

**RATLARDA CİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN
KARDİOTOKSİSİTEYE KARŞI PROBİYOTİKLERİN
KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Eylül TURUNÇ DABANİYASTI

Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Serkan YILDIRIM
Yüksek Lisans Tezi-2020**

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA CİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN
KARDİOTOKSİSİTEYE KARŞI PROBİYOTİKLERİN
KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL,
HİSTOPATOLOJİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL
OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Eylül TURUNÇ DABANİYASTI

**Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Serkan YILDIRIM**

**ERZURUM
2020**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK PATOLOJİSİ ANABİLİM DALI

RATLARDA CİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN
KARDİOTOKSİSİTEYE KARŞI PROBİYOTİKLERİN
KORUYUCU ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL, HİSTOPATOLOJİK
VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Eylül TURUNÇ DABANİYASTI

Tez Savunma Tarihi: 27.07.2020

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Serkan YILDIRIM (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Prof. Dr. A.Kübra TERİM KAPAKİN (Atatürk Üniversitesi)
Jüri Üyesi : Prof.Dr. Zafer ÖZYILDIZ (Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2020

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kalp.....	4
2.1.1. Kalp Embriyogenesi	4
2.1.2. Kalp Anatomisi	4
2.1.3. Kalp Histolojisi	6
2.1.4. Kalp Fizyolojisi.....	7
2.2. Probiyotikler	9
2.2.1. Probiyotikler Genel Bilgi.....	9
2.2.2. Probiyotiklerin Özellikleri	12
2.2.3. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar.....	13
2.2.4. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları	14
2.2.5. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri.....	16
2.2.6. Probiyotikler ve Apoptozis	19
2.3. Cisplatin.....	20
2.3.1. Cisplatin Genel Bilgi	20
2.3.2. Cisplatinin Moleküler Yapısı	21

2.3.3. Cisplatin Etki Mekanizması.....	22
2.3.4. Cisplatin Endikasyonları.....	25
2.3.5. Cisplatin Toksisitesi	26
3. MATERYAL VE METOT.....	31
3.1. Probiyotik Hazırlanması	32
3.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması	32
3.3. Biyokimyasal Analizler	32
3.4. Histopatolojik İnceleme.....	33
3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme	33
3.6. İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Biyokimyasal Bulgular	35
4.2. Histopatolojik Bulgular.....	38
4.3. İmmunhistokimyasal Bulgular.....	41
5. TARTIŞMA.....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
KAYNAKLAR	59
EKLER	91
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	91
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	92
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	93

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmam süresince, her zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, ilgi ve desteğini gördüğüm, katkı ve desteklerini esirgemeyerek olumlu yönlendirmesiyle bana her zaman destek olan danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a, yetişmemde emeği geçen ve her türlü desteği veren Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölüm Başkanı, Sayın Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM, Veteriner Fakültesi Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Kübra Asena TERİM KAPAKİN ve Anabilim Dalı Öğretim üyesi Doç. Dr. Serdar ALTUN ve Dr. Öğretim Üyesi Selim ÇOMAKLI ve Araş. Gör. İsmail BOLAT'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca tez süresince tezimin her aşamasında emeğini esirgemeyen Prof. Dr. Ali ÇINAR hocam'a, Doç. Dr. Tayfun KARATAŞ hocam'a, Doç. Dr. Emin ŞENGÜL hocam'a, Öğr. Gör. Gizem ESER ve Araş. Gör. M. Bahaddin DÖRTBUDAK'a çok teşekkür ederim. Çalışmanın gerçekleşebilmesi için maddi desteklerini esirgemeyen ve bu çalışmayı TYL-2019-7403 kodlu proje ile destekleyen Atatürk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve yüksek lisans eğitimim sürecimde her daim bizlerle ilgilenen Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve değerli çalışanlarına teşekkür ederim. Ayrıca manevi olarak her zaman yanımda olan aileme, Veteriner Hekim Sinan DABANIYASTI ve Veteriner Hekim İbrahim GÜLEN'e çok teşekkür ederim.

Eylül TURUNÇ DABANIYASTI

ÖZET

Ratlarda Cisplatin ile İndüklenen Kardiyotoksisiteye Karşı Probiyotiklerin Koruyucu Etkisinin Biyokimyasal, Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması

Amaç: Cisplatin (CP) bir antineoplastik veya sitotoksik kemoterapi ilacıdır. Son zamanlarda antineoplastik ilaçların sitotoksik etkilerini en aza düşürmek amacı ile bitkisel kökenli bileşiklerin kullanıldığı çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Bu amaçla kullanılan bileşiklerden birisi de *Lactobacillus lactis* probiyotığıdır. Bu çalışmada CP ile indüklenmiş kardiyotoksisitenin kalp histopatolojisi, bazı enzimler ve apoptotik markerlar üzerine *Lactobacillus lactis*' in koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot: Araştırmamızda yaklaşık 200-250 g ağırlığında, 28 adet erkek erişkin Sprague Dawley ırkı ratlar kullanıldı. Her bir grupta yeterli doku örneklerinin sağlanabilmesi için 7 adet rat kullanıldı ve 4 grup oluşturuldu.

Grup 1'e 7 gün boyunca i.g. 1 ml distile su ve Grup 2'ye ise 4 gün boyunca i.g. distile su ve 5-7. Günler arası 3 gün boyunca intra peritoneal (i.p.) Cisplatin (7.5 mg/kg) uygulandı. Grup 3'e 7 gün boyunca 1 ml/mg/kg dozunda i.g. probiyotik uygulaması yapıldı. Grup 4'e 1 ml/mg/kg i.g dozlarda 7 gün boyunca *Lactobacillus lactis* probiyotığı uygulandı. Probiyotik uygulamasının 5. günü 3 gün boyunca i.p. Cisplatin (7.5 mg/kg dozunda) enjekte edildi. Deneysel uygulamalar sonunda kan ve kalp dokuları alındı.

Biyokimyasal olarak, MDA, SOD, GSH, NO, Troponin I, CK, CK-MB ve LDH düzeyleri tayin edildi. Kalp dokusu rutin histopatoloji gerçekleştirildi ve immunhistokimya için Tnf α , Caspase-3 ve Bcl-2 boyaması yapıldı ve ışık mikroskobunda incelendi.

Bulgular: CP' nin ratlarda kalbin histopatolojik yapısı, bazı enzimler, antioksidanlar ve immunhistokimyası üzerine kardiyotoksik etkisi oluşturduğu görüldü. Probiyotik olarak kullanılan *Lactobacillus lactis*'in ise bu kardiyotoksik etkiyi azalttığı saptandı.

Sonuç: CP ile indüklenen ratlarda oluşan kardiyotosite üzerine *Lactobacillus lactis*'in biyokimyasal, histopatolojik ve immunhistokimyasal olarak koruyucu etkilerinin olduğu gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Cisplatin, Enzim, Kalp, Probiyotik, Rat.

ABSTRACT

Investigation of the Protective Effect of Probiotics on Biochemical, Histopathological and Immunohistochemical Parameters on Cisplatin-Induced Cardiotoxicity in Rats

Aim: Cisplatin (CP) is an antineoplastic or cytotoxic chemotherapy drug. Recently, the number of studies using herbal compounds to increase the number of cytotoxic effects of antineoplastic drugs is increasing. One of the compounds used for this purpose is *Lactobacillus lactis* probiotic. In this study, it was aimed to investigate the protective effects of *Lactobacillus lactis* on histopathology of the heart and some enzymes and apoptotic markers of CP-induced cardiotoxicity.

Material and Methods: In this study, 28 male Sprague Dawley rats weighing approximately 200-250 g were used. In order to provide sufficient tissue samples in each group, 7 rats were used in each group and 4 groups were formed.

All animals were subjected to standard maintenance and feeding conditions. Group 1 received 1 ml distilled water intragastric (i.g.) for 7 days, Group 2 was given distilled water (i.g) for 4 days and in the experiment between 5-7 days cisplatin (7.5 mg / kg) was administered intraperitoneally (i.p.). Group 3 were applied probiotics 1 ml / mg / kg (i.g.) for 7 days. Group 4 were applied *Lactobacillus lactis* probiotics 1 ml / mg / kg doses (i.g) for 7 days. On the 5th day of the experiment, i.p. Cisplatin (7.5 mg / kg dose) was injected. At the end of the experimental applications, blood and heart tissues were collected. Biochemically, MDA, SOD, GSH, NO, Troponin I, CK, CK-MB and LDH levels were determined. Cardiac tissue routine histopathology was performed and Tnf α , Caspase-3, and Bcl-2 staining were performed for immunohistochemistry and examined under the light microscope.

Results: CP was found to have a cardiotoxic effect on the histological structure of the heart, some enzymes, antioxidants and immunohistochemistry in rats. *Lactobacillus lactis*, used as a probiotic, was found to suppress this cardiotoxic effect.

Conclusion: It has been shown that *Lactobacillus lactis* has biochemical, histopathological and immunohistochemically protective effects on cardiotoxicity in CP-induced rats.

Keywords: : Antioxidant, Cisplatin, Enzyme, Heart, *Lactobacillus lactis*, Rat.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ApG	:	Adenin-platin-guanın
ATP	:	Adenozin tri fosfat
Bcl-2	:	B-cell lymphoma 2
BPS	:	Battofenantrolindisülfonik asit
Cas3	:	Caspaz 3
Cas8	:	Caspaz 8
Cat	:	Catalaz
CK	:	Kreatin kinaz
Cp	:	Cisplatin
CTR	:	Cupper transporter
ELISA	:	Enzim-Linked Immunosorbent Assay
ETDA	:	Etilen diamintetraasetik asit
FAO	:	Birleşmiş milletler gıda ve tarım örgütü
GGT	:	Gama glutamin transferaz
GpG	:	Guanin-platin-guanın
GSH	:	Glutasyon
GST	:	Glutasyon
H&E	:	Hematoksilen-Eozin
IBD	:	Enflamatuvar bağırsak hastalığı
IL	:	İnterlökin
LAB	:	Laktobasillus ssp
LDH	:	Laktat dehidrogenaz
MATE	:	Multidrug and toxin extrusion transporter
MDA	:	Malondialdehit

MMP	:	Matrix metalloproteinaz
Nf-KB	:	Nükleer faktör kappa b
NO	:	Nitrik oksit
OCT	:	Organic catyon transporter
Pt-GSH	:	Platin-glutatyon
SOD	:	Süper oksit dismutaz
TNF	:	Tümör nekroz faktörü
WHO	:	Dünya sağlık örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak MDA seviyeleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	36
Şekil 4.2. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak SOD aktiviteleri üzerine Probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	36
Şekil 4.3. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak GSH aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	37
Şekil 4.4. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak NO aktiviteleri üzerine Probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	38
Şekil 4.5. Kontrol grup, kalp dokusu normal histolojik görünüm.....	39
Şekil 4.6. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hyalin dejenerasyonu, zenker nekrozu (okbaşları), damarlarda hiperemi, hemoraji	40
Şekil 4.7. Pro+CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hyalin dejenerasyonu, damarlarda hiperemi, hemoraji	40
Şekil 4.8. Probiyotik grup, kalp dokusu, normal histolojik görünüm	41
Şekil 4.9. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif Tnf- α ekspresyonu	42
Şekil 4.10. CP grup, kalp dokusu, kas lifleri arasında ve damar çevrelerinde şiddetli düzeyde Tnf- α ekspresyonu	42
Şekil 4.11. Pro+CP grup, kalp dokusu, hafif düzeyde intermüsküler aralıklarda ve damar çevrelerinde Tnf- α ekspresyonu.....	43
Şekil 4.12. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif Tnf- α ekspresyonu	43
Şekil 4.13. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif Cas-3 ekspresyonu	44
Şekil 4.14. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde şiddetli düzeyde Cas-3 ekspresyonu..	45

Şekil 4.15. Pro+CP grup, kalp dokusu, hafif düzeyde kas liflerinde Cas3 ekspresyonu	45
Şekil 4.16. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif Cas-3 ekspresyonu	46
Şekil 4.17. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu.....	47
Şekil 4.18. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hafif düzeyde Bcl-2 ekspresyonu.....	47
Şekil 4.19. Pro+CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde şiddetli düzeyde Bcl-2 ekspresyonu	48
Şekil 4.20. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu	48

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deneme grupları	31
Tablo 4.1. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede CK, CK-MB, Troponin-I ve LDH düzeyleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri	35
Tablo 4.2. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak MDA seviyeleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri	36
Tablo 4.3. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak SOD aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	37
Tablo 4.4. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak GSH aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	37
Tablo 4.5. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak NO aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.....	38
Tablo 4.6. Kalp dokusunun histopatolojik bulgularının skorlanması	39
Tablo 4.7. Kalp dokusunun immunohistokimyasal bulgularının skorlanması.....	49

1. GİRİŞ

Cisplatin (CP) bir antineoplastik veya sitotoksik kemoterapi ilacıdır ve CP, Platinol® ve Platinol®-AQ ticari ismi için jenerik isimdir. Bazı durumlarda, sağlık uzmanları, jenerik ilaç adı cisplatin'e atıfta bulunurken Platinol® ve Platinol®-AQ ticari adını veya CDDP gibi diğer adları kullanabilmektedirler. CP ileri mesane kanseri, testis, yumurtalık, baş ve boyun, özofagus, küçük ve küçük hücreli dışı akciğer, meme, mide ve prostat kanserleri tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar, nöroblastom, sarkomlar, multipl miyelom, melanom ve mezotelyoma tedavisinde de kullanılmaktadır.^{1,2} CP ile tedavide, beyaz ve kırmızı kan hücreleri ile trombosit sayıları geçici olarak azalabilir. Bu durum canlıyı enfeksiyon, anemi ve / veya kanama riskine maruz bırakabilir. Normale dönüş ise 7-21 gün arasında şekillenebilir. Geçici saç dökülmesi genellikle tedavinin başlamasından 3-6 hafta sonra başlar. Cilt veya tırnaklarda renk değişikliği gelişebilir. Renk ve/veya doku farklı olsa da, tedavi tamamlandıktan sonra saçlar yeniden büyür. Bulantı ve kusma tedaviden 6-10 saat sonra başlar daha büyük dozlarda daha da artar, iştahsızlık görülür. Çeşitli yan etkilerinin yanı sıra, Cisplatinin yüksek dozlarının kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Tedavide CP' nin yan etkilerini bazı insanlar yaşarken bazılarıda CP nin belirtilen yan etkilerinden hiç birini yaşamaz. Tedavide CP nin yan etkileri genellikle başlangıçları, süreleri ve şiddetleri açısından önemlidir. Tedavi tamamlandıktan sonra CP'nin yan etkileri büyük ölçüde kısa zamanda ortadan kalkmaktadır.^{2,3} Ayrıca CP' nin yan etkileri septomatik tedavi ile yönetilebilir. CP' nin yan etkilerini en aza indirmek veya önlemek için birçok seçenek vardır. İnsan ve hayvan organizmaları için faydalı olduğu bilinen probiyotikler, deneysel organ toksikasyonu çalışmalarında protektif etkili bileşik olarak kullanılmaktadır. Bu probiyotiklerden bir tanesinde Lactobacillus lactistir. Lactococcus , ayran ve peynir üretiminde yaygın olarak

kullanılan Gram-pozitif bir bakteridir, aynı zamanda insan hastalığının tedavisinde de canlı olarak kullanılan ilk genetiği değiştirilmiş organizma olarak da ünlenmiştir.

Genetik olarak tasarlanmış *L. lactis* , enflamatuvar bağırsak hastalıklarının (IBD) tedavisine terapötik müdahale için sitokin interlökin-10'u (IL-10) salgılayabilir, Lothar Steidler ve Wolfgang Hans⁴ tarafından yapılan bir çalışma, IL-10'un genetik olarak tasarlanmış *L. lactis* tarafından in situ sentezinin, tümör nekroz faktörüne (TNF) veya rekombinasyon IL-10'a karşı antikorlar gibi sistemik tedavilerden çok daha düşük dozlar gerektirdiğini göstermektedir. Prensip olarak, bu yöntem, büyük miktarlarda üretilmesi kararsız veya zor olan diğer protein terapötiklerinin bağırsakğa verilmesi ve IBD'nin sistemik tedavisine alternatif olarak faydalı olabilir.

