göre fark önemlidir ($p < 0,01$).

Tablo 7'deki ratların serum AST ve ALT düzeyleri incelendiğinde K grubuna göre ratların serum AST değerleri CP grubunda anlamlı olarak çıkmış ancak BÇ + CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır. ALT düzeyleri de kontrol grubuna göre CP gruplarında anlamlı ancak BÇ + CP gruplarında istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (Şekil 17/Şekil 18).

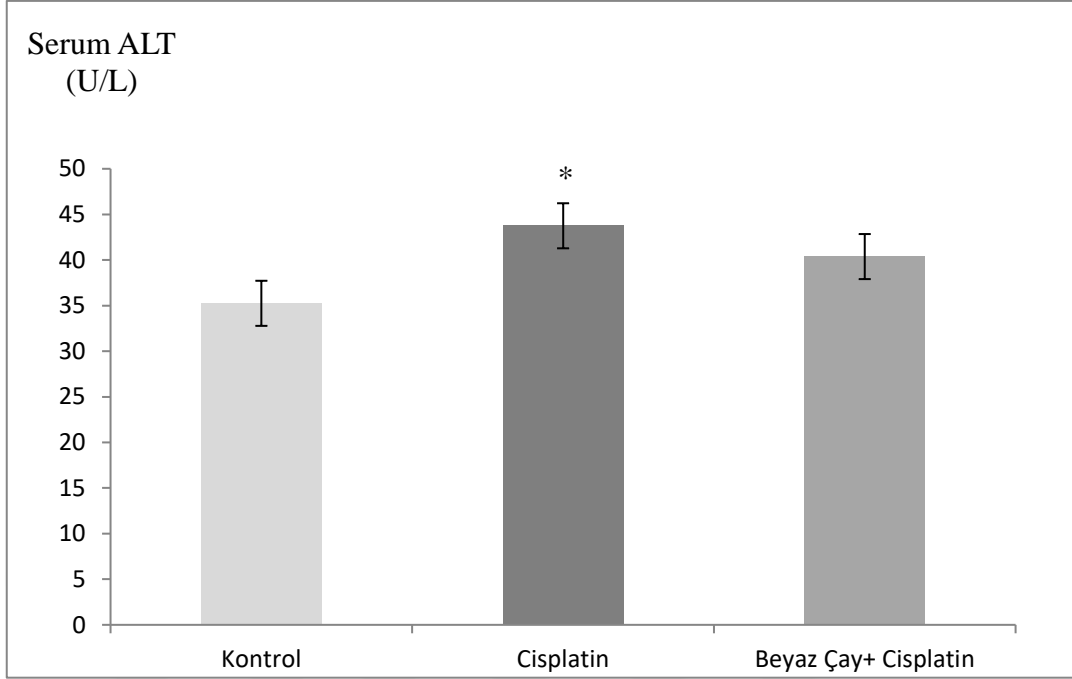
Tablo 7. Ratların serumlarındaki AST ve ALT düzeyleri

GRUP	SERUM	
	AST (U/L)	ALT (U/L)
Kontrol	71,13 ± 4,49	35,25 ± 4,89
Cisplatin	97,88 ± 7,20**	43,75 ± 7,61*
Beyaz Çay + Cisplatin	77,00 ± 6,21	40,38 ± 3,89

Kontrol grubuna göre farklar önemlidir. *: p<0,05, **: p<0,01



Şekil 17. Tüm gruplardaki serum AST (U/L) düzeyleri.
** : Kontrol grubuna göre fark önemlidir (p<0,01).



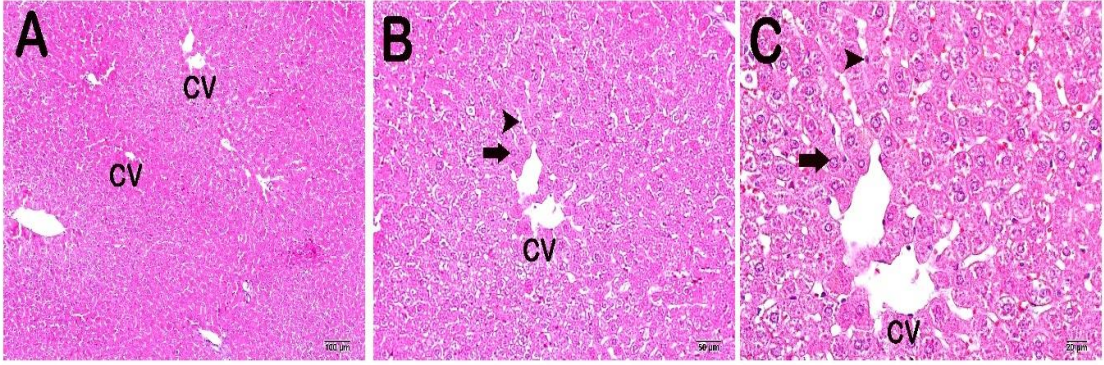
Şekil 18. Tüm gruplardaki serum ALT (U/L) düzeyleri.
*: Kontrol grubuna göre fark önemlidir ($p<0,05$).

3.2. Histopatolojik Bulgular

3.2.1. Hematoksilen ve Eosin Boyama

3.2.1.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Kontrol grubununa ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde karaciğer dokusunun normal yapıda olduğunu gözlemledik. Santral venin etrafındaki hepatositlerden oluşan remark kordonlarının ve sinüzoidlerin normal yapıda olduğunu izledik (Şekil 19).

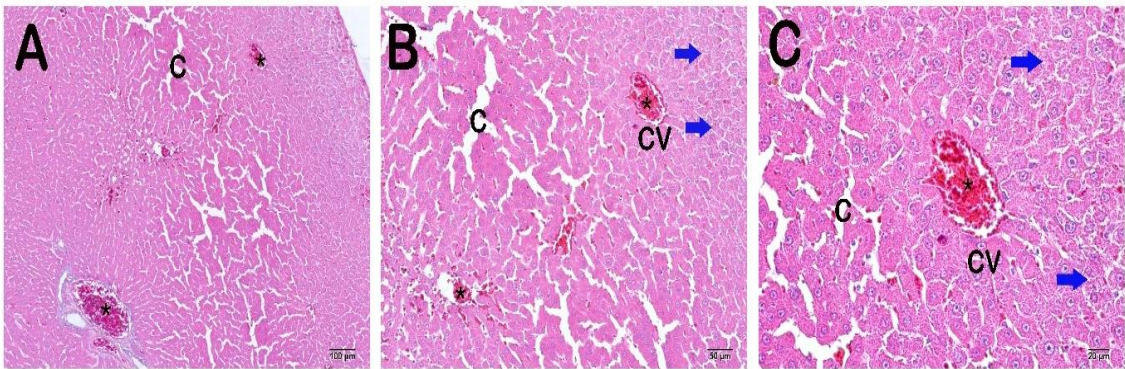


Şekil 19. H&E ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x 10)-B(x20)-C(x40); Kontrol grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında sağlıklı karaciğer dokusunda normal yapıdaki hepatositler (ok), sinüzoidler (ok başı) ve santral ven (CV) izlenmektedir.

3.2.1.2. Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelediğinde yaygın vasküler konjesyon, sinüzoidlerde dilatasyonlar gözledik. Bunların yanında çok sayıda nekrotik hepatositler izledik (Şekil 20).

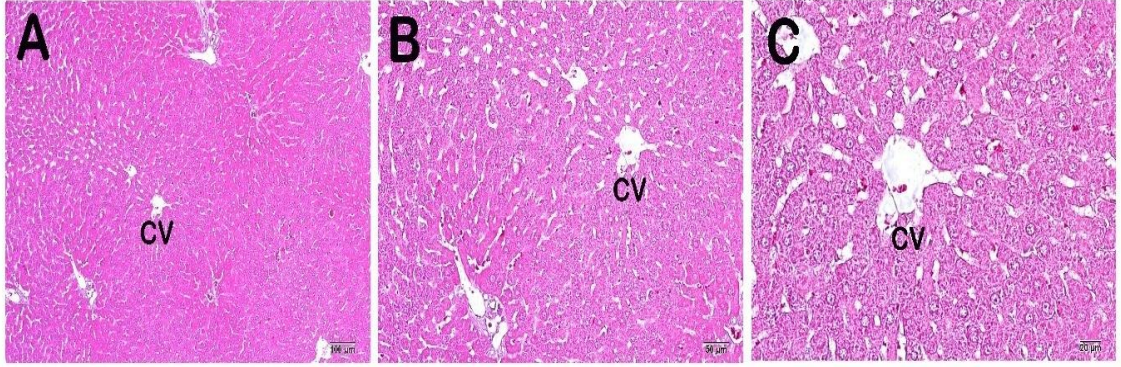


Şekil 20. H&E ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x 10)-B(x20)-C(x40); Cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın vasküler konjesyon (yıldız) ve sinüzoidal dilatasyonlar (c) gözlemlenmekte. Bununla beraber nekrotik hepatositlerde yaygın vakuolizasyonlar (mavi ok) izlenmektedir.