Zhang B ve ark. (2016)⁵ KiSS1 olarak bilinen tümör metastazı inhibe edici peptit içeren bir plazmid taşıyan bir *L. lactis* suşu oluşturdu. *L. lactis* NZ9000' in, insan kolorektal kanser HT-29 hücreleri üzerinde inhibisyona neden olduğu ve aktif KiSS1 proteininin daha fazla salgılandığı gösterilmiştir. Rekombinant *L. lactis* suşundan salgılanan KiSS1, tümör hücresi büyümesini, hayatta kalma, istila, iltihaplanma ve anjiyogenezi kontrol eden sinyal yollarının düzenlenmesi olan Matrix metalloproteinazların (MMP-9) ekspresyonunu etkili bir şekilde azaltmıştır.⁶⁻⁹ Bu da, hayatta kalma oranını azaltır, metastazı inhibe eder ve kanser hücrelerinin uyku halini indükler. Ek olarak, LAB'nin ekzopolisakkarit üretme kabiliyeti nedeniyle tümör büyümesinin LAB suşunun kendisi tarafından inhibe edilebildiği gösterilmiştir.^{10,11} Bu çalışma *L. lactis* NZ9000'in HT-29 proliferasyonunu inhibe edebileceğini ve kendi başına hücre apoptozunu indükleyebileceğini göstermektedir. Bu suşun yapısının başarısı, kanser hücrelerinin göçünü ve genişlemesini önlemeye yardımcı olduğu, bu özel peptidin *L. lactis* 'in salgılama özelliklerinin gelecekte kanser tedavisi için yeni bir araç olabileceğini göstermiştir.¹²

Kalp ve dolaşım sistemi hastalıklarının teşhisinde ve tedavinin seyrinin takibinde bazı biyomarker değerlerinden de yararlanılması daha iyi bir sonuç alınmasını sağlar. Bakılacak biyomarkerların ise kalp dışı dokularda olmaması, kalpte yüksek yoğunlukta olması ve herhangi bir kalp hasarında kana hızlı bir şekilde geçmesi önemlilik arz etmektedir. Bu bağlamda ise Troponin I, CK ve CK-MB, LDH, MDA, SOD, GSH, NO, Tnf- α , Cas-3, Bcl-2 değerleri önemlidir.

Kanser ve CP nin tedavi sürecinde ki etkilerini incelemek amacıyla çok sayıda araştırma yapılmıştır.^{6,9,13-15} Fakat CP nin oluşturduğu yan etkileri giderebilmek amacıyla *Lactobacillus lactis*' in kalbin histopatolojisi, bazı enzimler ve apoptotik markerlar üzerinde koruyucu etkilerini araştıran yeterli miktarda ve doğrudan araştırmaya da rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada; ratlarda, CP ile indüklenmiş kardiyotoksisitede, kalbin histopatolojisi ve bazı enzimler ile apoptotik markerlar zerine *Lactobacillus lactis*' in protektif etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalp

2.1.1. Kalp Embriyogenesi

İlkel bir kas türü olan kalp kası embriyonik evrede ilk başta basit bir endotelden oluşur. Embriyonik dönemin 22. gününde bu oluşum kalın bir splanik mezoderm katmanla sarılarak çift kat haline dönüşür. Şekillenen bu son katman myokardiyum adını alarak kalbin kas katmanının temelini oluşturur.^{16,17} İç katmansa ilerleyen evredeki kalbin endotelyumunu oluşturur. Kalbin myoblastları dış katmandaki myokardiyumdan başkalaşır. Böylelikle embriyonik dönemin ilk ayında kalp kası belirir. Kalp kası gelişiminin bundan sonraki evresinde myoblastların sitoplazmalarında çok sayıda myoflamanlar oluşur ki , bunlar da kalp kasının kasılma yeteneğinden sorumludurlar.^{18,19} Bu myoblastlardan yeni myoflamaların oluşumu ile kalp kası lifleri gelişir. Kalp kası hücrelerindeki sitoplazmada farklılaşmış oluşumların miktarı arttıkça bölünme yetenekleri zayıflar. Kalp kası hücreleri genellikle bu aşamadan sonra tek bir hücrenin farklılaşmasını ve büyümesini gerçekleştirir.^{20,21} Kalp kası hücreleri gelişirken birbirine yapışır. Bu kas liflerinin bazısının çapları genişler ve birkaç myofibril içeren özel bir kas demeti halini alarak purkinje hücrelerini şekillendirir. Normal kalp kası hücrelerinden farklılaşan bu hücreler kalbin sinirsel uyarım sisteminden sorumlu olurlar.¹⁷ Fötal gelişim sürecinde kalp kası selektif yolaklarla başkalaşımı gerçekleştirirler. Bu metamorfozun neticesinde kalp hacimce büyür ve sinirsel ağı oluşturur. Doğumdan sonar, ortalama 6 yaşlarında kalbin erişkin (interkalat disk yapısı) düzeyinde gelişimi tamamlanmış olur.²¹⁻²³

2.1.2. Kalp Anatomisi

Büyük bir kısmı kaslardan oluşan kalp, kanı pompalama görevine uygun bir morfolojiye sahip olup, koni biçimindeki hayati bir organdır. Kalp göğüs kafesi içerisinde

mediastinuma konumlanmış vaziyettedir. Sağ ve solunda akciğer anteriorunda sternum posteriorunda ise sırt ve omur kaslarıyla çevrilidir. Kalbin ön (facies sternocostalis), alt (facies diaphragmatica) ve arka (basis cordis) olmak üzere üç düzlemi bulunur.^{24,25} Koni biçimindeki bu organın tepe kısmı apex kordis tabanını ise basis cordis oluşturmaktadır. Apex anterosinister yönünde basis cordis ise posteriodextere doğru yerleşim göstermektedir. Kalp, en dışında onu bir kese gibi kaplayan zarsal bir oluşumla kaplıdır.²⁶⁻²⁸ Perikardiyum adı verilen bu yapı fibröz perikardiyum (pericardium fibrosum) ve seröz perikardiyum (pericardium serosum) olmak üzere iki katmandan oluşur. Fibröz perikardiyum dış yüzeyi oluştururken; seröz perikardiyum iç yüzeyi oluşturur. Seröz perikardiyum ise pariyetal (lamina parietalis) ve epikard (lamina visceralis) tabakalarından oluşur. Bu iki tabaka arasındaki boşluk ise kavum perikardi olarak adlandırılmaktadır. Bu boşluk içinde kalbin rahat çalışmasını sağlayan perikardiyal sıvı (liquor pericardii) yer alır.^{29,30} Kalbin iç yapısında, iki büyük ve iki küçük olmak üzere dört tane odacık bulunmaktadır. Bunlardan sağ ve sol karıncıklar (ventriculus cordis) büyük, sağ ve sol kulakçıklar (atrium cordis) küçüktür. Her iki kulakçık birbirlerinden ince bir bölme (septum interatriale) ile ayrılırken; her iki karıncık ise bir birinden biraz daha kalın bir bölmeyle (septum interventriculare) ayrılır.^{25,31} Toplardamarlar ile kulakçığa gelen kan iki farklı kalp kapağını aşar ve karıncıklara geçer. Dolayısıyla daha fazla dirence maruz kalan ventriküller atriyalara nispeten daha kalın bir kas katmanına sahiptirler. Kulakçık ve karıncıklar birbirlerinden bağ dokudan oluşan bir yapıyla ayrılırlar. Fakat sağ kulakçık sağ karıncıkla; sol kulakçık ise sol karıncıkla birbirleriyle üzerlerinde kapak taşıyan birer delikle bağlantılıdır. Sağ atriyum sağ ventrikülle 3 kapakçık (trikuspid=valva tricuspidalis, valva atrioventricularis dextra) ile ayrılırken; sol atriyum sol ventrikülle 2 kapakçık (mitral kapak=valva mitralis, valva atrioventricularis sinistra) ile ayrılmıştır.^{32,33} Sağ karıncık ve duvarından sağ kulakçığa uzanan kasılmada

sorumlu musculus papillarisler bulunur ki bunların uzantıları da korda tendinea ile sağlanır. Benzer antomi sol karıncık ve sol kulakçık içinde geçerlidir. Kulakçıklara bağlanan korda tendinalar kanın geri vurumunu önlerler. Sol karıncığın yukarı bitiminde aort damarının başlangıcı var olup, burada aort kapağı (valva aortae) yer alır ki; bu damar aynı zamanda en büyük atar damardır. Benzer oluşum (valva trunci pulmonalis) sağ kulakçık ile pulmoner atardamar arasında da bulunur.^{34,35}

Kalpdeki en kalın duvar sol ventrikülde bulunup bu bölmenin güçlü kasılmasıyla vücudun en uç kısmına dahi kan taşınımı gerçekleştirilir. Sağ ventrikül ise ikinci kalın duvar olup, bu da akciğerin tüm alveollerine kan pompalamakla yükümlüdür. Vücudun bütününden toplanan kan alt toplar (vena cava inferior) ve üst toplar (vena cava superior) damarlar ile kalbin sağ kulakçığına geçer. Buradan kan pulmoner damarlar (arteriae pulmonalis) ile sağ karıncığı terk eder. Akciğerlerde arınan kan ise pulmoner toplardamarlar (venae pulmonalis) ile sol kulakçığa giriş yapar ve buradan sol karıncığa geçip, tüm vücuda pompalanır.^{35,36}

2.1.3. Kalp Histolojisi

Kalp 3 tabakadan oluşur. Dıştan içe doğru perikart, miyokart ve endokart olarak adlandırılmaktadır. Dışta bulunan "perikart", kalbi dıştan saran fibro seröz yapıda bir zarıdır. Bu zarın arasında sürtünmeyi azaltan bir sıvı bulunur.

Kalp kası tıpkı iskelet kası gibi enine çizgilenmeler gösterir. Genellikle tek çekirdekli hücrelerin birbirleriyle sıkı bağlanmasıyla oluşan silindirik yapı söz konusudur. Kalp kası hücreleri yan dallarla (kollateral) bitişik hücrelere uzantı yapmaktadırlar. Bu bileşenler üç boyutlu kas ağlarını meydana getirir.^{22,37,38} Tek çekirdekli bazen çift çekirdek bulundurabilen kas hücreleri ortalama 15 µm çapında ve 100 nm uzunluğundadır. Çekirdekler oval şekilde olup, uzun eksene paralel yerleşim göstermektedir. Kalp; kası hücrelerinden oluşan kas demetleri vertikal, horizontal ve

oblik uzantı yapmaktadır. Kalp kasları arasında intermyokardiyal olarak isimlendirilen kan ve lenf damarları ile zengin bağ doku yer almaktadır. Kalp kası hücrelerinin beslenmeleri buradaki kan ve lenf kapıllarları ile sağlanmaktadır. Beslenme tam manasıyla bu kapıllarlar ile sarkolemma arasında difüzyonla gerçekleşmektedir.^{39,40} Kalp kası yapısı gereği oldukça fazla düzeyde enerjiye ihtiyaç duyduğundan içinde bol miktarda krista içeren çok sayıda mitokondri içermektedir. Kalp kası sarkoplazması yüksek düzeyde protein ağırlıklı aktin ve miyozin filamentlerini içerir. Çekirdeğe yakın golgi kompleksi bulunmaktadır. Bu organel çevresinde yağ damlacıkları, lipofuksin pigmenti ve glikojen kümeleri vardır.⁴¹ Kalp kası liflerinden özelleşen purkinje hücreleri ise sinirsel iletimin baş rolünde bulunup, endokardın iç yüzeyinde özellikle interventriküler septada lokalize olmuşlardır. Morfolojik olarak kalp kası hücrelerine kıyasla daha geniş ve kalındır. Kalp kası iskelet kası gibi koyu renkli A bandı ve açık renkli I bandı taşırlar. A bandı ortasında açık renkte H bandı ve onunda medialinde koyu renkte M çizgisi bulunur. I bandının medialinde ise Z bandı bulunmaktadır.^{37,42} Kalp kası liflerinin birbirlerine bağlandığı yerde kalın diskler (İnterkalat diskler=Diskus intercalatus) yer alır. Bu bağlantılar hücreler arası iletimde görev almaktadır. İnterkalat disklerdeki bağlantılar sayesinde kas hücrelerinin birbirine sıkıca bağlanmaları ve iyon bütünlüğü sağlanır. Ayrıca bu bağlantılar sayesinde hücreler arası iletimin hızlı ve linear seyrine katkı sağlar.^{38,43}

2.1.4. Kalp Fizyolojisi

Kalp bütünüyle bir pompalama mekanizması olsa da esasen iki ayrı sisteminden oluşmaktadır. Bunlardan biri kandaki oksijen ve karbondioksit değişimini gerçekleştirmek için akciğerlerden pompalanan kan dolaşımı oluştururken; diğeri ise akciğerden gelen ve vücuda pompalanan kan dolaşımını oluşturmaktadır.^{39,44} Vücuttan toplanan kan sağ atriyuma gelir ve buradan sağ ventriküle taşınır. Sağ ventrikülden

akciğere gönderilen kan akciğerlerde karbondioksiti bırakıp oksijen bağlar. Akciğerde oksijen yüklenen kan sol atriyumda döner böylece küçük kan dolaşımı gerçekleşmiş olur. Sol atriyumlara gelen kan sol ventriküle geçer ve sol ventrikülle tüm vücuda pompalanır. Tüm dokulara pompalanan kanın oksijeni bırakıp karbondioksidi yüklenerek sağ atriyumda taşınmasıyla da büyük kan dolaşımı gerçekleşmiş olur.⁴⁵⁻⁴⁷ Bu şekilde kan dolaşımı tek yönlü gerçekleşmektedir. Dolaşım ağında bu tek yönlü akıma uygun valvüller yer almaktadır. Kalbin kasılması anlamına gelen sistol durumunda kan tüm vücuda ve akciğere pompalanırken; kalbin gevşemesi manasına gelen diyastol durumunda ise kulakçıklara gelen kan karıncıkları doldurmaktadır.^{44,48} Kalbin pompalama işlemini gerçekleştirebilmesi için üç farklı kalp kası hücresi rol almaktadır. Bunlar; atriyum kas hücreleri, ventrikül kas hücreleri ve sinirsel iletide görevli hücrelerdir. Bunlardan ilk iki hücre tipi benzer yapıdadır. Kalp kası hücrelerinde kasılma işlevini sağlamak için troponin ve tropomiyozin proteinleri vardır. Kalbin kasılabilmesi için Kalsiyum ve ATP enerjisi oldukça önemlidir.⁴⁹ Kalp kası hücrelerinin membranları birbirleriyle kaynaşarak sinsityum olarak adlandırılan bir ağ örgüsü oluşturmaktadırlar. Gerek bu sinsityal oluşum ve gerekse interkalat diskler sinirsel uyarımı gerçekleştirmektedir. İnterkalat disklerde nekzus adı verilen oluşumlar vardır. Bu oluşumlar sayesinde birbirine bağlı kalp kası hücreleri uyarım sırasında tek bir hücre gibi algı oluşturlar. Bu sinirsel uyarıya birden çok hücrenin tek bir hücre gibi cevap vermesi olayına “fonksiyonel sinsityum” denilir.^{48,50} Kalpte iki farklı sinsityum vardır. Bunlar atriyum sinsityumu ve ventrikül sinsityumudur. Bu iki farklı sinsityumlar sayesinde atriyumlar kasılırken ventriküller gevşer. Bu zıt çalışma prensibiyle kanın kalbe dolması ve boşalımı sağlanır. Böylece kanın pompalama işlevi gerçekleşmiş ve vücuda büyük-küçük kan dolaşımı sağlanmış olur.^{39,51,52}