3.2.1.3. Beyaz Çay + Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Beyaz çay + cisplatin grubunun karaciğer dokusuna ait kesitlerinde vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlarda azalma olduğunu saptadık (Şekil 21).



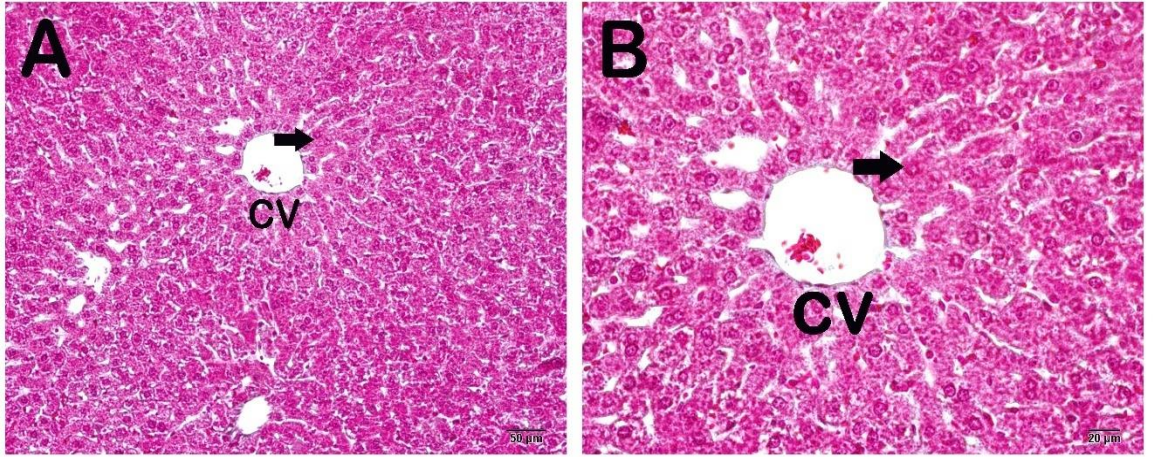
Şekil 21. H&E ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x 10)-B(x20)-C(x40); Beyaz çay + cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlarda azalma gözlemlenmekte.

3.2.2. Goldner's Masson Trikrom Boyaması

3.2.2.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelediğinde normal yapıdaki hepatositlerden oluşan remark kordonlarının normal yapıda olduğunu izledik (Şekil 22).

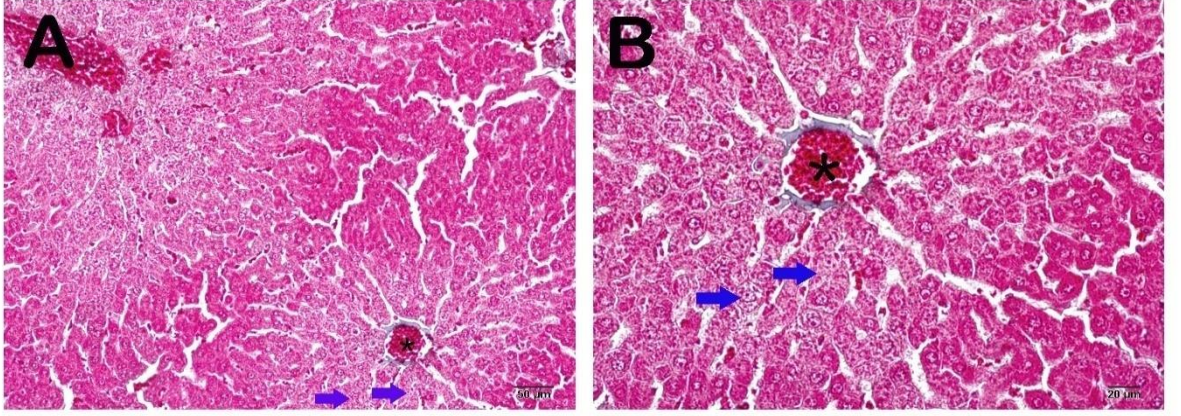


Şekil 22. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Kontrol grubuna ait kesitlerinde sağlıklı karaciğer dokusunda normal yapıdaki hepatositler ve santral ven (CV) izlenmektedir.

3.2.2.2. Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelediğinde yaygın vasküler konjesyon, sinüzoidlerde dilatasyonlar ve çok sayıda nekrotik hepatositler gözlemledik (Şekil 23).

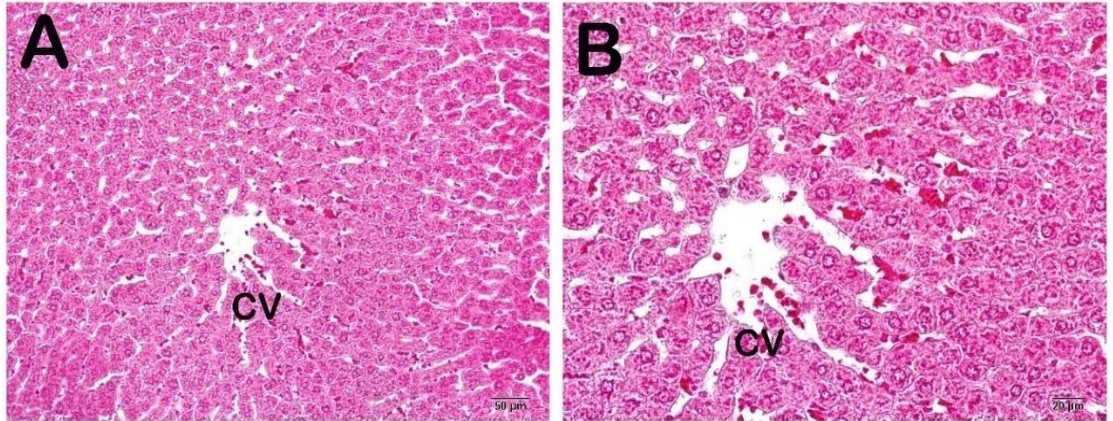


Şekil 23. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın vasküler konjesyon (yıldız) ve nekrotik hepatositlerde yaygın vakuolazisyonlar (mavi ok) izlenmektedir.

3.2.2.3. Beyaz Çay + Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Beyaz çay + cisplatin grubunun karaciğer dokusuna ait kesitlerinde vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlarda azalma olduğunu saptadık (Şekil 24).



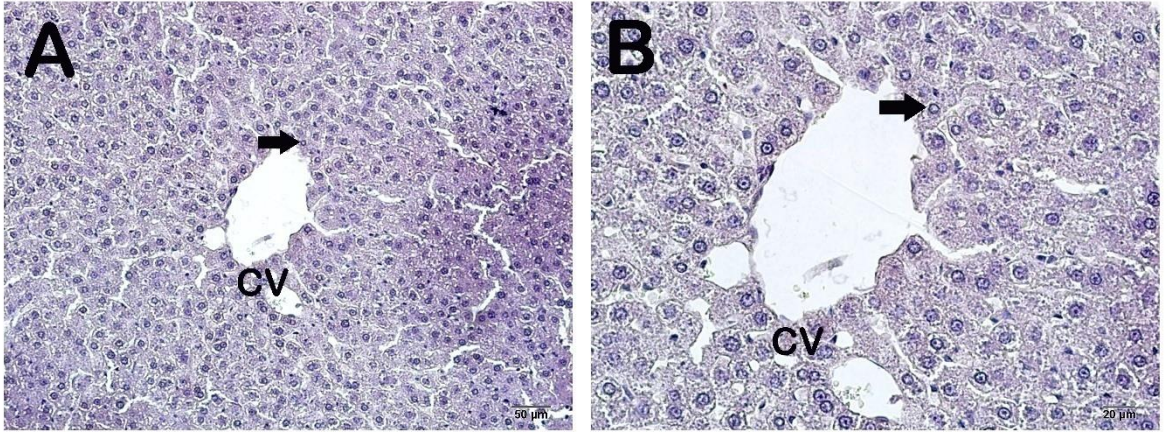
Şekil 24. Goldner's Masson trikrom ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Beyaz çay + cisplatin grubuna ait kesitler ışık mikroskobu altında incelendiğinde yaygın vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlarda azalma gözlemlenmektedir.