2.2. Probiyotikler

2.2.1. Probiyotikler Genel Bilgi

Probiyotiklerin besin maddeleriyle tüketimi asırlar öncesine dayanmaktadır. Tevrat'ta Hz. İbrahim'in uzun ömürlü olması yaşamı boyunca tükettiği ekşi süte bağlanmıştır. Aynı şekilde Romalılar mayalanmış süt tüketiminin bağırsak hastalıklarına iyi geldiğini düşünmüşlerdir. Yine Türkler yoğurt, kımız ve kefir tüketiminin faydalı olduğunu ve sindirim sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde etkili olabileceğine inanmışlardır. Ancak batı dünyası probiyotik tüketimine sıcak bakmamıştır.⁵³ Bu durum ta ki 19. yüzyılın başlarına kadar sürmüştür. Modern konseptte probiyotik üzerine yapılan ilk girişim 1908 yılında Rus bilim insanı Eli Metchnikoff tarafından yapılmıştır. Eli Metchnikoff bağırsaklardan birçok bakteri gibi zararlı olmayan aksine vücuda faydalı olan bir mikroorganizma dünyasının varlığından bahsetmiştir.^{54,55} Hatta insanların uzun ömürlü olmalarının ve sağlıklı yaşam sürmelerinin bu mikrobiyal dengeyle alakalı olduğunu savunmuştur. Metchnikoff balkan dağlarında uzun süre sağlıklı yaşayan insanların bu yaşamlarının çokça fermente süt tüketimine borçlu olduklarını ileri sürmüştür.^{56,57} Ayrıca bu insanların bağırsak floralarında günümüzde de yaygın bulunan *Lactobacillus bulgaricus* bakterisini izole etmiştir. Özellikle Bulgaristan yöre halkından izole edilen bu bakteri ilk probiyotik türü olarak kaydedilmiştir.^{55,58} Henry Tissier anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak floralarından Y şeklinde bir bakteri izole etmiş ve bunu *Bacillus Bifidus Bommunis* olarak isimlendirmiştir. Aynı zamanda bu bebeklerin bağırsak floralarının diğer bakteri türlerince de zengin olduklarını ve bu probiyotiklerin çocukların ishallerinin tedavilerinde etkili olabileceğini düşünmüştür. Bu bağlamda özellikle *Bifidobacterium*'ların kullanımını tavsiye etmiştir. Bu zamana kadar keşfedilen *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* probiyotik tipleri günümüzde de oldukça yaygın kullanılmaktadır.^{56,59,60}

1917 yılında Alfred Nissle, Shigella ile enfekte birinin dışkılarından Escherichia Coli suşu izole etmiş ve bu suşun shigella ve salmonella tedavisinde etkili olduğunu görmüş ve bazı bakterilerin yine bakteriyal kökenli enfeksiyonlarla mücadelede kullanılabileceğini bildirmiştir. 1965 yılında Lilli ve Stillwell yaptıkları bir çalışmada bir probiyotik türü salgısının başka bir probiyotik türünün çoğalmasını desteklediğini saptamışlardır.⁶¹⁻⁶⁴ Probiyotik terimi ilk defa 1953'te Kollath tarafından kullanılmıştır. Probiyotik latince yaşam için veya yaşamsal anlamlarını taşıyan “pro” ve “biyo” sözcüklerinden türemiştir.⁵⁵ İşlevsel olarak antibiyotiğin tersi olan probiyotikler kabaca bağırsakta bulunan faydalı mikroorganizmalardır. Probiyotikle ilişkili aydınlatılması gereken terimlerden biri prebiyotik diğeri ise simbiyotiktir. Prebiyotik bağırsaktaki faydalı bakterilerin çoğalmasını sağlayan insan ve hayvan bağırsaklarında sindirilemeyen lakto, sukroz, frukto ve galaktoz ve oligosakkaritler gibi karbonhidratlardır. Probiyotik ve prebiyotiklerin oluşturduğu düzene ise simbiyotik denilmektedir. Günümüze kadar probiyotiklerin tanımlaması çok farklı şekilde yapılmıştır.⁶⁵⁻⁶⁷

Lilli ve Stillwell; “Bir mikroorganizmanın ürettiği ve başka bir mikroorganizmanın gelişmesine katkı sağlayan metabolitler”.⁶⁸ Sperti; “Mikrobiyal gelişmeyi sağlayan ekstretler,” Paker; “Bağırsaktaki mikrofloranın oluşmasını sağlayan mikroorganizmalar ve onların metabolitler,” Pakerin probiyotik tanımlanması metabolit ibaresinin dışında neredeyse günümüz tanımlamasına uygun düşmektedir.⁶⁹

Guarnere; “Gıdalarla yeterince tüketildiklerinde beslenmeyle beraber sağlık açısından olumlu katkı sağlayan mikroorganizmalar”⁷⁰ Salminen; “Canlı sağlığı ve beslenmesini olumlu yönde etkileyen mikrobiyotiklerle mayalanmış süt ürünleri”⁷¹ Havenaar ve Huis In’t Veld; “Doğal bağırsak florasının özelliklerini geliştirerek konak organizmaya fayda sağlayan gerek hayvan ve gerekse insanlara özgü, canlı, bir veya birden fazla mikroorganizma kültürü.”⁷² Roy Fuller; “Vücuttaki intestinal sistemin

mikroflora düzenini dengeleyerek gelişmesine katkı sağlayan konak sağlığı için faydalı olan canlı mikroorganizmalı gıda katkı maddesi.” Bu tanımlama günümüz tanımlamasına oldukça yakın kabul edilmektedir.⁷³ 2002 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafınca belirlenen ve hali hazırda genel geçerli tanıma göre probiyotik; “Belirli bir miktarda alındığında konakçıya yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar”⁷⁴ Doğumdan sonra yavrunun gastro-intestinal sistemi mikropardan ari durumdadır. Doğumdan 3-10. saatte çevreden alınan mikroorganizmalarla kontaminasyon ve kolonizasyon gerçekleşir. Kontaminasyon sonrası kolonizasyonun ilk dönemlerinde E. coli, Streptococcus ve fakültatif anaerob bakteriler baskındır. Ancak zamanla yerlerini Bifidobacterium ile Bacteroides gibi obligatör bakterilere bırakırlar.⁷⁵ Erişkinlerde Laktobasillus, Bacteroides, Bifidobacterium, Peptostreptococcus ve Fusobacterium türleri dominant olmak üzere 500’den fazla mikroorganizma çeşitleri yer almaktadır. Probiyotikler genellikle sağlıklı bir canlının mukoza dokusunda ve bağırsak sisteminde doğal olarak bulunabilen ve burada varlıklarını idame ettirebilen kolonize bakterilerdir.^{76,77} Sindirim sisteminde bulunup asit ve safraya dirençli patojen olmayan mikroorganizmalardır. Bunların bu sağlıklı doku veya organda bulunmaları yine bu organizma lehine olup, lokal immüniteye katkı sağlamaktadır. Konak organizmada bulunan probiyotikler muköz membran salgısındaki müsin enerji kaynağı olarak kullanarak patojen mikroorganizmalarla rekabet yapmakta ve bu zararlı türlerin vücutta tutunmalarına ve gelişmelerine mani olmaktadır.⁷⁸ Bunlarla beraber günümüz çalışmaları ışığında probiyotiklerin vücut için bir çok faydası olduğu görülmüştür.. Probiyotikler vitamin üretimi, protein sindirimi, mineral emilimi ve laktaz üretimini arttırmaktadır. Kan kolesterol seviyesini, laktoz intoleransını ve bazı kemoterapotiklerin yan etkilerini azaltmaktadır. Ayrıca probiyotiklerin immunmodülatör, antiallerjen, anti kanserojenik, antihipertansif etkileri

bildirilmiştir. Ancak probiyotiklerin bu faydaları aksine kontrolsüz antibiyotik kullanımı, radyasyon, stres, intestinal sistem enfeksiyonlarında bu mikroflora dengesinin konak canlı aleyhine bozulmasıyla bir takım hastalıklara sebep olmaktadır.⁷⁹⁻⁸¹ Fermente süt ürünleri ve diğer fermente gıdalar probiyotik bakımından oldukça zengin besin maddeleridir. Yoğurt, ekşi krema, yayık altı, peynir altı suyu, kefir, süt tozu, dondurma, meyve suyu, turşu ve fermente et ürünleri çok miktarda probiyotik içermektedirler.⁸² Probiyotikler sadece mikroorganizma, çeşitli enzim, vitamin ve aroma bileşenleriyle desteklenerek hazırlanmış farmasötikaller olarak da kullanılabilir. Probiyotikler bazı hastalıkların tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır.⁸³ Yakın bir zamanda yapılan çalışmalar probiyotiklerin yalnızca mikroorganizma hücrelerince değil ihtiva ettikleri metabolizma ürünleriyle de sağlık açısından olumlu etki gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.^{57,83,57,84}

2.2.2. Probiyotiklerin Özellikleri

Probiyotiklerin konak canlı için bahsi geçen faydaları sağlayabilmesi için bir takım özellikleri taşıması gerekmektedir. İdeal probiyotiklerde olması gereken özellikler;

- Konakçı için yan etkisi bulunmamalı ve toksik risk taşımamalı,
- Patojen olmamalı, aksine patojen mikroorganizmalara karşı vücudu dirençli kılmalı,
- Besin rekabetiyle patojen mikroorganizmaları ekarte etmeli,
- Bağırsak mukozaya iyi tutunmalı, geçici kolonize olmalı,
- Ekstretleri ile antikanserojenik ve antimikrobiyal özellik taşımalı,
- Gerek mukozal ve gerekse sistemik bağışıklığı desteklemeli,
- Hem hücresel hem de humoral bağışıklığı güçlendirmeli,
- Tanımlama ve tiplemesi iyi yapılmalı,
- Kullanılacağı konakçının türünden sentezlenmiş olmalı,

- Mide asidi gibi düşük pH'ya, duodenumdaki bazik ortamlarda etkinliğini yitirmemeli,
- Safra tuzları ve pankreas sekretlerine karşı canlılığını sürdürebilmeli,
- Antibiyotiklere karşı dirençli olmalı,
- İşleme şartlarına, besin katkı maddelerine dayanıklı olmalı,
- Saklama ve kullanım esnasındaki metabolik aktivitesini devam ettirebilmeli,
- Çok miktarda canlı mikroorganizma ihtiva etmeli,
- Doğal floraya uyum sağlayabilmeli ve mevcut florayı inaktive etmemeli,
- Vitamin sentezine ve protein metabolizmasına katkı sağlamalı,
- Kendine özgü fenotipik ve morfolojik özellikleri bulunmalı,
- Birden çok suş içeren preparatlar hazırlanabilmelidir.⁸⁵⁻⁹⁰

2.2.3. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotik olarak en çok istifade edilen ve ilk kullanılan türlerin başında laktobasiller ve bifidobakteriler yer almaktadır.^{76,91} Ancak bu türler dışında da kullanılan birçok mikroorganizma türleri bulunmaktadır. Bunlar;

Laktobasil türleri; *Lactobacillus delbrueckii*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. paraplantarum*, *L. johnsonii*, *L. rhamnosus*, *L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. gasseri*, *L. cellebiosus*, *L. johsonli*, *L. amylovorus*, *L. crispatus*, *L. gallinaruma*, *L. Paracasei*⁹² Bifidobakteri türleri; *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. thermophilum*, *B. animalisc*, *B. essensis*, *B. Laterosporus*⁹³ Bacillus türleri; *Bacillus subtilis*, *B. pumilis*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. alcalophilus*, *B. cereus*, *B. clausii*,⁹⁴ *Pediococcus* Türleri; *Pediococcus acidilactici*, *P. pentoseceus*, *P. cerevisiae*⁹⁵ Streptococcus türleri; *Streptococcus cremoris*, *S. intermedius*, *S. lactis*, *S. diacetylactis*, *S. thermophilus*, *S. salivarius*⁹⁶ Bacteriodes türleri; *Bacteriodes capillus*, *B.*

L. juis, *B. ruminicola*, *B. amylophilus*⁹⁷ *Propionibacterium* türleri; *Propioni bacterium shermanii*, *P. freudenreichii*, *P. acidipropionici*, *P. thoenii*, *P. Jensenii*, *Leuconostoc* türleri; *Leuconostoc mesenteroides ssp. Mesenteroides* *Lactococcus* türleri; *Lactococcus spp. Lactococcus lactis* *Enterococcus* türleri; *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*⁹⁵ *Küfler*; *Aspergillus niger*, *A. oryzae*⁹⁸ Mayalar; *Saccharomyces cerevisiae* (*boulardii*), *Candida torulopsis*⁹⁹ Diğer bakteriler ise *Escherichia coli*, *Sporolactobacillus inulinusa* 'dır.^{76,95}

2.2.4. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Probiyotiklerin vücut sağlığı için birçok faydası bulunmakta olup, bu yararlarının kendine özgü biyomekanizmaları bulunmaktadır.¹⁰⁰ Probiyotiklerin genellikle vücuda olumlu etkisi intestinal sistemde mikroflora dengesini düzenleyerek göstermektedir. Dış çevreyle irtibatlı olan gastro-intestinal kanal doğası gereği birçok patojen mikroorganizmaya maruz kalmaktadır. Probiyotikler tam da bu noktada rol almakta ve patojen mikroorganizmaların etkisini kırmaktadır.¹⁰¹⁻¹⁰³ Bu etkilerini çeşitli şekilde gerçekleştirmektedir. Probiyotikler bir takım antimikrobiyal maddeler açığa çıkarmakta ve bunlar patojen mikroorganizmaların çoğalmalarını durdurmaktadır. Bu antimikrobiyal ürünler diasetil ve kısa zincirli yağ asitleri, hidrojen peroksit, propiyonik asit, bütrik asit, laktik asit, laktosidin, asidolin, asidofilin gibi bazı bakteriyosin ve mikrobiyosinlerdir. Probiyotiklerin meydana getirdikleri organik asitler bağırsak pH'sını düşürerek antimikrobiyal etki göstermektedir.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Ayrıca bağırsak pH'sındaki değişikliklerle bağırsak motilitesi ve mukus üretimi düzenlenmektedir.¹⁰⁷ Probiyotiklerin patojen mikroorganizmalarla mücadele etmesinin diğer yöntemleri ise besin ve kolonizasyon rekabetiyle olmaktadır. Probiyotikler konak organizmanın doğumundan sonra bağırsak mukozasında kontamine ve kolonize olduktan sonra oluşturdukları mikroflora ile yaşam sonuna kadar doğal mukoza bağışıklığını oluşturmaktadırlar.¹⁰⁸⁻¹¹¹ Probiyotikler intestinal mukoza epitellerine tutunarak çoğalırlar. Probiyotiklerin mukozaya penetre

olmaları pasif kuvvetler, elektrostatik ilişkiler, hidrofobik ve sterik kuvvetler, lipoteikoik asit ve lektinlerle kaplı özgün yüzey determinantlarıyla ilişkilidir. Probiyotik mikroorganizmaların tutunmasını, kolonize olmalarını ve mukus üretimiyle savunma bariyeri oluşturabilmektedir. Böylece diğer patojen mikroorganizmaların mukoza epitellerine tutunmalarına ve enfeksiyona mani olurlar^{112,113} Ayrıca probiyotikler mukoza epitellerinden müsin üretimini teşvik etmektedir. Koruyucu protein olan müsin gastrointestinal bariyerin güçlendirilmesine ve onarılmasına katkı sağlamaktadır. Aynı zamanda mukus membranda üretilen müsin probiyotiklerin önemli enerji kaynağı olduğu ve bu şekilde patojen mikroorganizmalarla besin rekabeti yapılarak zararlı mikrobiyallerin eliminasyonunu sağlar.^{114,115}

Probiyotiklerin hastalıktan korumada etkili olduğu bir diğer nokta ise immunmodülatör etkilerinin bulunmasıdır. Probiyotikler mukoza epitel ve lamina propriyada antijen sunan dentritik hücreleri uyarak bu hücrelerden bir takım sitokinlerin salınımına yol açarlar.^{107,116} Bu mediyatörler ise makrofajlar başta olmak üzere diğer lenfoid elemanlarını aktive etmektedir. Probiyotikler özellikle IgA antikor üretimini arttırmasının yanında mukozayı patojen bakteri ve virüslere karşı dirençli kılmaktadır.^{117,118} Probiyotikler bazı vitamin ve enzimlerin üretilmesini sağlayarak bu biyoaktif ürünler sayesinde hem bağışıklığı güçlendirmekte hem de sindirime yardımcı olmaktadır. Probiyotikler folik asit, biyotin, niasin, pridoksin, B1, B2, B6, B12 ve K vitaminlerini üretmektedir.¹¹⁹ Ayrıca bu floradan salınan enzimler amonyak, amin ve indol gibi bazı toksik maddelerin emilimini azaltmaktadır. Son zamanlardaki çalışmalarda düzenli probiyotik alımı ile sistolik ve diastolik kan basıncının ciddi düzeyde azalarak antihipertansif etki yaptığı bildirilmiştir.^{120,121}