3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.3.1. Kontrol Grubuna Ait Bulgular

Kontrol grubunun karaciğer dokusuna ait kesitlerinde hepatositlerin normal yapıda olduğunu gözlemledik (Şekil 25).

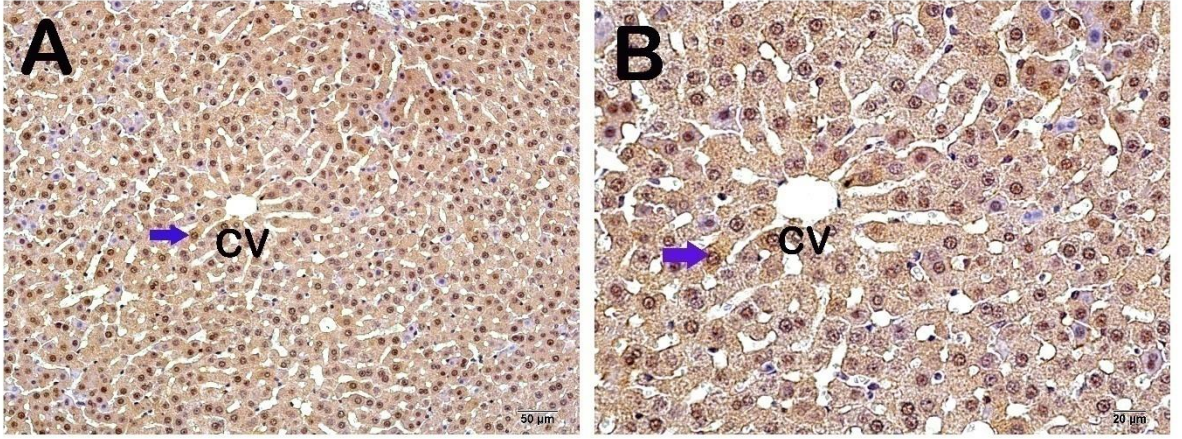


Şekil 25. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış kontrol grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskobik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Kontrol grubuna ait kesitlerin karaciğer dokusunda normal yapıdaki hepatositler (ok) izlenmektedir (Kaspaz-3 pozitivite skoru: 0.00 ± 0.35).

3.3.2. Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Cisplatin grubunun karaciğer dokusuna ait kesitlerde apoptotik hepatositler olduğunu gözlemledik (Şekil 26).

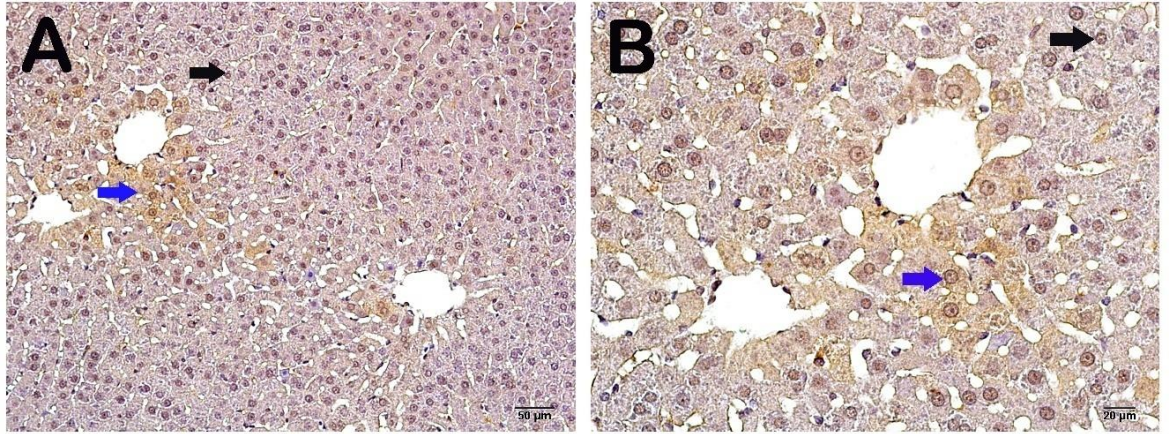


Şekil 26. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Cisplatin grubuna ait kesitlerin apoptotik hepatositler (mavi ok) izlenmektedir (Kaspaz-3 pozitivite skoru: 3.00 ± 0.46).

3.3.3. Beyaz Çay + Cisplatin Grubuna Ait Bulgular

Beyaz çay + cisplatin gruplarının karaciğer dokusuna ait kesitlerde apoptotik hepatositlerin (mavi ok) azaldığını saptadık (Şekil 27).



Şekil 27. Kaspaz-3 primer antikoru ile boyanmış beyaz çay + cisplatin grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüleri.

A(x20)-B(x40); Beyaz çay + cisplatin grubuna ait kesitlerde apoptotik hepatositlerin (mavi ok) sayısında azalmış olduğu gözlemlenmekte (Kaspaz-3 pozitifite skoru: 1.00 ± 0.46).

3.4. Semi-kantitatif Analiz

Kontrol grubunda 0.00 ± 0.35 olan Kaspaz-3 pozitifite skoru cisplatin uygulaması sonucunda 3.00 ± 0.46 'ya yükselmiştir ($p=0.00$; Tablo 9). Beyaz çay + cisplatin grubunda ise cisplatin uygulaması sonucu 3.00 ± 0.46 olan Kaspaz-3 pozitifite skoru 1.00 ± 0.46 'ya düşmüştür ($p=0.00$; Tablo 9).

Tablo 8. Kaspaz-3 pozitifite skorlama tablosu

Skor	Bulgu
0	%5'den daha az Kaspaz-3 pozitif hepatositler
1	%25'den daha az Kaspaz-3 pozitif hepatositler
2	%50'den daha az Kaspaz-3 pozitif hepatositler
3	%50 den daha fazla Kaspaz-3 pozitif hepatositler

Tablo 9. Semi-kantitatif analiz sonuçları (median±standart sapma)

Grup	Kaspaz-3 pozitifite skoru
Kontrol	0.00 ± 0.35
Cisplatin	3.00 ± 0.46^a
Beyaz Çay + Cisplatin	1.00 ± 0.46^b

^a $p=0.00$ Kontrol grubuna kıyasla,

^b $p=0.00$ Cisplatin grubuna kıyasla,

Kruskal Wallis -Tamhane's T2 test.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser tedavisinde kemoterapi, kanserin türüne veya hastalık aşamasına bakılmaksızın uygulanabilecek çok etkili bir tedavi yöntemi olmasına karşın (Matsuyama vd., 2006), dirençli kanser hücrelerinin ve kemoterapötik ajanların yan etkileri, antikanser kemoterapisinin uygulanmasında sınırlayıcı faktörler olarak gösterilmektedir (Bartelink vd., 2002). En çok kullanılan kemoterapötik ajanlardan biri olan cisplatin kullanımı ile, nefrotoksisite, hepatotoksisite, ototoksisite, nörotoksisite, miyelosüpresyon, bulantı ve kusma gibi birçok yan etki ortaya çıkabilir (Arany ve Safirstein , 2003; Molmann vd., 1988). Nefrotoksisite ve hepatotoksisite yüksek doz cisplatin kullanımında ortaya çıkan ve doz sınırlandırılmasına sebep olan istenmeyen durumlardan bir tanesidir (Dos Santos vd., 2012; Koc vd., 2005).