2.2.5. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri

Probiyotiklerin vücutta antioksidatif etkiye sahip olduğu birçok çalışmayla ortaya konulmuştur. Probiyotiklerin antioksidatif etkilerinde metalik iyon bağlama yetenekleri oldukça önemlidir.¹²² Bazı probiyotik suşlarında açığa çıkan Etilen diamin tetraasetik asit (EDTA), battofenantrolindisülfonik asit (BPS), penisillamin ve desferrioksamin gibi şelatörlerin oksidatif strese rol oynayan metal iyonlarını bağladığı ve bu metal iyonlarının oksidasyonu katalize etmelerinin önüne geçildiği bildirilmiştir.¹²³ 19 LAB suşunun demirli ve kuprik metal iyonlarını şelatladığı gösterilmiştir.¹²⁴ Yine başka bir LAB suşu olan *Lactobacillus casei* KCTC 3260'ın yeterli SOD aktivitesi göstermemesine rağmen Yüksek düzeyde Fe_2^+ ve Cu_2^+ iyonlarını şelatlamak suretiyle iyi bir antioksidan özelliğe sahip oldukları tespit edilmiştir.¹²⁵ Benzer şekilde *Lactobacillus helveticus* CD6 ekstraktının yüksek Fe_2^+ şelasyonu gösterdiği bildirilmiştir.¹²⁶ Bir başka probiyotik türü olan *Streptococcus thermophilus* 821'in Fe_2^+ ve Cu_2^+ iyonlarını en iyi şekilde şelatlama kabiliyetine sahip olduğu saptanmıştır. Aynı türün diğer suşları içinde Fe_2^+ ve Cu_2^+ içinde iyi bir kenetleme yeteneğinden bahsedilmektedir.¹²⁷ Her ne kadar probiyotiklerin metal iyonu şelasyonu ile antioksidatif etki gösterdikleri tam manasıyla açıklanamamış olsa da probiyotik ekstraktlarındaki aktif enzimlerin trans metal iyonlarıyla etkileşime girip, katalize edilmiş fosfat esterlerinin deplasman reaksiyonlarını inhibe ettikleri ve hidroperoksitleri peroksil ve alkoksil radikallere dönüştürdükleri düşünülmektedir.¹²⁸ Dolayısıyla probiyotik suşlarının kenetleme kapasitesinin ekstraktlarında bulunan fizyolojik kenetleyicilerle alakalı olduğu ortaya çıkmaktadır.¹²⁴ Tıpkı hayvanlarda olduğu gibi probiyotiklerinde kendi antioksidan enzimatik sistemleri vardır. Probiyotikler bu enzimleri ile doğrudan vücuttaki antioksidal sisteme katkı sağlamak veya dolaylı olarak konak organizmanın antioksidal mekanizmasını aktive ederek etkili olmaktadır. Bu enzimlerin en iyi bilineni SOD'dır. Süperoksit mitokondri tarafından en çok üretilen

ROS'lerden biridir. Aynı zamanda SOD, süperoksitin hidrojen peroksit ve suya parçalanmasını katalize ederek ROS seviyelerinin doğal bir regülatörü görevini de üstlenmektedir.¹²⁹ Probiyotikler Fe-SOD ve Mn-SOD kullanabilirler ancak memeliler evrimsel olarak bakteriyel Mn-SOD ile yakından ilişkili olan Cu, Zn-SOD ve mitokondriyal Mn-SOD'nin sitoplazmik ve hücre dışı formlarını kullanırlar.¹³⁰ Kullisar ve ark. *Lactobacillus fermentum* E-3 ve E-18'in oksidatif strese karşı etkili olan Mn-SOD eksprese ettiklerini göstermişlerdir.¹³¹ SOD'un antioksidan etkileri tartışmasız bilinmesine rağmen, SOD'un terapötik uygulanmasındaki en büyük handikap yarılanma ömrünün kısa olmasıdır. Dolayısıyla sorunu çözmek için probiyotiklerden istifade edilebileceği düşünülmüştür.¹³²⁻¹³⁴ Özellikle ROS artışı ile karakterize bağırsak hastalıklarında probiyotik kullanımının etkili olduğu varsayılmaktadır. Bu durumu açıklığa kavuşturmak adına yapılan bir çalışmada SOD üretimi bir hayli fazla olan deneysel Chorn hastalığı bulunan farelerde *Lactobacillus casei* BL23 suşunun kullanımıyla başlangıçta görülen patolojik kilo kaybının zamanla iyileştiği ve bağırsakta artan enzimatik aktivitelerle iyileşmenin paralel düzeyde hız kazandığı saptanmıştır.¹³⁵ Katalaz (CAT) hidrojen peroksidi parçalayarak hücresel antioksidan savunmaya katılır. Böylece Fe^{+3} 'nın süperoksitle indirgenip Fe^{+2} olması ve Fe^{+2} nin H_2O_2 ile reaksiyona girerek (fenton reaksiyonu) hidroksil radikallerinin oluşumunun önüne geçilir.¹³⁶ Bu düşünceyle yola çıkarak CAT üreten bir *Lactococcus lactis*'in farelerde oksidatif tetikleyici 1,2-dimetilhidrazin kaynaklı kolon kanserini önleyebileceği ispatlanmıştır.¹³⁷ Probiyotiklerin kendi antioksidan mekanizmalarının vücutta da antioksidatif katkı sağlamalarının yanı sıra vücudun kendi antioksidan mekanizmalarının da probiyotiklerce uyarılabileceği bildirilmiştir. Bu kanaatle örtüşen bir çalışmada domuzların *Lactobacillus fermentum* kullanımı ile serum SOD ve GPx'i artırabildiğini ve hepatik CAT, kas SOD ve Cu ve Zn-SOD'yi kontrol grubuna kıyasla artırabildiğini gösterilmiştir.¹³⁸ Başka bir

çalışmada farklı dozlarda maya probiyotik alımı civcivlerin vücut ağırlığını ve GPx aktivitesini arttırdığı saptanmıştır.¹³⁹ İnsanlarda yapılan bir çalışmada *Lactobacillus acidophilus* La5 ve *Bifidobacterium lactis* Bb12 içeren yoğurt alan tip 2 diyabetik hastalarda eritrosit SOD ve GPx aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir.¹⁴⁰ Probiyotiklerin oksidatif stres oluşumunun önüne geçilmesinde ürettikleri antioksidal metabolikler etkili olmaktadır. Oksidatif stresin temelinde rol alan DNA replikasyonu, onarımı ve metilasyonun etkinliği folat (folik asit B grubu vitamin) mevcudiyetinden etkilenir.¹⁴¹ Potansiyel olarak antioksidan uygulamaları nedeniyle, folat üretme yeteneği, çeşitli kökenlerden gelen çoklu probiyotik suşlarda yoğun bir şekilde araştırılmıştır.¹⁴² Bununla ilgili bir çalışmada *Bi-bac* bakterilerin hem ratlarda hem de insanlarda folat durumunu arttırdığını göstermiştir.^{143,144} Folatlar gibi GSH'da probiyotik antioksidan mekanizmasında etkili bir metabolittir. GSH hidrojen peroksitler gibi radikalleri ortadan kaldırır. Hidroksil radikalleri ve peroksinitrit esasen selenyum bağımlı glutasyon peroksidazı etkisiz kalmaktadırlar.¹⁴⁵ Kullisar ve ark. iki antioksidatif *Lactobacillus fermentum* suşunun (E-3 ve E-18) dikkate değer düzeyde GSH içerdiğini bulmuşlardır.¹³¹ Ayrıca *Lactobacillus fermentum* ME-3'te tam bir GSH sistemi bulunduğu açıklanmıştır.¹⁴⁶ Mikrobiyota ve fermentasyon yoluyla ince bağırsak tarafından kısa zincirli bir yağ asididir.¹⁴⁷ Bütirat üreten *Clostridium butyricum*'un MIYAIRI 588 suşunun hepatik oksidatif stresi baskılamak için alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı olan ratlarda antioksidaz indüklediği gösterilmiştir.¹⁴⁸ Konağın antioksidan metabolitlerinin seviyeleri de probiyotik tedavisi ile düzenlenebileceği bildirilmiştir.¹⁴⁹ Sonuç olarak probiyotiklerin gerek metalik iyon şelatlama yetenekleri, gerek antioksidan enzim sistemleri ve gerekse antioksidan metabolitlerle güçlü bir antiosidatif etkiye sahip oldukları kanıtlanmıştır.^{122,150,151}

2.2.6. Probiyotikler ve Apoptozis

Apoptoz, genetik bir özellik olan programlı hücre ölümüdür.^{152,153} Hücre sayılarının ve çoğalmasının denetiminde rol oynamaktadır. Bazı probiyotik çalışmalarında özellikle spesifik LAB suşlarının kanser risklerini azaltmaları ve tümör oluşumunu engellemelerinde apoptoz yollarıyla etkiledikleri bilinmektedir.¹⁵⁴ Radyasyonla oluşturulmuş deneysel kolitisli ratlarda probiyotik kullanımıyla Cas-3 aktivasyonun daha çok kript kök hücrelerinde önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Cas-3 enzimi DNA sarmalının oluşumunda görevli DNA parçalanma faktörü içeren endonükleazları aktif hale getirmektedir. Bu durumda apoptoza ilerleyen hücrelerde internükleozomal DNA hasarı gerçekleşir. Probiyotik kullanımıyla Cas-3 inhibisyonun sağlandığı ve böylece apoptozun durdurulduğu varsayılmaktadır.¹⁵⁵ Ancak bazı çalışmalarda ise probiyotiklerin pro-apoptotik etkisi ortaya konulmuştur.^{152,156} Probiyotikler ana enerji kaynağı olarak karbonhidrat kullanırlar ve kısa zincirli yağ asitleri üretirler. Asetik, propiyonik, bütrik ve laktik asitler başta olmak üzere probiyotiklerce üretilen birçok kısa zincirli yağ asitlerinin apoptozu indükledikleri bildirilmiştir.¹⁵⁷⁻¹⁵⁹ Özellikle sindirim kökenli kanser hastalarında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* bakterilerinin antiproliferatif ve antiapoptotik etkileri bildirilmiştir.¹⁶⁰ Ayrıca bazı çalışmalarda probiyotik bakteri suşlarının karaciğer, mesane ve meme tümörlerini pro-apoptotik etkiyle inhibe ettikleri görülmüştür.^{161,162} Başka bir çalışmada özellikle propiyonat ve asetat kısa zincirli yağ asitlerini üreten probiyotik bakterilerinin apoptoz yoluyla ciddi manada kolon kanserine karşı etkili oldukları bildirilmiştir.¹⁶³ Bunun dışında yine probiyotik kökenli kısa zincirli yağ asitlerinden biri olan bütiratında apoptozu indükleyerek kolon kanserini önlemede etkili olduğu görülmüştür.¹⁶⁴ Bakteri kültür süpernatantları ve probiyotik kökenli saf kısa zincirli yağ asitleri ROS ve LPO miktarını arttırırlar. Bu durumda trans membral mitokondri potansiyeli azalır. Böylece

antiapoptotik Bcl2 miktarı azalır ve sitokrom c düzeyi artar. Bu her iki durum cas-3 aktivitesini arttırırlar ve çekirdeğin kromatin stabilitesini bozarak hücreyi apoptoza sürükler.^{152,165}

2.3. Cisplatin

2.3.1. Cisplatin Genel Bilgi

Cisplatin ilk kez 1844 yılında Michele Peyrone tarafından sentez edilmiştir. Buna ithafen cisplatin “peyrone klodi” olarak adlandırılmıştır. Cisplatinin kimyasal yapısı 1893 yılında Alfred Werner tarafından açıklanmıştır. 1960’lı yılların başında ise Amerikalı biyofizikçi Barnett Rosenberg, platin elektrotları sayesinde uygulanan elektrik akımının E.coli bakterilerini öldürdüğünü fark etmiştir. Aynı uygulamaya maruz kalıp, yaşayan bakterilerinse inceliş uzadıklarını ve çoğalamadıklarını görmüştür.¹⁶⁶ Bu olayı elektrolit maddesi olarak kullandığı amonyum klorürün platin elektrotlarla tepkimeye girmesiyle ortaya çıkardıkları diklorodiaminplatinden kaynaklanmış olduğunu ileri sürmüştür. 1960’lı yılların sonlarında sitotoksik etkisi saptanan cisplatinin, 1970’li yıllarda faredeki kanserli hücreleri öldürdüğünün saptanmasıyla antineoplastik etkisi de keşfedilmiş oldu.¹⁶⁷ Cisplatinin kanser tedavisinde kullanılması Amerikan Gıda ve İlaç kurumu tarafınca 1978 yılında onaylanmıştır.¹⁶⁸ Antibakteriyel ve antineoplastik özelliği ortaya konulan cisplatin günümüze kadar yapılan çalışmalar ışığında çeşitli kanser türlerinde denenmiş ve birçoğunda başarılı bulunmuştur. Cisplatin günümüzde testis,¹⁶⁹ prostat kanseri,¹⁷⁰ ovaryum,¹⁷¹ serviks,¹⁷² mide,¹⁷³ baş ve boyun,^{174,175} akciğer,¹⁷⁶ meme,¹⁷⁷ Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma,¹⁷⁸ multiple myeloma,¹⁷⁹ nöroblastoma,¹⁷⁹ melanoma,¹⁸⁰ ve mezotelyoma¹⁸¹ gibi birçok organ/doku kanserlerinin tedavilerinde kullanılmaktadır. Kimyasal olarak yüksek elektrofilik özelliğe sahip olan cisplatin protein sülfidril grupları ve nükleik asitlerin azot verici bileşenlerle bağlanarak etkisini göstermektedir.¹⁸² Cisplatinin özellikle DNA ile çapraz bağlandığı ve DNA sentezini

inhibe ederek kanserli hücreleri öldürdüğü ortaya konulmuştur.¹⁸³ Ancak kanser hücrelerinin bertaraf edilmesi amacıyla kullanılan cisplatinin en büyük handikabı toksik yan etkisidir.¹⁸⁴ Cisplatinin toksik etkileri genellikle antioksidal biyotransformasyon, serbest radikalleri arttırması, mitokondri ve DNA hasarı gibi bazı selüler fonksiyon bozukluklarına yol açmasına bağlanmıştır.¹⁸⁵⁻¹⁸⁷ İlerde daha detaylı bir şekilde sitotoksik etkisi açıklanacak olan cisplatinin en bilinen yan etkileri nefrotoksisite ve hepatotoksisitedir.¹⁸⁸ Bunların yanı sıra cisplatinin ototoksisite, gastrointestinal toksisite, myelotoksisite ve periferik nöropatiye sebep olduğu bildirilmiştir.¹⁸⁸

2.3.2. Cisplatinin Moleküler Yapısı

Kimyasal formülü cis-[Pt(NH₃)₂Cl₂] olan cisplatin Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafınca terminolojik olarak cis-diamminedichloroplatinum (II) şeklinde adlandırılmıştır.¹⁸⁹ Cisplatin, temelde divalen platin iyonu ile 4 ligandın birleşiminden oluşan kare planar geometrik izomerideki kordine bir ağır metal bileşiğidir. Bu bileşik iki izomere sahip olup, bunlar cis ve trans izomerleridir. Bunlardan sadece -cis izomerinin sitotoksik etki olup, trans izomeri etkisizdir. Yatay düzlemde cis pozisyonunda olan cisplatinin, merkezinde platin atomu vardır. Bu konfigürasyonun solunda platin iyonu ile kuvvetli etkileşim yapan amin (amonyum) ligandları ve sağında ise platin iyonu ile DNA'nın bazı bazlarıyla bağlanmasını sağlayan klorür ligandları bulunur.^{190,191} Ayrıca bu kompleksin bağları arasındaki açılar eş değer ve DNA'ya bağlanmaya meyillidir. Cisplatin morfolojik olarak beyaz veya koyu sarı turuncu renkte, kristal yapıda ve suda çözünabilir özelliktedir. Güçlü bir alkilleyici olan cisplatinin moleküler kütlesi 301.1 gm/mol, özgül ağırlığı 3.74 g/cm³, erime ısısı 270°C ve parçalanma süresi 35.5 °C sıcaklıkta 63 dakikadır.^{167,192} Normal şartlar altında stabil olan cisplatin zamanla trans izomerine dönüşebilir. Cisplatin klorür konsantrasyonu yüksek olan plazma gibi ortamlarda stabil formda kalır. Ancak klorür

konsantrasyonun az olduğu intrasellüler ortamlarda ise bileşigindeki klorür iyonlarını kaybeder. Böylece DNA ve proteinler gibi büyük moleküllere reaktif elektrofillerini vererek çapraz bağlar oluşturur.^{190,191,193} Bu kovalent bağlar sayesinde hücrede hasara yol açarlar. Aynı şekilde platin atom merkezli başka platin birleşikleri de vardır. Ancak bunlardaki ligadlar farklılık göstermektedir. Cisplatin benzeri bu platin türevlerinin başlıcaları; nedaplatin, heptaplatin, lobaplatin, karboplatin ve oksaliplatin'dir¹⁹⁴ Bu platin türevleri içinde en sık kullanılanı cisplatin olup, kısmen karboplatin ve oksaliplatin de klinik uygulamalarda yer almaktadır.¹⁹⁵ Klinik uygulamada kullanılan cisplatinin farmakolojik adı cisdiamminedchloroplatinum II ($Cl_2H_6N_2Pt+2$, CDDP) olup, sıklıkla neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılır¹⁹⁶

2.3.3. Cisplatin Etki Mekanizması

Cisplatin etki mekanizması, ilacın vücuda ilk alındığındaki durumu, hücre içerisine taşınması ve hücre içi sistemdeki metabolizasyonu olmak üzere 3 aşamada değerlendirilir.¹⁹⁷ Sisplastin sindirim yolunda emilimi olmadığı için genellikle damar içi uygulanır. Cisplatin damar içi uygulamadan 1 saat sonra böbrek, karaciğer, kas ve deride birikmektedir. Şayet yüksek miktarlarda verildiğinde 7 günden daha fazla bir süre de böbrek ve karaciğerde bulunabilir.¹⁹⁸ Cisplatin vücuda ilk alındığında %90'nı kanda bulunur. Dolaşıma dâhil olan cisplatin plazma proteinlerine bağlı olarak bulunur. Zamanla kandaki cisplatin hücre içerisine nüfuz eder. Ancak damar içi uygulamadan 12 gün sonra bile plazmada yüksek konsantrasyonda cisplatin tespit edilmiştir. Hücre içerisinde ise serbest formda bulunur.¹⁹⁹ Cisplatin tatbikinin ardından ilkin plazmadaki yoğunluğun yarılanma süresi 25-50 dakika kadar sürmektedir. Cisplatin daha çok böbrek olmak üzere, testis, karaciğer ve bağırsaklarda bir hayli fazla bulunmaktadır. Ancak santral sinir sistemindeki konsantrasyonu oldukça düşüktür.²⁰⁰ Cisplatinin hücre içi birikimi en çok mitokondri, çekirdek ve lizozomda olmaktadır. Dolayısı ile mitokondri

bakımından zengin olan kalp, cisplatin toksisitesine maruz kalan organdır.²⁰¹ Hücre içi cisplatin uygulamasından sonraki 24 saatin içinde ilacın ¼ idrarla atılır. 5. günde ise toplam uygulanan miktarın nerdeyse yarısı idrarla atılmış olur. İlacın safra yoluyla ve dışkıyla atılımı oldukça azdır. Cisplatinin vücuttan atılımının %90 idrarla sağlanmaktadır. Bir miktarı da safra ile atılmaktadır. Bu durum muhtemelen bu iki organın cisplatin toksisitesinin en fazla görüldüğü organ olmalarını açıklamaktadır.²⁰⁰ Cisplatinin klirensi fazladır ki; bu aktif bir şekilde böbrek hücrelerinde biriken cisplatin ve ara ürünlerinin pasif taşınım ile tübüllere sekrete edildiğine işaret etmektedir.¹⁹⁹ Halen hücre içerisine geçişi tam manasıyla aydınlığa çıkarılamayan cisplatinin intrasellüler transportu hücre tipine göre farklılık göstermektedir. Her ne kadar daha önceden cisplatinin hücre içine transportunun pasif diffüzyonla oluştuğu kanaati hakim olmuş olsa da günümüz çalışmalarında cisplatinin hücre içine taşınmasında bakır transport proteinlerinin rolü olduğu bilinmektedir.²⁰² İntrasellüler transport mekanizması elektriksel, voltaj bağımlı, çift yönlü, pH ve sodyumdan bağımsız bir mekanizmadır. Transportta rol alan proteinlerin başlıcaları; bakır taşıyıcılar (cupper transporter: Ctr) Ctr1 ve Ctr2, bakır taşıyıcı P tipi ATPaz'lar (ATP7A ve ATP7B), organik katyon taşıyıcılar (organic cation transporters: OCT) OCT1 ve OCT2), çoklu ilaç ve toksin atılım taşıyıcısı-1 (multidrug and toxin extrusion transporter: MATE) MATE-1'dir.²⁰³ Bu proteinlerden OCT2 ve MATE-1 daha çok böbrek ve karaciğer gibi organlarda ekspire edilmektedir. Diğer proteinler ise çoğu dokularda benzer oranda bulunmaktadır. Bu proteinler genellikle cisplatinin hücre içine girmesiyle sorumluyken; ATP7B aksine metabolize olan cisplatinin hücre dışına çıkmasında rol üstlenmektedir.²⁰² Cisplatin için ayrı bir önem taşıyan renal sistemde cisplatinin intrasellüler transportunda bilhassa OCT'ler rol almaktadır. OCT'ler böbrek tubul epitellerinde bir tek cisplatin değil farklı bileşiklerinde taşınmasında görev alırlar. Bunlardan böbrekte cisplatinin hücre içine taşınmasında en

elzem olanı OCT 2'dir. Karaciğerde ise bunun yerini OCT 1 almaktadır. Her dokuda farklı miktarda bulunan bu proteinler söz konusu organların cisplatine karşı hassasiyetini belirler.²⁰⁴ Gerek OCT 1 gerekse OCT 2 ekspresyonları böbrekte oldukça fazladır ki; kuvvetle ihtimal, bu durum cisplatin nefrotoksitesinde etkilidir.²⁰³ Söz konusu proteinler vasıtasıyla hücre içine taşınan cisplatin, hücre içine girdikten sonra bileşiğindeki klor ligadları su ve hidroksil iyonlarıyla reaksiyona girer. Bu yer değiştirme tepkimesiyle aktif hale geçen cisplatin “monoakua” $[cis-(NH)PtCl(HO)]^+$ ve “diaqua” $[cis-(NH)Pt(HO)]^{2+}$ olarak adlandırılan formlara dönüşür. Özellikle lipit ve protein gibi makromoleküllere bağlanan cisplatin bu özelliği ile oksidatif strese neden olur.²⁰⁵ Hidrolize olan bu ürünler cisplatine nazaran bin kat daha kuvvetli bir hidrofili halini alırlar. Ve bu oluşumlar proteinlere bağlı sülfidril grupları ve nükleik asitlerdeki azotlu yapılar gibi herhangi bir nükleofilik gruplarla tepkimeye girerler.²

Plazmada yüksek klor konsantrasyonu nedeniyle trans formda, yani nötr bulunan cisplatin, hücre içinde kandakine göre 1/5 konsantrasyondaki klor mahalinde hidrolize uğrayarak aktif hale geçip, cis formuna dönüşür.¹⁹⁹ Cisplatin hücre içinde 1/10 kadarı genomik DNA'ya bağlanırken; geri kalanı ise hücrenin hayati fonksiyonlarında görev alan proteinlere ve diğer sellüler oluşumlara (RNA, enzim vs.) bağlanır.²⁰⁶ Cisplatin her ne kadar çoğu hücre kompartmanlarıyla reaksiyona giriyor olsa da en etkili biyolojik hedefi DNA'dır. Bundan kasıt hem genomik hem de mitokondriyal DNA'dır.²⁰² Cisplatin bu özelliği sayesinde pürin bazına bağlanır.²⁰⁷ Bu durum DNA replikasyonunun sağlıklı hücreye göre sıkça gerçekleştiği, malignite kazanmış kanserli hücrenin DNA'sında replikasyon ve transkripsiyon inhibisyonuna ve hücre bölünmesinin durmasına bağlı olarak hücre hasarına yol açmaktadır. Şayet hücre hasarı onarılamaz ise apoptoz kaçınılmaz bir sonudur.^{2,207} Cisplatinin DNA ile etkileşiminde guanine moleküllerinin daha etkili olduğu bilinmektedir. Bu guanin rezidülerinin başında N7 ve O6 molekülleri

gelmektedir. Çift klor ligadı taşıyan cisplatinin bir klor bileşeni guanin rezidülerine bağlanırken ikinci klor bileşeni ise aynı zincir sarmalındaki bir başka baz ile bağlanarak çapraz bağlanma gerçekleştirmiş olur veya ikinci bağlanma karşı zincirdeki başka bir guanin rezidüleriyle de gerçekleşerek kovalent bağlanma sağlanmış olabilir.^{206,208} Bağlanmalar daima pürin bazları arasında olur. Bu zincirler arasındaki bağlanmaların 1/10'i adenin-platin-guanin (ApG) kompleksi oluştururken; geriye kalan kısmı ise guanin-platin-guanin (GpG) bağlanmaları ile oluşturmaktadır. Bu bağlanmalar DNA hasarına yol açar.^{207,209} Cisplatin DNA hasarının yanı sıra mitokondride yıkıma, hücre içi geçiş sisteminin bozulmasına ve ATPaz aktivitesinin blokasyonuna yol açar.^{188,210}

2.3.4. Cisplatin Endikasyonları

Cisplatin sitotoksik etkisinden istifade edilerek kanserle tedavide sıklıkla kullanılan kemoterapötik bir ajandır.²¹¹ Cisplatin günümüzde baş-boyun kanserleri^{174,175} küçük hücreli akciğer kanseri,¹⁷⁶ over kanserleri,¹⁷¹ meme tümörleri,¹⁷⁷ serviks,¹⁷² prostat kanseri¹⁷⁰ multiple myeloma,¹⁷⁹ melanoma,¹⁸⁰ mezotelyoma,¹⁸¹ mide kanserleri,¹⁷³ testis kanserleri,¹⁶⁹ nöroblastoma²¹² Hodking ve non-Hodgkin lenfomaların¹⁷⁸ sağaltımında kullanılmaktadır. Cisplatin çoğunlukla BCNU (carmistune), 5-FU (flourouracil), siklofosamid, dosetaksel, paklitaksel gibi antineoplastik ilaçlarla kombine uygulanır.²¹³ Cisplatinin gastrointestinal absorpsiyonu olmadığı için ya intravenöz ya da intraperitoneal yolla uygulama yapılmaktadır.²¹⁴ Cisplatin dışında lobaplatin, nedaplatin, karboplatin, heptaplatin ve oksaliplatin gibi bazı platin esaslı maddeler de kanser tedavisi için denenmiştir.¹⁹⁴ Ancak bunlardan sadece oksaliplatin ve karboplatin tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Yine de en yaygın ve etkili kullanılan platin türevi cisplatindir.²¹⁵ Cisplatin kanserle mücadelede amacına hizmet etmektedir. Ancak bu özelliğinin yanı sıra birçok organda istenmeyen toksik etki yapmaktadır. Özellikle cisplatin eliminasyonun %90'nın gerçekleştirildiği böbrek cisplatin tedavisinde en çok etkilenen organdır.

Cisplatin böbrekteki nefrotoksisitenin yanı sıra hepatotoksisite, myelotoksisite, nörotoksisite, kardiyotoksisite ve ototoksisteye yol açtıkları bilinmektedir.²¹⁶⁻²¹⁹ Beşeri hekimlik dışında veteriner hekimliğinde de cisplatin kullanımı yer bulmaktadır. Fakat cisplatin evcil hayvanlardan sadece köpeklerde uygulanmaktadır. Köpeklerin yassı hücreli kanserleri, plevral adenokarsinom, nazal karsinomları, osteosarkomlar, troid karsinomları, over ve mediastinal kanserlerinde kemoterapötik ajan olarak kullanılmaktadır.²²⁰ Köpeklerde de insanlardaki gibi cisplatinin toksik yan etkileri bildirilmiştir. Cisplatinin köpeklerde kullanımından sonra en çok karşılaşılan yan etkisi kusmadır. Bunun yanı sıra yine insanlardaki gibi nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite, trombositopeni, periferik nörotoksisite ve ototoksisite ile karşılaşılmaktadır.²²¹ Günümüzde yapılan çalışmalarda cisplatinin bu olumsuz etkilerini azaltmaya veya tamamen ortadan kaldırmaya yönelmektedir.²²²

2.3.5. Cisplatin Toksisitesi

Cisplatin toksisitesi üzerine birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen hala tam anlamıyla toksik etkisi açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak şu bilinmektedir ki; cisplatin toksisitesi tek bir sebebe dayandırılmayacak kadar karmaşık bir dizi olaylar sonucu ortaya çıkar. Cisplatinin toksisitesi birbirine doğrudan ve ya dolaylı olarak bağlı bir takım hücrel sistemlerin bozulmasından kaynaklanmaktadır.^{197,219,223} Cisplatin toksisitesinin temelinde genellikle glutasyon biyotransformasyonu,²²⁴ DNA hasarı,²⁰⁶ oksidatif stres orjinli mitokondriyal disfonksiyon,²²⁵ membran defekti²²⁶ ve enerji noksanlığı²²² yer almaktadır. Bunların yanı sıra inflamasyonun uyarılması²²⁷ ve apoptozisin indüklemesi²²⁸ de cisplatin toksisitesinden sorumlu tutulmaktadırlar.²²³ Cisplatin bu olayların gelişmesinde ya doğrudan tetikleyici faktördür yâda sebep olduğu hücrel bir hasardan ötürü bu olaylar meydana gelmektedir.

Cisplatin toksisitesinde glutasyon biyotransformasyonu önemli bir rol oynamaktadır. Yapısında holejen içeren bir alkilleyici olan cisplatin, glutatyon-S-transferaz (GST) sayesinde glutasyonla (GSH) birleşerek platin-glutasyon (Pt-GSH) konjugatlarını meydana getirir.²²⁴ Bu kararsız yapıdaki Pt-GSH konjugatları, Gamma Glutamil Transferaz (GGT) tarafından hücre dışında Pt-sistein-glisin konjugatlarına dönüşür.²²⁹ Hücre içine giren Pt-sistein-glisin konjugatları beta liyazlar aracılığı ile reaktif tiyollere metabolize olurlar. Bu reaktif sistein tiyolleri ise hücrelerdeki esansiyel proteinlere bağlanarak hücrenin hasarına ve ölümüne yol açarlar.^{222,230} Birçok çalışmada cisplatin toksikasyonunda DNA hasarı bildirilmiştir.^{223,227,228} DNA hasarı sadece nükleer DNA için geçerli olmayıp, mitokondriyal DNA için de söz konusudur.¹⁸³ Ancak burada şimdilik genomik DNA hasarı üzerinde durulacaktır. Zira mitokondriyal DNA hasarı mitokondriyal disfonksiyondan ayrı bir olay değildir.¹⁸³ Çeşitli taşıyıcılarla (OCT, CTR vs.) hücre içerisine taşınan cisplatin genomik DNA'ya bağlanır.^{204,231,232} Bu durum DNA hasarının temelini oluşturmaktadır. Hücre dışındaki yoğun klor konsantrasyondan ötürü trans formda etkisiz bulunan cisplatin, hücre içindeki düşük klor yoğunluğunda aktifleşerek cis formuna geçer ve cisplatinin sağında yer alan bir çift klorür ligadları DNA ile kovalent bağlanma gerçekleştirir.^{206,207} Cisplatindeki bu klorlü ligadlar DNA'nın özellikle guanin bazına bağlanır. Bu bağlanma daha çok guanin üzerindeki N7 ve O6 molekülleri arasında interstrand veya intrastrand olarak gerçekleşir.²⁰⁶ Bu durum replikasyon, translasyon, transkripsiyon ve DNA onarımı gibi genomik olayların inhibisyonuna sebep olur. Böylelikle DNA hasarı, replikasyon ve transkripsiyon inhibisyonu bir dizi hücresel olayları tetikleyerek hücreyi apoptoza sürükler.²⁰⁷ Aslında cisplatinin vurgulanmaya değer antikanserojenik etkisi de tam da bu noktada kendini gösterir. Fazlaca bölünen ve dolayısıyla replikasyon ve transkripsiyon işlemi gerçekleştiren kanserli hücreler cisplatin sayesinde apoptozise doğru yol almaktadır.^{233,234}

Ancak aynı durum kısmen sağlıklı hücreler içinde geçerli olmaktadır. Sonuç olarak cisplatinin DNA'ya bağlamasındaki sitotoksiste DNA hasarına ve hücre siklusunun bozulmasının ardından hücre ölümüyle olmaktadır.