Cisplatin kaynaklı nefrotoksisite çok iyi belgelenmiş olmasına karşın, hepatotoksisite hakkında çok fazla bilgiye sahip değiliz. Cisplatinin nefrotoksisitesi klinikte kullanılan dozlarda en sık karşılaşılan yan etkisidir. Hepatotoksisitesi daha az görülmektedir. Ancak, yüksek dozda CP'e maruz kalındığında hepatotoksisite de ortaya çıkabilmektedir. Karaciğer toksisitesinin sebebi olarak, karaciğerin birçok ilaç ve kimyasal madde metabolizmasının ana yeri olmasından dolayıdır. Cisplatin böbreklerden sonra en çok karaciğerde birikir ve bu da yüksek doz kullanımıyla beraber hepatotoksisiteye neden olur. Dolayısıyla da hepatik nekroz gelişebilmekte ve karaciğerde apoptotik lezyonlar görülebilmektedir. CP hepatotoksisitesine ilişkin literatür bilgisi sınırlı olup, mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Cisplatin kaynaklı hepatotoksisiteye sebep olarak cisplatinin hücrelerde oluşturduğu oksidatif stres olduğu düşünülmektedir (Martins vd., 2008; Zicca vd., 2002; Tarladaçalışır vd., 2005).

Cisplatin toksisitesini azaltmak veya ortadan kaldırmak amacıyla, cisplatin kullanımıyla eş zamanlı olarak verilen ilaçlar, cisplatin kökenli toksisiteyi azaltmaya yönelik olduğu bilinmektedir (Dasari ve Tchounwou, 2014). İlaçlara ilaveten takviye edici besinlerle bu toksisiteyi azaltmaya yönelik bir çok çalışma yapılmıştır (Nazıroğlu vd., 2004, Hockenbery vd., 2009; Ateşşahin vd., 2006).

Cisplatin toksisitesinin temelinde hücrelerde oksidatif hasarın indüklenmesi olduğu bilinmektedir. Ve bu durum lipit peroksidasyonuna, antioksidan enzim aktiveleri değişikliklerine ve hücrelerde DNA hasarına neden olur (Yılmaz vd., 2004; Martins vd., 2008; Dos Santos vd., 2012; Sadzuka vd., 1992). Canlı metabolizmasında oksidatif hasarın sebebi olan serbest radikalleri denge halinde tutan ve onları zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidanların varlığı çok önemlidir. Bu dengenin serbest radikaller lehine bozulması demek, insan vücudunda bulunan karbohidratların, lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın zarar görmesi demektir. Bu da insan sağlığı açısından başta kanser, kalp-damar hastalıkları ve diyabet gibi birçok olumsuz durumun sebebi olarak karşımıza çıkmakta ve antioksidan sistemler bu olumsuz durumu ortadan kaldırmaya çalışmaktadırlar (Karabulut ve Gülay, 2016; Karaman, 2008).

Oksidatif hasarın hücre membranlarının lipitlerinde meydana getirdiği olumsuzluklar sonucu oluşan lipit peroksidasyonunun belirteci olan MDA'nın ve hücreleri oksidatif hasarın olumsuzluklarına karşı koruyan antioksidan sistemler içinde bulunan çok önemli bir non-enzimatik antioksidan olan GSH'ın ölçülmesi bizlere karaciğer doku hasarları için bir takım bilgiler vermektedir (Blumberg, 2004; Tukoşkan vd., 2006). Cisplatinin neden olduğu oksidatif stresle ilgili çok sayıda çalışma vardır. Bunlardan bazılarına bakacak olursak, yapılan çalışmalarda (Nazıroğlu vd., 2004; Ateşşahin vd., 2005; Karahan v. d., 2005; Martins vd., 2008) cisplatin ve cisplatin gibi toksik etkisi olan maddelerin doku MDA seviyelerini artırdıkları bulunmuş ancak doku GSH seviyeleri ve antioksidan enzim aktiviteleri halen daha tartışmalı olarak kalmaktadır. Bazı çalışmalarda (Iraz vd., 2006; Sugiyama vd., 1989; İşeri vd., 2007, Martins vd., 2008) cisplatinin doku GSH seviyeleri ve antioksidan enzim aktiviteleri azalırken, bazı çalışmalarda (Antunes vd., 2000; Mora vd., 2003; Nazıroğlu, 2004; Karahan vd., 2006) değiştirmediği ya da arttırabilecekleri bulunmuştur.

Çalışmamızda karaciğer doku MDA düzeyleri K gruplarına göre CP gruplarında yüksek bulunmuş BÇ + CP gruplarında bir miktar azalmalar gözlenmiştir. Çıkan sonuçlardan da anlaşılacağı üzere karaciğer doku MDA düzeylerinin cisplatin kullanımında arttığı, beyaz çay ile beslenen ratların oksidatif stresi bertaraf etmek için olumlu yanıt verdiği görülmüştür. Çalışmamıza bulgular düzeyinde yakın sonuçlar

çıkaran Karahan vd. (2006)'ın cisplatinin oksidatif hasarını likopen içeren besin takviyeleriyle değerlendirmiş, beyaz çay gibi likopen içeren besin takviyelerinin de tedaviye olumlu yanıt verdikleri gözlenmiştir. Cisplatinin oksidatif stresi üzerine yapılan çalışmaların neredeyse tamamında doku MDA düzeylerini artırdıkları bulunmuş, cisplatinin oluşturduğu bu olumsuz durumu ortadan kaldıracak besin takviyelerinden bazı olumlu sonuçlar alınmıştır.

Antunes vd. (2000)'un doza bağlı olarak yaptıkları, ratlarda cisplatin kaynaklı nefrotoksisite ve lipit peroksidasyonuna karşı C vitaminin koruyucu etkisi adlı çalışmalarında, eksojen kaynaklı non-enzimatik antioksidan olan C vitaminin artan dozuyla paralel olarak düşen enzim aktiviteleri ve yükselen karaciğer MDA düzeylerinde iyileşmeler olduğu görülmüştür. Bu da bizlere cisplatin kaynaklı oksidatif stresi bertaraf etmek için antioksidan desteklerinin dozuyla da bağlantılı olabileceklerini göstermektedir. Bizim çalışmamızda beyaz çay dozuyla ilgili bir değerlendirme, çalışma olmaması beyaz çay konusunda çalışmaların devamını gerekli kılmaktadır.

Çalışmamızın karaciğer doku GSH düzeylerinde K gruplarına göre CP gruplarında artışlar izlenmiş BÇ ile beslenen ratların dokularında bu düzeylerde düşüşler gözlenmiştir. Bu bulgular bizlere cisplatinin karaciğer dokusunda oksidatif strese bağlı olarak MDA düzeylerinde artışlara sebep olduğu ve bu oluşan oksidatif stresi bertaraf etmek için karaciğer doku hücrelerinin antioksidan savunma sistemlerini uyararak GSH seviyelerini artırdıklarını düşündürmektedir. Karahan vd. (2006)'ın yaptıkları çalışmalarında da bizimkiyle paralel olarak cisplatin gruplarında doku GSH düzeyleri artış göstermiştir. Bu da bizim cisplatinin meydana getirdiği olumsuz durumu ortadan kaldırmak için dokuların sahip oldukları antioksidan savunma sistemlerini uyardıkları görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızın cisplatin kullanımıyla paralel olarak artış gösteren karaciğer doku MDA düzeyleri ve bu toksik etkiye karşılık antioksidan sistemleri uyarılmasıyla yükselen karaciğer doku GSH düzeyleri, tedavi edici beyaz çay kullanımıyla beraber düşüşler göstermiştir. Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeylerinin beyaz çay kullanımıyla düşmüş olması bizlere beyaz çayın antioksidan özelliğinin olduğunu

göstermektedir. Ancak GSH düzeylerinin beyaz çay kullanımıyla beraber CP gruplarına göre düşmesi bizlerin aklına bir takım sorular getirmektedir. Zaten antioksidan özelliğini bulduğumuzu düşündüğümüz beyaz çayın, GSH düzeylerini daha da artırması beklenirken aksine düşürmesi, cisplatin kullanımıyla beraber dokularda oksidatif hasarın sonucu olarak antioksidan sistemleri uyararak artan GSH düzeylerinin, tedavi edici beyaz çayın kullanımıyla cisplatin kaynaklı toksik etkiyi azaltıp bu antioksidan savunma mekanizması yanıtlarının azalttığını ve dolayısıyla GSH düzeylerinin düşürdüğünü düşündürmektedir.