Oksijen türevlerinin üretimi ile biyolojik bir sistemin pro-oksidanların etkisine karşı koyma arasındaki dengesizliğin bir sonucudur. Bir hücrenin normal redoks durumundaki herhangi bir değişikliği hücreye zarar verebilecek oksidatif strese neden olur.²³⁵ Cisplatinin toksisitesinde mitokondriyal disfonksiyonun meydana gelmesinde oksidatif stres öncül sebep olarak görülmektedir. Oksidatif stresin oluşmasının temelinde cisplatinin glutasyon tüketimine yol açması yatmaktadır.^{224,225,236} Mitokondri oksidatif solunum yaparak hücrenin enerji ihtiyacını karşılayan önemli bir organeldir. Bu özelliği mitokondriyi antioksidanlarla muhafazasını elzem kılmaktadır.^{237,238} Bir başka açıdan antioksidan kusurları bu organelin oksidatif strese karşı hassasiyetinin sebebini oluşturmaktadır.²³⁶ Cisplatinin önemli bir antioksidan olan glutasyon tükenimine yol açtığı bilinmektedir. Cisplatinin glutasyon biyotransformasyonu ile ortaya çıkardığı glutasyon konjugatları reaktif oksijen türevlerinin (ROS) artışına yol açar.^{222,224,225} ROS'lar mitokondriyal solunum ve redoks dengesini bozduğu için sitotoksiste de yer alan glutasyon biyotransformasyonun mitokondriyal hasarı tetiklediğini göstermiştir.²²² Aşırı ROS üretimi sonucunda oluşan lipid peroksidasyonunun hücre defektine yol açtığı ortaya konulmuştur.^{202,239} Ancak yalnızca hücre membranı için geçerli olmayan bu membran defekti aynı şekilde membranlı organellerinde hasarına neden olmaktadır. Bu organellerin başında yine mitokondri gelmektedir.^{238,239} Hücre membranındaki defekt, hücre transportunun (sodyum, klor, potasyum ve su alınımı) bozulmasıyla hücre ölümüne yol açarken; mitokondriyal membran defekti de sinyal moleküllerinin aktivasyonuna (kalsiyum depolarizasyonu) ve pro-apoptotik genlerin transkripsiyonuyla hücre ölümüne neden olmaktadır.^{234,239-241} Ayrıca lipid peroksidasyonu hücreler için ana enerji kaynağı

olan yağ asitlerinin oksidasyonuna ve enerji noksanlığıyla da hücre ölümü meydana gelebilir.²³⁷ Cisplatin toksisitesinde genellikle en çok etkilen organelin mitokondri olması hasebiyle sitotoksistelerde mitokondriyal hasarın rolü büyüktür. Antioksidan mekanizmanın aksamasıyla mitokondri matriksinde ROS birikimi, antioksidan noksanlığında lipit peroksidasyonu mitokondriyal membran hasarı, mitokondriyal DNA ile çapraz bağın oluşması (genomik DNA hasarının 4-6 katı kadar) ve enerji üretiminin aksaması cisplatinin mitokondri üzerinde toksik etkileri neticesinde hücre ölümünün sebeplerini oluşturmaktadır.^{183,202,206,222,238} Özellikle mitokondri bakımından zengin olan kardiyomiyositlerdeki mitokondriyal disfonksiyon cisplatinin kardiyositotoksik etkisini açıklar niteliktedir.^{242,207,243,244} Cisplatinin, çok sayıda inflamatuvar kemokin ve sitokin salınımını indüklediği bildirilmiştir.^{227,245} Bunlar arasında en çok bilinenleri redoks duyarlı nükleer faktör kappa B'nin (NF- κ B) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)'dır.²⁴⁶ Cisplatin, hücre hasarına bağlı model moleküllerinin (DAMP'ler) salınmasına yol açtığı için toll benzeri reseptörleri (TLR 4) aktive ederler.²⁴⁷ Dolayısı ile de bu reseptörlerin aktivasyonu hem yangı hücrelerinden, hem de diğer hücrelerden TNF-a üretimine sebep olur. Bu inflamatuvar faktörlerin indüksiyonu ise nötrofil ve makrofaj göçünü tetikler.²⁴⁸ Bu sitokin ve kemokinlerle beraber yangı hücrelerinin ürettiği ROS hücre ölümüne yol açar.²²² Cisplatin toksisitesi çalışmalarında dikkat çeken bir başka olay ise apoptotik mekanizmanın aktivasyonudur.²²³ Cisplatinin, Bax ve Bak'ı (Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik proteinleri) aktive eden hücresel strese neden olduğu bildirilmiştir.²⁴⁹ Bunlar da mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (MPTP) açılmasına sebep olurlar. Bu durumda mitokondriden sitozole sitokrom c, endonükleaz G ve apoptozu indükleyen faktörler (AIF) salınır.²⁵⁰ Bu pro-apptotik faktörlerden sitokrom c oksidaz, caspazı aktive eder. Böylece caspazın aktivasyonu apoptozu başlatır. Endonükleaz G ve AIF ise mitokondriden salındıktan sonra çekirdekte

caspazdan bağımsız olarak apoptozu indükler.^{206,233,251} Ayrıca son çalışmalarda cisplatin toksisitesinde tümör baskılayıcı protein p53'ün ekspresyonu bildirilmiştir. Cisplatin tarafından indüklenen DNA hasarının fosforilasyonu p53 aktivasyonu gerçekleştirir. p53 aktivasyonu PUMA- α (p53-yukarı regüle edilmiş apoptoz modülatörü) ve PIDD (ölüm alanına sahip p53-indüklenmiş protein) dâhil olmak üzere bazı apoptotik genleri uyarır.²⁵⁰ Bunlardan PUMA-a'nın cisplatin ile aktivasyonu, Bcl-XL'nin (Bcl-2 ailesinin bir üyesi) anti-apoptotik etkisini nötralize ederek, Bax'ın daha fazla MPTP açmak için serbest olmasını sağlayarak yukarıda tarif edildiği gibi apoptoza yol açar. PIDD'nin aktivasyonu ise sırayla, mitokondriden AIF'nin salınmasına apoptozun indüklenmesine neden olan kaspas 2'yi aktive ederek apoptozu meydana getirir.^{238,240,251} Ayrıca bir çalışmada kalp dokudaki hücrelerin ER stresi sonucunda caspaz-3 aktivasyonu apoptozunun meydana geldiği bildirilmiştir.^{243,244,251} Cisplatinin tüm bu sitotoksik etkileri her hücre için aynı olmaması nedeniyle cisplatine bağlı organ/doku toksikasyonları da farklılık göstermektedir. Tabi lezyonlar ve şiddeti de buna paralel olarak değişmektedir.¹⁹⁷ Bu değişiklikte özellikle cisplatinin hücre içi transportunda görev alan taşıyıcıların varlığı ve miktarı önem arz etmektedir. Böbrek bu toksisiteye en duyarlı organ olup, bunların yanı sıra karaciğer, kalp ve intestinal sistemde etkilenmektedir.^{219,243,244} Mevcut bilgiler ışığında cisplatinin nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite, gastrointestinal toksisite, nörotoksisite, miyelosupresyon, spermiotoksisite ve ototoksisiteye sebep oldukları bilinmektedir.²¹⁶⁻²¹⁸ Son çalışmalar kanser mücadelesinde etkin olan ancak aynı zamanda antioksidal blokaj ile zararlı bu maddeyi antioksidanlarla destekleyerek daha makul bir kullanım metodunu geliştirmeyi amaçlamaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

Araştırmamızda, ratlarda Cisplatin (7.5 mg/kg, intraperitoneal, 3 doz) ile indüklenen kardiyotoksisite modeli üzerinde çalışıldı. Belirlenen gruplara probiyotik (1 ml/mg/kg dozda 7 gün) intragastrik (i.g.) protektif amaçlı uygulandı. Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Ratlar, çalışma zamanına kadar yaklaşık olarak 25⁰C'lik oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü ayarlanabilen ve havalandırması mevcut bir ortamda muhafaza edilerek ad-libitum olarak beslendi. Yeterli kan ve kalp dokusu örneklerinin sağlanabilmesi için 220-250 gr ağırlığa sahip 12 haftalık yetişkin Sprague Dawley cinsi erkek ratlardan her grupta 7 adet olmak üzere toplamda 28 adet kullanıldı. Deney grupları aşağıdaki gibi oluşturuldu;

Tablo 3.1. Deneme grupları

Grup sayısı	Grup isimleri	Hayvan sayısı
Grup 1	Kontrol	7
Grup 2	Cisplatin (7.5 mg/kg)	7
Grup 3	Probiyotik 2 (1 ml/mg/kg i.g.) +Cisplatin (7.5 mg/kg, i.p.)	7
Grup 4	Probiyotik 2 (1 ml/mg/kg i.g.)	7

Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına tabi tutuldular. Grup 1'e 7 gün boyunca i.g. 1 ml distile su ve Grup 2'ye ise 4 gün boyunca i.g. distile su ve 5-7. Günler arası 3 gün boyunca intra peritoneal (i.p.) Cisplatin (7.5 mg/kg) uygulandı. Grup 3'e 7 gün boyunca 1 ml/mg/kg dozunda i.g. Probiyotik uygulaması yapıldı. Grup 4'e 1 ml/mg/kg i.g. dozlarda 7 gün boyunca i.g. Probiyotik uygulandı. Probiyotik uygulamasının 5. günü 3 gün boyunca i.p. Cisplatin (7.5 mg/kg dozunda) enjekte edildi. Deneysel uygulamalar sonunda ratlardan ketamin-ksilazin ile anestezisi altında intrakardiyak olarak antikoagülanlı ve antikoagülanlı tüplere kan alındıktan sonra,

servikal dislokasyonu takiben kalp dokuları alındı. Tüm gruplardan kalp dokuları histopatolojik ve immunhistokimyasal incelemeler için serum fizyolojik ile yıkamayı takiben hemen formaldehit içine alındı. Cisplatin bileşiği kardiyotoksisite yanı sıra karaciğer, böbrek, testis, beyin ve akciğerlerde de toksisiteye neden olduğundan çalışmamızın sonunda, farklı bir çalışmada bu dokularda fizyolojik ve biyokimyasal analizler, histopatolojik ve immunhistokimyasal incelemeler yapılabilmesi için karaciğer, kalp, testis, beyin ve akciğer dokuları da alındı.

3.1. Probiyotik Hazırlanması

Lactobacillus suşlarının izolasyonu için, De Man, Rogosa ve Sharpe'nin (MRS, Merck, Almanya) damla plak tekniği yöntemi kullanıldı. Şuşlar anaerobik agar ortamına ekildi ve plaklar 30 ila 48° C'de inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda yapılan katalaz testi sonucunda negatif koloniler APICH50 ile tanımlandı.²⁵² Tanımlamanın sonunda Lactobacillus lactis, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus fermentum ve Lactobacillus brevis izole edildi. Bakteriler, santrifüj yoluyla süpernatant kültüründen ayrıldı, fosfatlı tompon solüsyonu ile yıkandı ve fosfat tamponu tuzlu su içinde yeniden süspanse edildi. Karışımın nihai konsantrasyonu, 1 mL'de 105 laktik asit bakterisi içerecek şekilde ayarlandı.

3.2. Serum Örneklerinin Hazırlanması ve Saklanması

Ratlardan alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktararak +4°C'de soğutmalı santrifüjde 3500-4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri aligotlanarak analizler yapılana dek -80°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda ratlardan elde edilen dokularda oksidan ve antioksidan parametreler (malondialdehit (MDA), superoksit dismutaz (SOD), Glutatyon (GSH)

Nitrik oksit (NO) spektrofotometrik yöntem aracılığıyla belirlendi. Troponin I'ya Rat Kardiyak Troponin Test Kiti (Katalog No: KT-478) ile ELISA yönteminde bakıldı. CK, CK-MB ve LDH ise Modüler pp oto analizöründe tayin edildi.

3.4. Histopatolojik İnceleme

Kalp dokusu örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Bu dokular fikzasyon sonrası dereceli alkol ve ksilen serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler 50-100 mikrometre aralıklarla seri olarak alındı. Alınan kesitlere hemotoksilen eosin boyaması yapılarak histopatolojik değişiklikler değerlendirildi. Histopatolojik bulgular kör patoloji metoduyla her dokudan farklı beş bölge değerlendirmeye alındı.²⁵³ Bu bölgede bulunan hücrelerin sayısı ve oranına göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi. Oranlar Tablo 3.2. de verilmiştir.

Tablo 3.2. Kalp doku örneklerinde histopatolojik bulgularının skorlanma kriterleri

	Yok (-)	hafif (+)	orta (++)	şiddetli (+++)
Kas liflerinde hyalin dejenerasyonu	0	%3-5	%6-10	%10<
Kas liflerinde zenker nekrozu	0	%2-3	%4-7	%7<
Damarlarda hiperemi	0	%3-5	%6-10	%10<

3.5. İmmunohistokimyasal İnceleme

İmmunperoksidaz inceleme amacıyla adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, deparafinize ve dehidre edildi. Daha sonra distile suda 5 dk yıkandı. Fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 7.2) ile 5dk yıkanıp, % 3'lük H₂O₂ de 10 dk tutularak, endojen peroksidaz inaktive edildi. PBS de 5-10 dk yıkandıktan sonra, nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikorlarla uyumlu olan Protein blok ile 5 dk inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solusyonunun fazlası döküldükten sonra yıkanma

yapılmadan primer antikorlar (Tnf α , Caspase-3 ve Bcl) ve kontrol grubunda PBS damlatıldı. Primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. PBS ile 2 kez 5'er dk yıkanıp, biotinize sekonder antikör ile oda sıcaklığında 10-30 dk. inkube edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 10-30 dk. bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra kesitlere 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kromojen, damlatılarak kromojeni almasına göre 5-10 dk. bekletildi. Zemin boyanması için Mayer's hematoksilende 1-2 dk. tutulduktan sonra musluk suyunda yıkandı. Daha sonra alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobu (Leica DM 1000) ile incelendi. Kesitler immun pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.^{254, 255}

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Duncan testi uygulanarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Bulgular

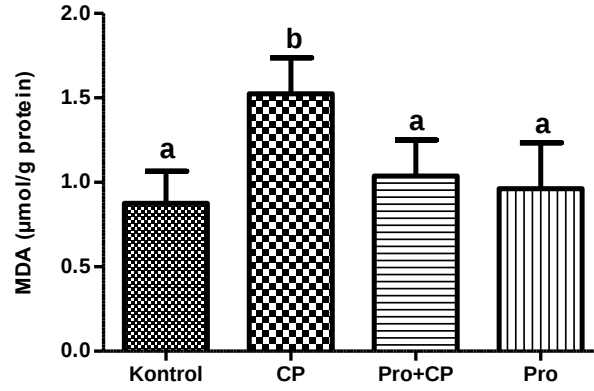
Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisite modelinde serum CK, CK-MB, Troponin-I ve LDH düzeyleri değerlendirildiğinde, bu enzimlerin düzeylerinin CP grubunda kontrole göre anlamlı düzeyde arttığı belirlendi (Tablo 4.1., $p<0.01$). CK ve LDH seviyelerinin tedavi grubunda CP grubuna göre önemli düzeyde azaldığı, ancak kontrole göre yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 4.1., $p<0.05$). CK-MB ve Troponin-I enzimlerinin Pro+CP grubunda toksisite grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı (Tablo 4.1., $p<0.01$) ve kontrol grubuna göre ise farklılık arz etmediği belirlendi. Yalnızca probiyotik uygulamasının CK, CK-MB ve Troponin-I seviyelerini kontrole göre değiştirmede, LDH düzeylerinin ise kontrole göre bir miktar arttığı tespit edildi (Tablo 4.1, $p<0.05$). Deney gruplarında bu enzimlerin düzeyleri Tablo 4.1’de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede CK, CK-MB, Troponin-I ve LDH düzeyleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel farklılık vardır.

Deney Grupları				
	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
CK	749,51 ±61,59 ^a	2443,66±233,96 ^b	1287,17±97,44 ^c	940,67±93,61 ^a
CK-MB	522,00±80,70 ^a	1198,83±171,48 ^b	671,33±157,65 ^a	643,00±173,08 ^a
Troponin I	5,04±0,39 ^a	8,12±0,57 ^b	5,97±0,56 ^a	5,65±0,60 ^a
LDH	611,50±66,24 ^a	1511,50±190,34 ^b	785,50±82,96 ^c	671,83±80,28 ^a

a,b: $p<0.01$; a,c ve b,c: $p<0.05$

Deney gruplarında MDA parametresi değerlendirildiğinde, MDA düzeylerinin CP grubunda kontrol, Pro+CP ve Pro gruplarına göre anlamlı düzeyde arttığı belirlendi (Şekil 4.1 ve Tablo 4.2, $p<0.01$). Tedavi grubunda MDA seviyesinin CP grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 4.1 ve Tablo 4.2, $p<0.01$). Tek başına probiyotik uygulamasının ise kalp dokusunda MDA düzeylerini etkilemediği belirlendi.