Transaminazlardan alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat amino transferazlar (AST), hepatosit hücreleri tarafından üretilirler ve depolanırlar. Plazma düzeylerinin yüksek bulunması hepatositlerde meydana gelen hasarlara işaret etmektedir (Lu vd., 2002). Çalışmamızın rat serum karaciğer enzim (AST, ALT) düzeylerine bakacak olursak, K gruplarına göre CP gruplarında AST ve ALT düzeyleri artış göstermiş, tedavi grubu olan BÇ + CP gruplarında artan bu düzeylerde azalmalar gözlenmiştir. AST ve karaciğere özgü fonksiyonel enzim olan ALT düzeylerinin artışı cisplatin kaynaklı karaciğer doku hasarının bir göstergesidir. Doku MDA ve GSH düzeylerinde görüldüğü gibi serum AST ve ALT düzeylerinde de CP gruplarına göre BÇ + CP grubunda düşüşlerin görülmesi çalışmamızı serum ve doku düzeylerinin paralelliği adına desteklemektedirler. Martins vd. (2008)'in cisplatin üzerine yaptıkları çalışmalarında ratlara tek doz 10 mg/kg cisplatin uygulanmış ve 72 saat sonra sakrifiye edilmişlerdir. Çıkan serum AST, ALT sonuçlarında kontrol gruplarına göre cisplatin gruplarında ciddi artışlar gözlenmiştir. Bu da cisplatin kaynaklı hepatik hasarı ve dolayısıyla da hepatotoksisiteyi işaret etmektedir. Çıkan bu ciddi hepatoksisiteyi bizim çalışmamızla kıyaslayacak olursak cisplatin doz miktarı ve sakrifiye edilmiş süresinin farkı bu sonucu verdiğini düşündürmektedir. Bu da cisplatin uygulanacak bireylerde etkin bir doz sınırlandırılmasının hayati öneme sahip olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızın histopatolojik bulgularında, beyaz çay grubuna ait karaciğer dokusu kesitlerinde cisplatin gruplarına göre vasküler konjesyon ve sinüzoidal dilatasyonlarda azalma ve immünohistokimyasal bulgularda ise apoptik hepatositlerin beyaz çay grubunda cisplatin grubuna göre azaldıklarını gözlemledik. Histolojik bulgularla

beraber biyokimyasal sonuçları değerlendirdiğimizde bizlere, biyokimyasal analiz sonuçlarının BÇ + CP gruplarında cisplatin gruplarına göre görülen düşüşlerin beyaz çay kullanımının antioksidan savunma sistemlerine destek olduğu görüşünü güçlendirmektedir. Tarladaçalışır vd. (2005)'ın vitamin E ve C 'nin cisplatin hepatotoksitesisi üzerine etkilerinin histolojik olarak incelenmesi adlı çalışmalarında toplam 24 adet Wistar cinsi albino erkek ratlardan 6'şarlı 4 ayrı grup oluşturulmuş, kontrol grubu hariç diğerlerine 3 ay boyunca ayda bir kez 5mg/kg cisplatin intravenöz yolla verilmiştir. 3. ve 4. gruptaki ratlara her gün intramusküler yolla sırasıyla 5 (mg/kg) E vitamini, 8 (mg/kg) C vitamini verilmiş ve deney süresi sonunda karaciğer dokuları histolojik olarak incelenmiştir. İncelenen histolojik bulgulara göre farklı özelliklere sahip antioksidanların cisplatin türevli hepatotoksitesisinin azalmasına yardımcı oldukları görülmüştür. Bizim histolojik bulgularımızda da, Vitamin E ve C antioksidanlarının gösterdikleri tedavi edici bulgular gibi beyaz çay ekstraktları verilen ratların cisplatin kaynaklı apoptotik hepatositlerde azalmalar gözlenmiştir. Bu da bize beyaz çayın sahip olduğu antioksidan özelliğinin enzimatik ya da non-enzimatik antioksidanlar kadar değerli olabileceği kanatını getirmektedir.

Koç vd. (2005)'un yaptıkları çalışmada cisplatine bağlı karaciğer hasarının histolojik incelemelerinde hücrelerin çevresinde santral venlerde değişimler, hepatoselüler vakuolizasyonlar ve sinüzoidal dilatasyonlar saptanmıştır. Mikroskopik incelemelerinde çeşitli kupffer hücre aktivasyonlarıyla, hepatositlerin dejenerasyonu ve sinüzoidlerin hafifçe genişlemesi ile karakterize bir tablonun şekillendiğini ortaya koymuşlardır. Bu ve diğer birçok çalışmada olduğu gibi cisplatin kaynaklı karaciğer hasarının doku düzeyindeki olumsuz görüntüsü çok net şekildedir.

Beyaz çay üzerine yapılan yakın zamanlı diğer çalışmalara baktığımızda Dhatwalia vd. (2019)'nın beyaz çay ve saf Epigallokateşin gallat (EGCG)'ın benzo (a) piren (BaP) kaynaklı pulmoner stres içerisindeki karşılaştırmalı etkinliğini açıklamak için yaptıkları çalışmada BaP işleminden önce, sırasında ve sonrasında içme sularına beyaz çay (%1) ekstresi ve belirlenen dozlarda saf EGCG muamele edildi. Stres biyobelirteçleri (LPO, PCC & ROS), antioksidan enzim (SOD, CAT, GSH, GST, GRx, GPx) aktiviteleri ve akciğer histo mimarisi gibi endeksler değerlendirildi Beyaz çayın

alveolinin bütünlüğünün korunmasında EGCG olarak eşit derecede faydalı olduğunu ve BaP'nin neden olduğu akciğer hasarı koşullarında düşük maliyetli ve koruyucu bir ajan olarak kullanılmak üzere potansiyel bir aday olduğunu gösterdiler.

Saral vd. (2019)'ın yaptıkları çalışmalarda beyaz çay infüzyonlarının sıçanlarda cisplatin tarafından oluşturulan böbrek hasarına karşı koruyucu etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle araştırdılar. 12-14 haftalık ve 250-300 g ağırlığındaki 24 dişi Sprague Dawley sıçanı kullanıldı. Sıçanlar üç gruba ayrıldı: K, CP ve CP + WT grupları. CP grubuna tek bir doz / sıçan olarak 7 mg / kg i.p yolla enjekte edildi. Beyaz çay 4 hafta boyunca % 0.5 (w/v) dozunda verildi. Deneyin sonunda kan üre azotu , kreatinin, ürik asit, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interlökin-6 (IL-6) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ile birlikte çalışmada böbrekteki kaspaz-3 değerlendirildi. CP grubunun kan üre azotunun, kreatinin, TNF- α , NF- κ B ve IL-6 seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiklerini buldular. TNF- α , NF- κ B ve IL-6 seviyeleri, CP + BÇ grubunda CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gösterdi. Tübül epitel hücrelerinde kaspaz-3 düzeyleri CP + BÇ grubunda CP grubuna göre azaldıklarını buldular.

Sonuç olarak, klinik tedavide cisplatinin kullanımını sınırlayan en belirgin faktörlerin başında nefrotoksisite ve arkasından hepatotoksisite gelmektedir. Yapılan çoğu çalışmada cisplatinin doz kullanımına da bağlı olarak artış gösteren bu toksik etkilere sebep, cisplatinin hücrelerde meydana getirdiği oksidatif stresin olumsuz durumlarının sonuçları olarak değerlendirmekteyiz. Yapılan çalışmamıza ve çalışmalara bakıldığında serbest radikallerin, antioksidan sistemler üzerine baskın gelerek oluşturduğu bu olumsuz durumu düzeltmenin yolu olarak, antioksidan sistemlere eksojen kaynaklı desteklerin verilmesini sağlamak olduğu görüşünü desteklemektedir. Cisplatin kaynaklı nefrotoksisite ve hepatotoksisiteleri ortadan kaldırmak ya da azaltmak amaçlı birçok çalışma ve bulguları bu görüşümüzü destekler mahiyettedir. 'Bütün maddeler zehirdir, zehirle ilacı birbirinden ayıran dozudur' diyen Paracelsus kaidesiyle cisplatinin sebep olduğu oksidatif hasarı minimuma indirmek ve maksimum fayda sağlamak amacıyla etkin bir doz sınırlandırılması yapılması da zaruri görülmektedir. Aynı zamanda oksidatif hasarı minimuma indirmek ve cisplatin kaynaklı

yan etkileri ortadan kaldırmak amaçlı ek takviye ilaç ve besinlerinde çok iyi seçilmesi gerektiğini düşünüyoruz. Beyaz çayın cisplatin kaynaklı karaciğer hasarında etkisinin olumlu olduğu kanatinde olmakla beraber beyaz çayın antioksidan özelliklerinin tam anlaşılabilmesi adına çalışmaların devamını gerekli görmekteyiz.



5. ÖNERİLER

Cisplatin kaynaklı karaciğer hasarının beyaz çay kullanımıyla beraber azaltılması üzerine yaptığımız deneylerde birkaç eksiklik göze çarpmaktadır. Hem sitotoksik bir ajan olan cisplatinin hem de antioksidan özelliğinden yararlandığımız beyaz çayın doza bağlı olarak etkileri ayrı ayrı ve detaylı olarak ele alınmalıdır. Yapılan çalışmalardan da görülmektedir ki doza bağlı hem yarar hem de zarar oldukça önemlidir.

Aynı zamanda K, CP ve BÇ + CP gruplarına ek olarak sadece beyaz çayla beslenen BÇ grubunun da eklenmesi, gruplar arasındaki farkları daha anlamlı ortaya koyacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda antioksidan sistemlerden sadece non-enzimatik antioksidan olan doku GSH düzeyleri değerlendirildi. GSH düzeylerinin cisplatin gibi toksik maddelere maruz kalan dokulardaki bulguları gibi enzimatik antioksidanlardan SOD, CAT, GST, GRx ve GPx gibi antioksidanların düzeylerinin belirlenmesi beyaz çayın antioksidan özelliğinin daha net belirlenebilmesi adına beyaz çay üzerine çalışmaların devamını gerekli görmekteyiz.

Cisplatinin olumsuz etkilerini azaltıcı olması yönünden ve insanın sürekli maruz kaldığı oksidan maddelere karşı beyaz çayın koruyucu etkisinden dolayı beyaz çayın kullanımını tavsiye etmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Akkuş, İ., 1995.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, 2. Baskı, 157s., 34-54.
- Aktümsek, A., 2006.** Anatomi ve Fizyoloji: İnsan Biyolojisi. Nobel Akademik Yayıncılık, 464 s., 90.
- Akyıldız, K., 2015.** Sıçanlarda Prenatal Dönemde 900 Mhz Elektromanyetik Alana Maruz Kalmanın Karaciğere Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 60 s., 18-22.
- Antunes, L.M., Darin, J.D. and Bianchi Nde, L., 2001.** Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res*, 43(2), 145-150.
- Antunes, L.M., Darin, J.D. and Bianchi, M.D., 2000.** Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res.*, Apr., 41(4), 405-411.
- Arany, I. ve Safirstein, R.L., 2003.** Cisplatin nefrotoksitesisi. *Semin. Nephrol.*, 23, 460-464.
- Arteel, G. E. and Sies, H., 2001.** The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (4), 153-158.
- Ateşşahin, A., Karahan, I., Türk, G., Gür, S., Yılmaz, S. ve Ceribaşı, A.O., 2006.** Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol.*, 42-47.
- Aydın, M., Selçoki, Y., Nazlı, Y., Yalçın, K.S., Canbal, M., Demirçelik, B., Yiğitoğlu, R. and Eryonucu, B., 2012.** Relationship between total antioxidant capacity and the severity of coronary artery disease. *J. Clin. Exp. Invest.*, 3(1), 22-8.
- Aynacıoğlu, A., Özkur, M., Nacak, M., ve Saracaloğlu, A., 2014.** Farmabul. Çukurova Nobel Tıp Kitabevi, 1. Baskı, 424 s., 135-150.
- Bartelink, H., Schellens, J.H. and Verheij M., 2002.** Katı tümörlerin tedavisinde radyoterapi ve kemoterapi kombine kullanımı. *Eur. J. Cancer*, 38, 216-222.
- Bati, B., 2013.** Etil Alkol ile Deneysel Oksidatif Stres Oluşturulan Sıçanlarda Ceviz İçinin (*Juglans regia L.*) Karaciğer Koruyucu ve Antioksidan Rolünün Belirlenmesi. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye, 130 s., 6.

- Baykara, O., 2017.** Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, Aralık, 154-165.
- Berlett, B.S. and Stadtman E.R., 1997.** Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. J. Biol. Chem., 272, 20313-20316.
- Blackadar, C.B., 2016.** Historical review of the causes of cancer. World J. Clin. Oncol., 7(1), 54-86.
- Blumberg, J., 2004.** Use of biomarkers of oxidative stress in research studies. The Journal of nutrition, 134 (11), 3188-3189.
- Burtis C.A. and Ashwood, E.R., 1994.** Tietz Textbook of Clinical Chemistry. WB Saunders, 2nd Edition, 790-1.
- Carola, R., Harley J.P. and Noback, C.R., 1992.** Human Anatomy and Physiology. Mc Graw-Hill College, 1249 p., 604-608.
- Cuccherini, B., Nussbaum, S.J., Seeff L.B., Lukacs, L. and Zimmerman, H.J., 1983.** Stability of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities. J. Lab. Clin. Med., Sep., 102(3), 370-6.
- Dasari, S. and Tchounwou, P.B., 2014.** Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanism of a ction. Eur. J. Pharmacol, Oct. 5, 364-378. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.07.025.
- Dhatwalia, S.K., Kumar, M., Bhardwai, P. and Dhawan, D.K., 2019.** White tea - A cost effective alternative to ECGC in fight againts benzo (a) pyrene (BaP) induced lung toxicity in SD rats. Food Chem. Toxicol, Sep; 131:110551.
- Dokuyucu, R., Karateke, A., Gokce, H., Kurt, R.K., Ozcan, O., Ozturk, S., Tas, Z.A., Karateke, F. and Duru, M., 2014.** Antioxidant effects of erdosteine and lipoic acid in ovarian ischemia-reperfusion injury. Eur. J. Obstet Gynecol Reprod Biol., 183, 23-27.
- Dos Santos, N.A., Carvalho Rodrigues, M.A., Martins, N.M. and Dos Santos, A.C., 2012.** Sisplatin kaynaklı nefrotoksisite ve nefroproteksiyon hedefleri: güncelleme. Arch. Toksikol., 86, 1233-1250.
- Dündar, Y. ve Aslan, R., 1999.** Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi, 2(2), 134-142.
- Ellman, G.L., 1959.** Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys., 82, 70-77.
- Erenel, G., Erbaş, D. and Arıcıoğlu, A., 1992.** Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. Gazi medical journal, 3 (4).

- Fidan, M., 2017.** beyaz çay (*camellia sinensis* L.)'ın *drosophila melanogaster*'de bazı antineoplastiklerin neden olduğu mutajenik etki üzerine koruyucu etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Amasya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Amasya, Türkiye, 88s., 8.
- Friedman R.B. and Young D.S., 1989.** Effect of Disease on Clinical Laboratory Tests. Washington, DC: AACC Press:3-38-3-41.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G., 1991.** Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. Clin. Chem., Nov., 37(11), 1932-7.
- Gutteridge, J.M., 1995.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry, 41, 1819-1828.
- Gülçin, İ., Topal, F., Çakmakçı, R., Bilsel, M., Gören, A. C. and Erdogan, U., 2011.** Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis, and antioxidant properties of domesticated and 3 wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). Journal of food science, 76 (4).
- Hall, J.E., 2013.** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Nobel Tıp Kitapevleri, 12th Edition.
- Hilal, Y. and Engelhardt, U., 2007.** Characterisation of white tea Comparison to green and black tea. J. Verbr. Lebensm., 2, 414-421.
- Hockenberry, M.J., Hooke, M.C., Gregurich, M. And McCarthy, K., 2009.** Carnitine plasma levels and fatigue in children/adolescents receiving cisplatin, ifosfamide, or doxorubicin. J Pediatr Hematol Oncol., 31:664-669.
- Iraz, M., Ozerol, E., Gulec, M., Tasdemir, S., Idiz, N., Fadillioglu, E., Naziroglu, M. and Akyol, O., 2006.** Protective effect of caffeic acid penethyl ester (CAPE) administration on cisplatin-induced oxidative damage to liver in rat. Cell Biochem. Funct. 24(4), 357-361.
- İşeri, S., Ercan, F., Gedik, N., Yüksel, M. and Alican, I., 2007.** Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. Toxicology, 230 (2), 256-264.
- Jaeschke, H., 2000.** Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. Journal of gastroenterology and hepatology, 15(7), 718-724.
- Jomova, K. and Valko, M., 2011.** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. Toxicology, 283, 65-87.
- Karabulut, H. ve Gülay, M.Ş., 2016.** Antioksidanlar. MAE Vet. Fak. Derg., 1 (1).