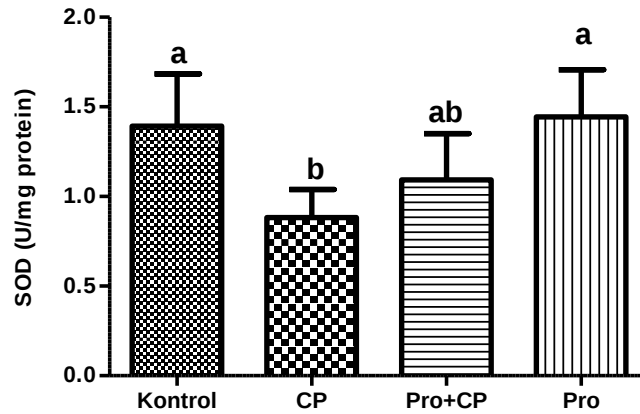


Şekil 4.1. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak MDA seviyeleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri

Tablo 4.2. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak MDA seviyeleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel farklılık vardır).

	Deney Grupları			
	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
MDA (μmol/g -protein)	0,88±0,19 ^a	1,53±0,21 ^b	1,04±0,21 ^a	0,96±0,27 ^a

Deney gruplarında SOD aktiviteleri değerlendirildiğinde, CP grubunun kalp dokularında SOD aktivitesinin kontrol ve Pro gruplarına göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlendi (Şekil 4.2 ve Tablo 4.3, $p<0.01$). Tedavi grubu olan Pro+CP grubunda SOD aktivitesi CP grubuna göre yüksekti ancak istatistiksel fark görülmedi (Şekil 4.2 ve Tablo 4.3, $p<0.01$). Aynı zamanda tedavi grubunda SOD aktivitesinin kontrol ve Pro gruplarına göre düşük olduğu fakat istatistiksel anlam ifade etmediği tespit edildi.

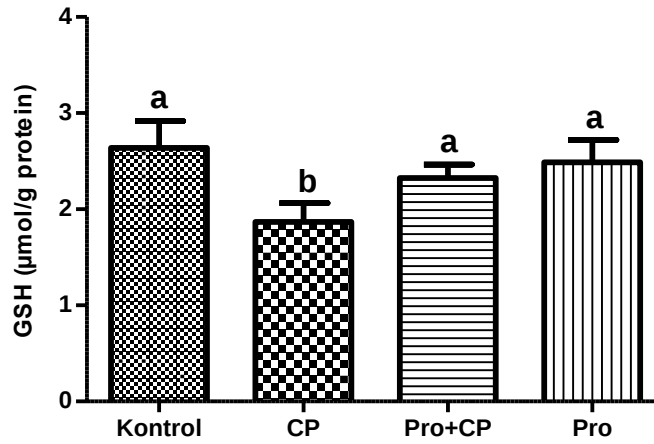


Şekil 4.2. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak SOD aktiviteleri üzerine Probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.

Tablo 4.3. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak SOD aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel farklılık vardır).

Parametre	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
SOD (U/mg protein)	1,39±0,29 ^a	0,93±0,15 ^b	1,09±0,26 ^{ab}	1,44±0,26 ^a

CP grubunda GSH seviyesinin diğer gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlendi (Şekil 4.3 ve Tablo 4.4, $p<0.01$). Pro+CP grubunda SOD aktivitesi kontrole göre düşük olduğu ancak istatistiksel önem arz etmediği tespit edildi. Tek başına Pro uygulamasının kardiyak GSH seviyesinde bir değişikliğe neden olmadığı gözlemlendi.



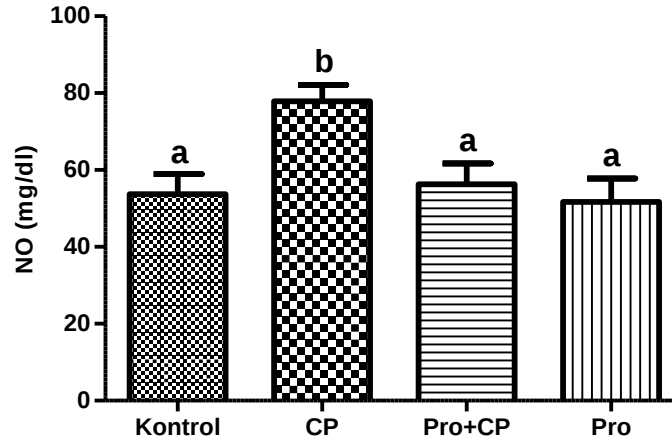
Şekil 4.3. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak GSH aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri.

Tablo 4.4. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak GSH aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel farklılık vardır).

Parametre	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
GSH (µmol/g protein)	2,64±0,28 ^a	1,87±0,20 ^b	2,33±0,14 ^a	2,49±0,23 ^a

Deney gruplarında ratların kalp dokularında NO düzeyleri değerlendirildiğinde, CP grubunda NO düzeyinin diğer gruplardan anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 4.4 ve Tablo 4.5, $p<0.01$). Tedavi grubunda Kardiyak NO düzeylerinin CP grubundan anlamlı düzeyde düşük olduğu ve kontrol grubu ile farklılık arz etmediği

görüldü. Ayrıca, tek başına Pro uygulamasının NO düzeylerinde bir değişikliğe sebep olmadığı belirlendi (Şekil 4.4 ve Tablo 4.5, $p<0.01$).



Şekil 4.4. CP ile indüklenen kardiyotoksisitede kardiyak NO aktiviteleri üzerine Probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri

Tablo 4.5. Ratlarda CP ile indüklenen kardiyotoksisitede deney gruplarında kardiyak NO aktiviteleri üzerine probiyotik (Pro) uygulamasının etkileri (Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasında istatistiksel farklılık vardır).

Parametre	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
NO (mg/dl)	53,67±5,32 ^a	77,83±4,26 ^b	56,33±5,39 ^a	51,67±6,15 ^a

4.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grup: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelemesinde, normal histolojik görünümde olduğu tespit edildi (Şekil 4.5).

Cisplatin (7.5 mg/kg) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelemesinde, myokartta şiddetli düzeyde hyalin dejenerasyonu ve zenker nekrozu, interstisyel damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi ve hemoraji gözlemlendi (Şekil 4.6). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) fark tespit edildi.

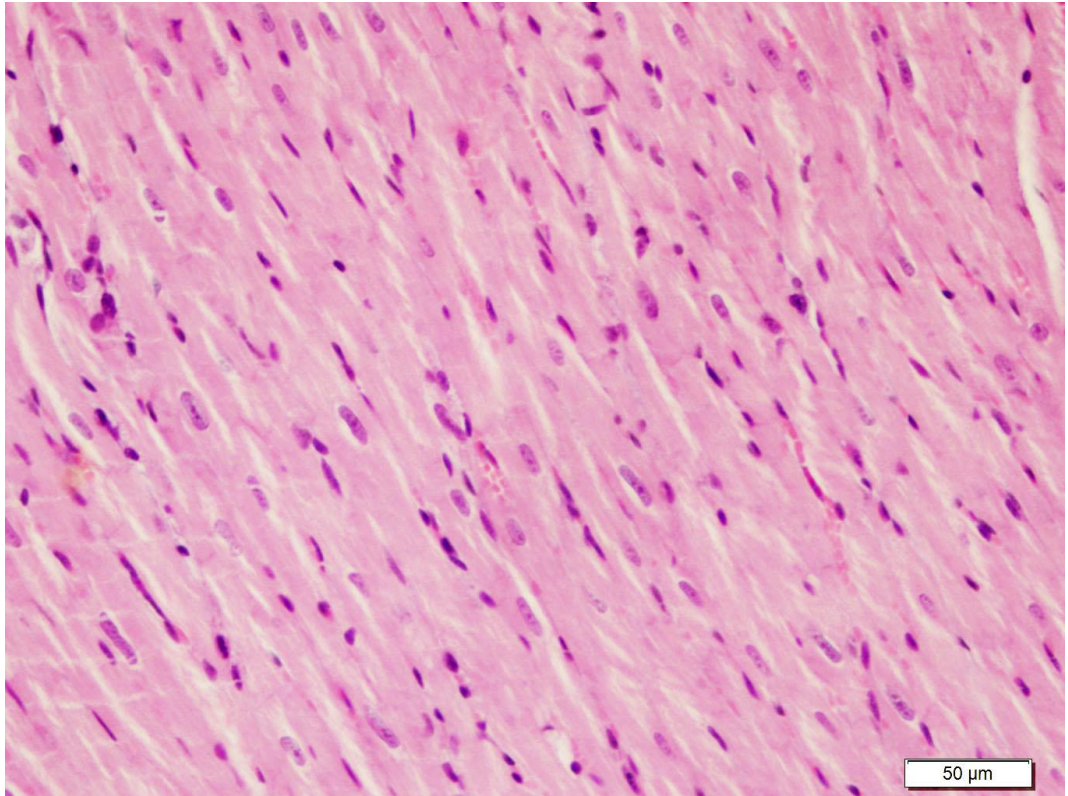
Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.)+Cisplatin (7.5 mg/kg, i.p.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelendiğinde, myokartta hafif düzeyde

hyalin dejenerasyonu ve interstisyel damarlarda orta düzeyde hiperemi belirledi (Şekil 4.7). Cisplatin grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.6’da özetlendi.

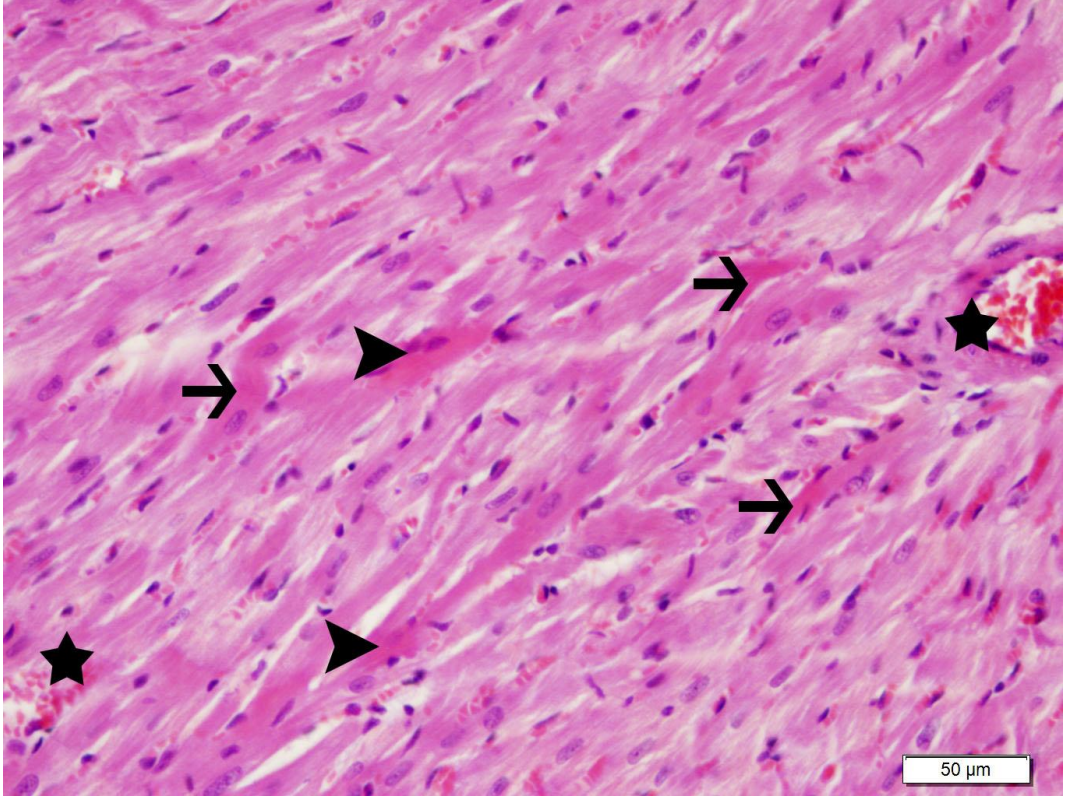
Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelemesinde, perikart, miyokart ve endokart tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi (Şekil 4.8).

Tablo 4.6. Kalp dokusunun histopatolojik bulgularının skorlanması

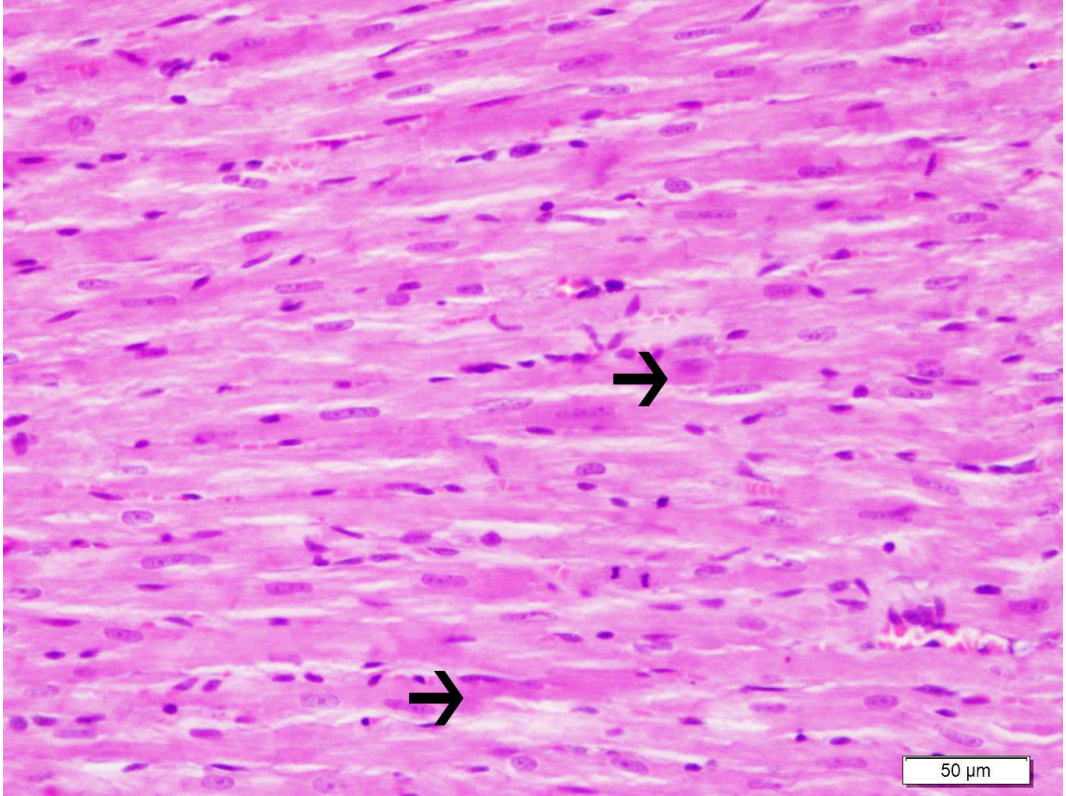
	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
Kaslıflerinde hyalin dejenerasyonu	-	+++	+	-
Kaslıflerinde zenker nekrozu	-	+++	-	-
Damarlarda hiperemi	-	+++	++	-



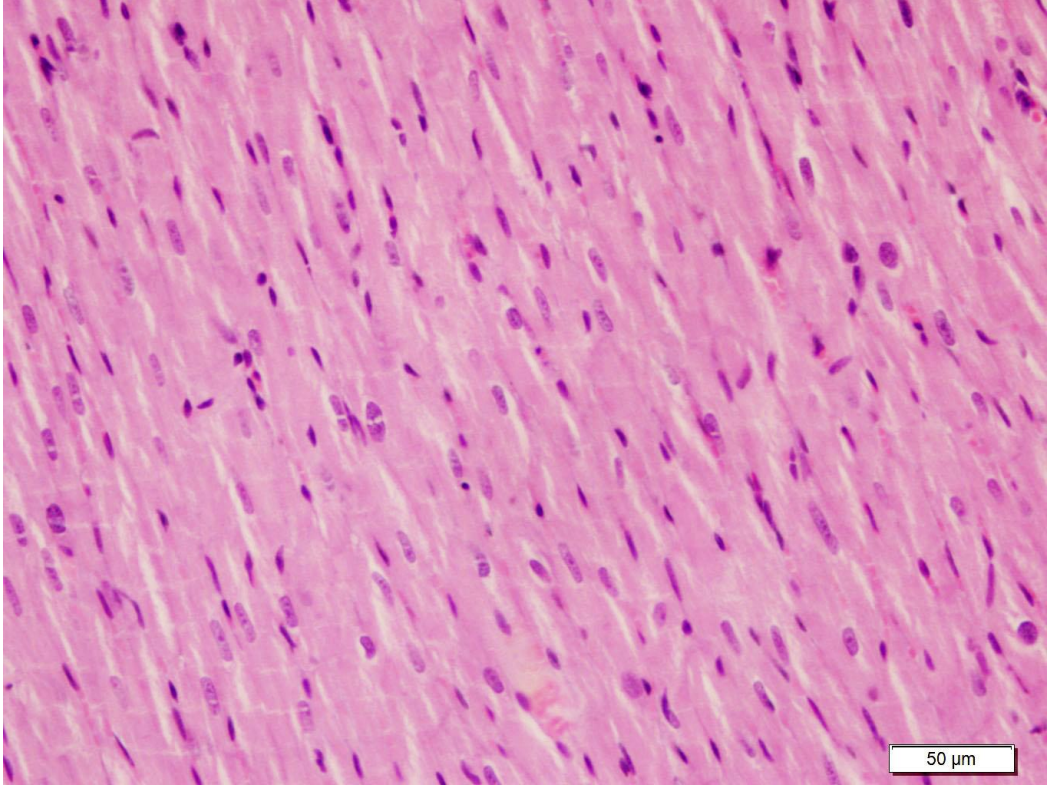
Şekil 4.5. Kontrol grup, kalp dokusu normal histolojik görünüm, H&E, Bar: 50µm