- Karahan, İ., Yılmaz, S. ve Ateşşahin, A., 2006.** Ratlarda Cisplatin ve Gentamisin Kan İle Karaciğerde Oluşturdukları Oksidatif Stres Üzerine Likopenin Etkileri. F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 20(1), 39-43.
- Karaman, Ş., 2008.** Türkiye’de yetiştirilen bazı elma çeşitlerinin toplam antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan özellik gösteren başlıca bileşenlerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 12-19.
- Kavas, G. Ö., 1989.** Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 9 (1), 1-8.
- Kayaalp, O., 1994.** Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaası, 4. Cilt , 1555s., 1046-1047.
- Kayaalp, O., 1998.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan yayınları, 8. Baskı, 1. Cilt, 1555 s., 376-390.
- Kaynar, Ö., 2014.** Elit Güreşçilerde Antrenmanın Hipofiz Bezi Hormonları ve Karaciğer Enzimleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Spor Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye, 83 s., 26.
- Kılıçgün, H., 2008.** Kuşburnu İnfüzyonlarının Antioksidan Potansiyeli. Doktora Tezi. Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 97 s., 5-8.
- Kılınc, K. ve Kılınc, A., 2002.** Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi, 33, 110-118.
- Koc, A., Duru, M., Ciralik, H., Akcan, R. and Sogut, S., 2005.** Protective agent, erdosteine, against cisplatin-induced hepatic oxidant injury in rats. Mol. Cell. Biochem., Oct., 278(1-2), 79-84.
- Koç, A., 2008.** Antioksidanların Cep Telefonu ile Oluşturulmuş Testisküler Apoptozis ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri. Uzmanlık Tezi. Fatih Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 64 s., 2-5.
- Kongure, K., Ishizaki, M., Nemoto, M., Kuwano, H. and Makuuchi, M., 1999.** A comparative study of the anatomy of the rat and human livers. Journal of Hepato-Biliary-Pancreat Surgery, 6(2), 171-175.
- Lebwohl, D. and Canetta, R., 1998.** Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. Eur. J. Cancer, Sep., 34(10), 1522-34.
- Limon-Pacheco, J. and Gonsebatt, M.E., 2009.** The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. Mutat Res., 674(1-2), 137-147.

- Lu, K.L., Tsai, C.C., Ho, L.K., Lin, C.C. and Chang, Y.S., 2002.** Preventive effect of the Taiwan folk medicine *Ilex laevigata* var. *Oldhami* on a-nophthyl-isothiocyanate and carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Phytotherapy research*, 16, 45-50.
- Marnett, L.J., 2000.** Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, 21 (3), 361-370.
- Marnett, L.J., 2002.** Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*, 2002, 181: 219-222.
- Martins, N., Santos, N., Curti, C., Bianchi, M. and Santos, A. 2008.** Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. *Journal of Applied Toxicology*, 28 (3), 337-344.
- Matsuyama, R., Reddy, S. and Smith T.J., 2006.** Hastalar neden hayatının sonlarına doğru kemoterapi tercih ediyor? Kansere yakalananların bakış açısı gözden geçirildi. *J. Clin. Oncol.* 24, 3490-3496.
- Maxwell, S.R.J., 1995.** Prospect for use of antioxidant therapies. *Drugs*, 49(3), 345-61.
- Molmann, J.E., Glover, D.J., Hogan, W.M. and Furman, R.E., 1988.** Cisplatin neuropathy: Risk factors, prognosis, and protection by WR-2721. *Cancer*, 61, 2192-2195.
- Moncada, S., Palmer, R.M. and Higgs, E.A., 1991.** Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.*, 43, 109-142.
- Moore, K.L. and Agur, A.M.R., 2015.** *Temel Klinik Anatomi.* Güneş Tıp Kitapevi, 2. Baskı, A. Elhan (Ç. Ed.), 696 s., 192-203.
- Moore, K.L., and Dalley, A.F., 2007.** *Kliniğe Yönelik Anatomi.* Nobel Tıp Kitabevleri, Şahinoğlu K. (Ç. Ed.), 1136 s., 374-378.
- Moore, K.L., Dalley, A.F. and Agur, A.M., 2013.** *Clinically Oriented Anatomy.* Lippincott Williams & Wilkins, 7th Edition, 1160 p., 268-272.
- Mora, L.O, Antunes, L.M, Francescato, H.D. and Bianchi, M.L., 2003.** The effects of oral glutamine on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol. Res.*, 47, 517-522.
- Moslen, M.T., 1994.** Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis. *Free radicals in diagnostic medicine*, Springer, 17-27.
- Motor, S., Ozturk, S., Ozcan, O., Gurpinar, A.B. , Can, Y., Yuksel, R., Yenin, J.Z., Seraslan, G. and Ozturk, O.H., 2014.** Evaluation of total antioxidant status, total

- oxidant status and oxidative stres index in patients with alopecia areata. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 7, 1089-1093.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, 2000.** Harper's Biochemistry. McGraw-Hill Press, 25. Baskı, 927s.
- Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., ve Atilla, P., 2009.** Netter Temel Histoloji. Güneş Tıp Kitabevi, 486 s.,312-323.
- Naziroğlu, M., Karaoğlu, A., ve Aksoy, A.O., 2004.** Selenyum ve yüksek dozda vitamin E uygulaması sıçanlarda böbrek, karaciğer ve mercek dokularına karşı sisplatin kaynaklı oksidatif hasarı korur. *Toksikoloji*, 195, 221-230.
- Netter, F.H., 2010.** Atlas of Human Anatomy. Elsevier Health Sciences, 624 p., 5th. Edition, 277-279.
- Niu, Y., Na, L., Feng, R., Gong, L., Zhao, Y., Li, Q., Li, Y. And Sun, C., 2013.** *Aging Cell*, 12 (6), 1041-1049.
- Nordberg, J. and Arner, E.S., 2001.** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free radical biology and medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K., 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95, 351-358.
- Olinski, R., Wedrychowski, A., Schmidt, W.N., Briggs, R.C. and Hnilica, L.S., 1987.** In-vivo DNA-protein cross-linking by cis- and trans-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res.*, 47(1), 201-205.
- Ovalle, W.K. and Nahirney, P.C., 2009.** Netter Temel Histoloji. Güneş Kitabevi, 486 s., Müftüoğlu, S., Kaymaz F., ve Atilla, P. (Ç. Ed.), 312-323.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G. and Yönden, Z., 2015.** Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336. DOI: 10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545
- Pham-Huy, L.A., He, H. and Pham-Huy, C., 2008.** Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int. J. Biomed. Sci.*, 4(2), 89-96.
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Poli, A., Bausero, P. And Visioli, F., 2009.** Weight and plasma lipid control by decaffeinated green tea. *Pharmacol Res.*, 59(5), 351.
- Ruby S.G., Relber N.E. and Lonser R.E., 1988.** Preanalytical varition in alanine aminotransferase. *Clin Chem.*, 34(4), 744-5.

- Sadzuka, Y., Shoji, T., and Takino, Y., 1992.** Sisplatinin lipid peroksidasyona karşı koruyucu enzim aktivitelere etkisi. *Biochem Pharmacol.*, 43, 1872-1875.
- Saha, B. and Maity, C., 2002.** Alteration of serum enzymes in primary hypothyroidism. *Clinical chemistry and Laboratory Medicine*, 40(6), 609-611.
- Saral, S., Dokumacioglu, E., Mercantepe, T., Atak, M., Cinar, S., Saral, O., Yildiz, L., Iskender, H. and Tumkaya, L., 2019.** The effect of white tea on serum TNF- α /NF- κ B and immunohistochemical parameters in cisplatin-related renal dysfunction in female rats. *Biomed Pharmacother*, Apr, 112, 108604.
- Sen, S. and Chakraborty, R., 2011.** The Role of Antioxidants in Human Health. American Chemical Society, *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, Chapter 1, 1-37.
- Snell, RS., 2004.** Klinik Anatomi. Nobel Tıp Kitabevi, Yıldırım, M. (Ç. Ed.), 544 s., 332.
- Solomon, EP., 1997.** İnsan anatomisi ve fizyolojisine giriş. Birol Kitabevi, 274 s.
- Sugiyama, S., Hayakawa, M., Kato, T., Hnaki, Y., Shimizu, K. and Ozawa, T., 1989.** Adverse effect of anti-tumor drug, cisplatin, on rat kidney mitochondria: Disturbances in glutathione peroxidase activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 159, 1121-1127.
- Şahin, D.Y., Elbasan, Z., Gür, M., Türkoğlu, C., Özaltun, B., Sümbül, Z. and Çaylı, M., 2012.** Relationship between oxidative stress markers and cardiac syndrome. *X. J. Clin. Exp. Invest.*, 3, 174-180.
- Şen, B., 2015.** Sıçanlarda Sisplatinin Neden Olduğu Karaciğer Hasarına Kurkuminin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziantep Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep, Türkiye, 51 s., 4-13.
- Tarladaçalışır Topçu, Y., Uygun, M., Akpolat, M. Ve Uz, Y.H., 2005.** E ve C Vitaminlerinin Cisplatin Hepatotoksisitesini Önlemedeki Etkilerinin Histolojik Olarak İncelenmesi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(3), 124-131.
- Tukoşkan, N., Erdamar, H. and Seven, I., 2006.** Measurement of total malondialdehyde in plasma and tissues by high-performance liquid chromatography and thiobarbituric acid assay. *Firat Tıp Dergisi*, 11 (2), 88-92.
- URL-1, 2019.** <https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/kanser-nedir-belirtileri> (15 Nisan 2019).
- URL-2, 2019.** <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdab/istatistik/2009kanserraporu-1.pdf> (15 Nisan 2019).

- Urso, M.L. and Clarkson, P.M., 2003.** Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189, 41-54.
- Üstün, Ç. ve Demirci, N., 2013.** Çay Bitkisinin (*Camellia Sinenensis L.*) Tarihsel Gelişimi Ve Tıbbi Açından Değerlendirilmesi. *Lokman Hekim Journal*, 3(3), 5-12.
- Valko, M., Morris, H. and Cronin, M.T., 2005.** Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.*, 12, 1161-1208.
- Venitt, A. and Phillips, D., 1995.** The importance of environmental mutagens in human carcinogenesis and germ-line mutation. *Environmental mutagenesis. Bios Scientific*, 1-17.
- Welters, M.J., Fichtinger-Schepman, A.M., Baan, R.A., Jacobs-Bergmans A.J., Kegel A., van der Vijgh, W.J. and Braakhuis, B.J., 1999.** Pharmacodynamics of cisplatin in human head and neck cancer: Correlation between platinum content, DNA adduct levels and drug sensitivity in-vitro and in-vivo. *Br. J. Cancer*, 79(1), 82-8.
- William, K.M., Williams, A.E., Kline, L.M. and Dodd, R.Y., 1987.** Stability of serum alanine aminotransferase activity. *Transfusion*, 27(5), 431-3.
- Wolfram, S., Wang, Y. and Thielecke F., 2006.** Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. *Mol. Nutr. Food. Res.*, 50(2), 176-187.
- Wu, D. and Cederbaum, A.I., 2003.** Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Research and Health*, 27, 277-284.
- Yan, L.J. and Sohal, R.S., 1998.** Mitochondrial adenine nucleotide translocase is modified oxidatively during aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 896-901.
- Yan, L.J., 2014.** Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biol.*, 9, 165-169.
- Yaykaşlı E., 2006.** Cep Telefonu Radyasyonun Sıçan Karaciğer Dokusundaki Oksidant Antioksidan Dengesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 92 s., 29.
- Yıldırım, M., 2004.** Klinik Anatomi. Nobel Tıp Kitabevi, 544 s., 250-256.
- Yılmaz, H.R., Söğüt, S., Özyurt, H., Iraz, M., Yıldırım, Z. ve Akyol, Ö., 2004.** Sıçanlarda Sispilatinle Oluşturulan Nefrotoksisitede Metabolik Enzim Aktivitelerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisi. *Van Tıp Dergisi*, 11 (1), 1-6.
- Yılmaz, S., Issi, M., Kandemir, M. ve Gul, Y., 2014.** Malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25, 41-45.

- Young, I.S. and Woodside, J.V., 2001.** Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.*, 54(3), 176-186.
- Yu, B.P. 1994.** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74 (1), 139-163.
- Zhao, Y., Chen, P., Lin, L., Hamly, J.M., Yu, L. and Li, Z., 2011.** Tentative identification, quantitation and principal component analysis of gren pu-erh, green and white teas usingUPLC/DAD/MS *Food Chem.* Jun. 1, 126(3), 1269-1277.
- Zicca, A., Cafaggi, S., Mariggio, MA., Vanonozzi, M.O., Ottone, M., Bocchini, V., Caviglioli, G. and Viale, M., 2002.** Reduction of cisplatin hepatotoxicity by procainamide hydrochloride in rats. *Eur. J. Pharmacol*, 442, 265-272.



EKLER

T.C.
RECEP TAYYIP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI
(Republic of Turkey Recep Tayyip Erdogan University Local Ethics Committee for Animal Experiments)

BAŞVURU BİLGİLERİ (Application Information)	ETİK KURUL DOSYA NO(REFERENCE):12		
	ÇALIŞMANIN ADI	Ratlarda cisplatinin oluşturduğu karaciğer hasarında beyaz çayın etkisi	
	Title	The effect of White Tea on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (Director of Project)	Prof. Dr. Adnan YILMAZ	
	DİĞER GÖREVLİLER (Researchers)	Fatih DİZMAN , Levent TÜMKAYA, Tolga MERCANTEPE, Sibel KARAKAŞ, Seda ÇINAR	
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez Ulusal	<input type="checkbox"/> Çok Merkezli Ulusal

KARAR BİLGİLERİ	Karar No(Decision No):2019/12	Tarih (Date): 27.02.2019
	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden, Prof. Dr. Adnan YILMAZ 'ın sorumluluğunda yürütülen ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Hayvan Deneyleri Araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına katılan üyelerin oy birliğiyle karar verilmiştir.	
Decision Information	The study above has been approved by the Local Ethics Committee of R.T.E.University.	
	<input checked="" type="checkbox"/> Accepted	<input type="checkbox"/> Rejected

ÜYELER (Members)						
Ünvanı/ Adı/ Soyadı Ek Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof.Dr. Fikri BALTA (Başkan, Müdür)	Su Ürünleri (Veteriner Hekim)	R.T.E. Üniversitesi Su Ürünleri Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Levent TÜMKAYA (Başkan Vekili)	Histoloji Embriyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	-----
Doç.Dr. Aşşe ERTÜRK (Üye)	Enfeksiyon Hast. Ve Klinik Mikr.	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Serkan GÜL (Üye)	Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Fen Edebiyat Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç.Dr. Kazım ŞAHİN (Üye)	Tıbbi Mikrobiyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Hatice SEVİM NALKIRAN (Üye)	Tıbbi Biyoloji	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Medeni ARPA (Üye)	Tıbbi Biyokimya	R.T.E. Üniversitesi Tıp Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Dr.Öğr.Üyesi Murat ALKURT (Üye)	Protetik Diş Tedavisi	R.T.E. Üniversitesi Diş Hekimliği Fak.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şenay ÇAKIROĞLU (Üye)	Veteriner Hekim	R.T.E. Üniversitesi Deney Hay.Uy.ve Arş.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Şevket ÇAKMAKÇI (Üye)	Sağlık Çalışanı	Sendika Üyesi	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Rukiye ÜLGER (Üye)	Serbest Çalışan	Sivil Üye	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

*Araştırma ile ilişki(Relation to the project, E: Yes, H: No)

**Toplantıda Bulunma(Attendance, E: Yes, H: No)

ÖZGEÇMİŞ

Fatih DİZMAN 02/12/1981 tarihinde Pazar'da doğdu. İlköğretimini 1997 yılında Ankara ilinde Keçiören ilçesinde Gülhane İlköğretimi'nde ve ortaöğretimini 1999 yılında Ankara ili Keçiören ilçesinde İncirli Lisesi'nde tamamladı. Lisans eğitimini 16/09/2009 tarihinde Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladı. 2014 yılında T.C. Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Bölümü'nde başladığı tezli yüksek lisans öğrenimini halen devam ettirmektedir. T.C. Sağlık Bakanlığı Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Biyolog olarak 2019 yılı itibariyle görev yapmaktadır. Orta derecede İngilizce bilmektedir.