Şekil 4.6. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hyalin dejenerasyonu (oklar), zenker nekrozu (okbaşları), damarlarda hiperemi (yıldızlar), hemoraji, H&E, Bar: 50µm



Şekil 4.7. Pro+CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hyalin dejenerasyonu (oklar), damarlarda hiperemi, hemoraji, H&E, Bar: 50µm



Şekil 4.8. Probiyotik grup, kalp dokusu, normal histolojik görünüm, H&E, Bar: 50µm

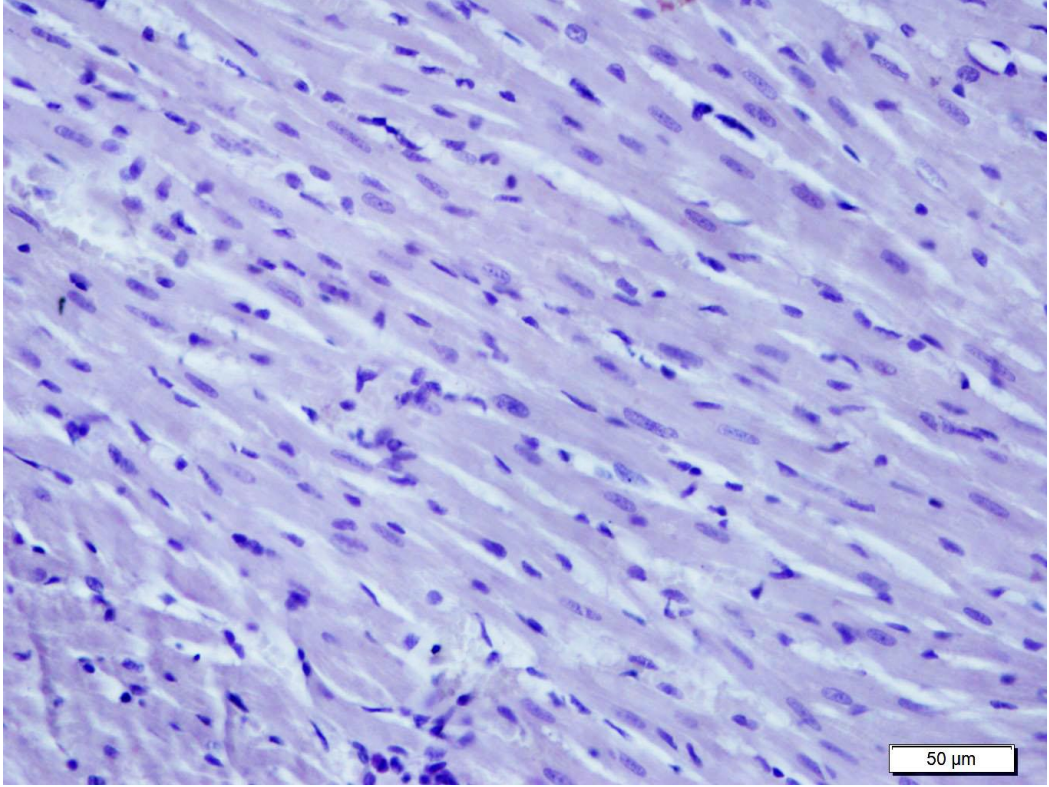
4.3. İmmunhistokimyasal Bulgular

Kontrol grup: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Negatif Tnf- α , ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.9).

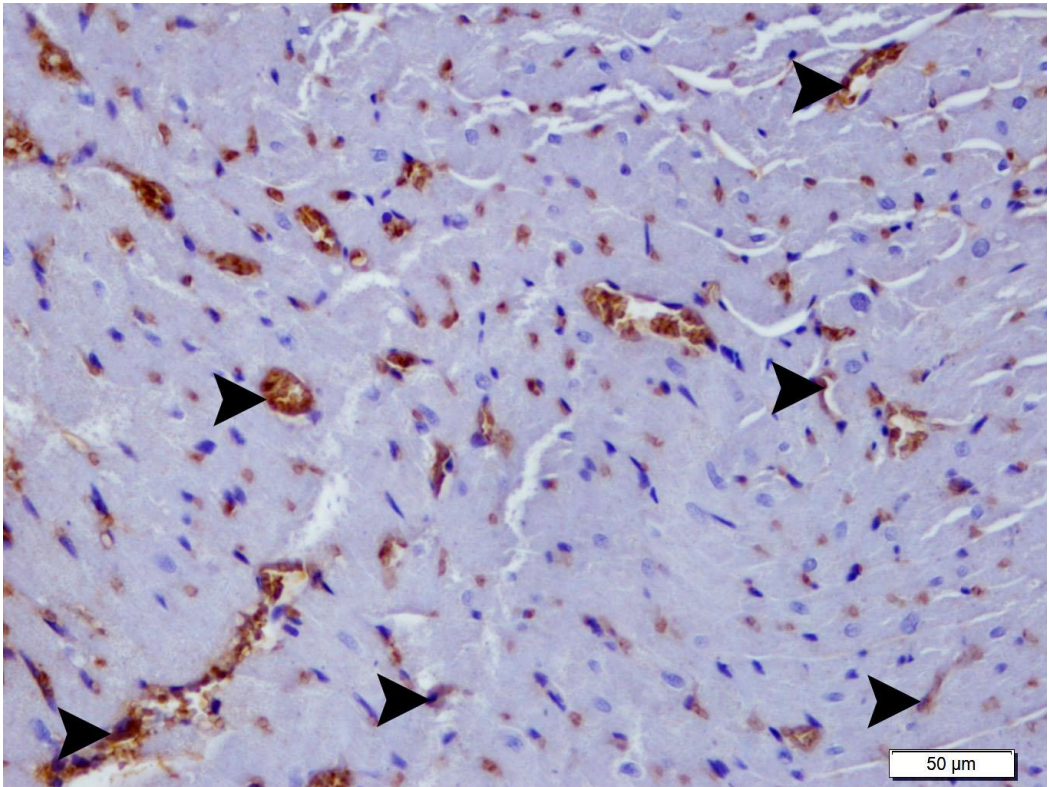
Cisplatin (7.5 mg/kg) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının immunhistokimyasal olarak incelenmesinde, özellikle hasarlanmış kas fibrilleri arasında, damar çevrelerinde şiddetli düzeyde Tnf- α ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.10). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi.

Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) + Cisplatin (7.5 mg/kg, i.p.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, kas lifleri aralıklarında ve damar çevrelerinde hafif düzeyde Tnf- α ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.11, 4.15 ve 4.19). Cisplatin grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.6’da özetlendi.

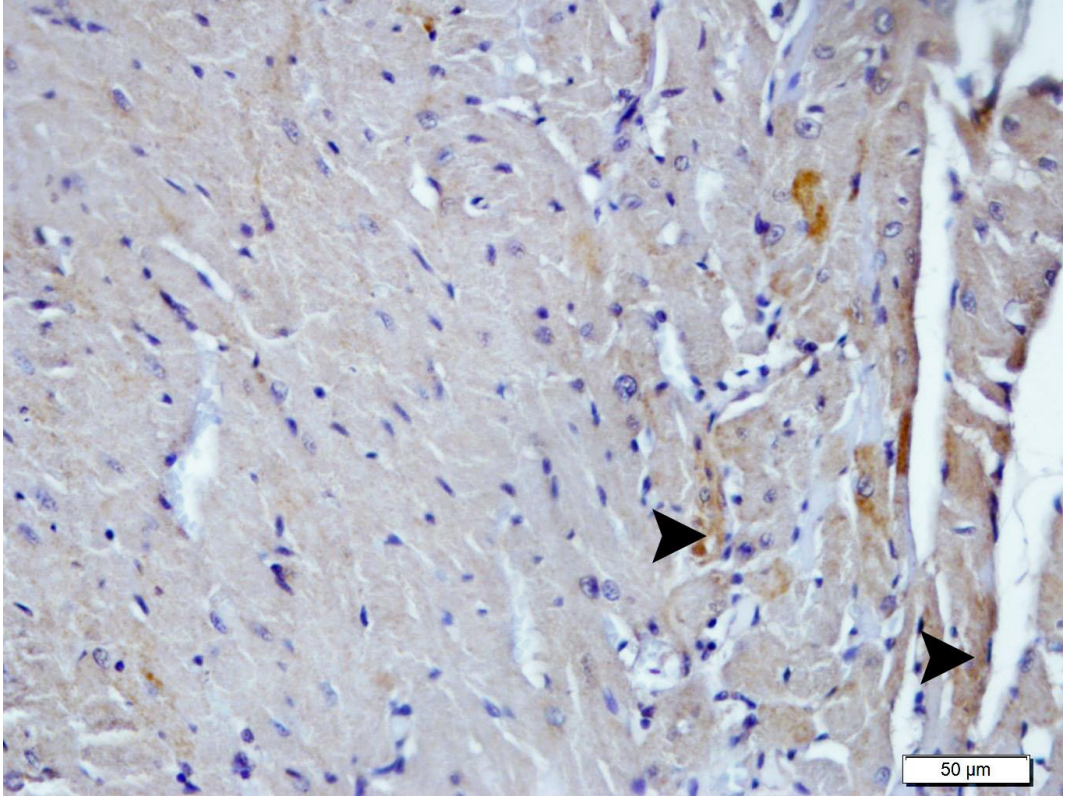
Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Tnf- α ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.12, 4.16 ve 4.20).



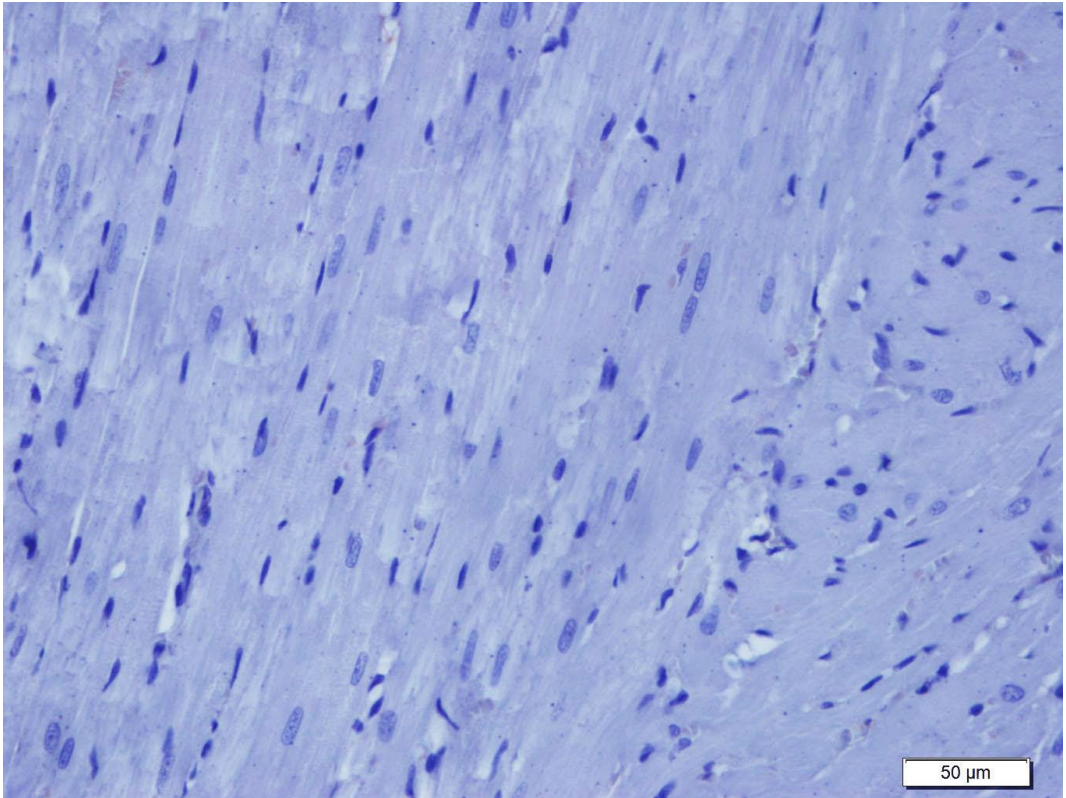
Şekil 4.9. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif $Tnf-\alpha$ ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50μm



Şekil 4.10. CP grup, kalp dokusu, kas lifleri arasında ve damar çevrelerinde (okbaşları) şiddetli düzeyde $Tnf-\alpha$ ekspresyonu, , IHC-P, Bar: 50μm



Şekil 4.11. Pro+CP grup, kalp dokusu, hafif düzeyde intermüsküler aralıklarda ve damar çevrelerinde $Tnf-\alpha$ ekspresyonu (okbaşları), IHC-P, Bar: 50μm



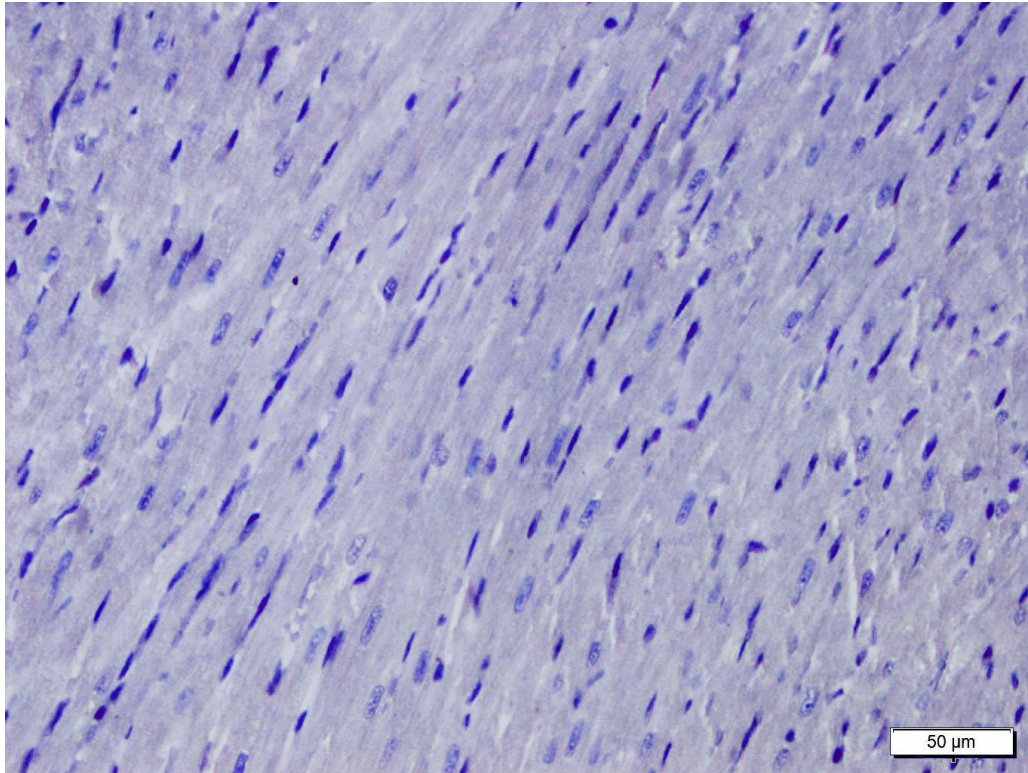
Şekil 4.12. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif $Tnf-\alpha$ ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50μm

Kontrol grup: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Negatif Cas-3 ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.13).

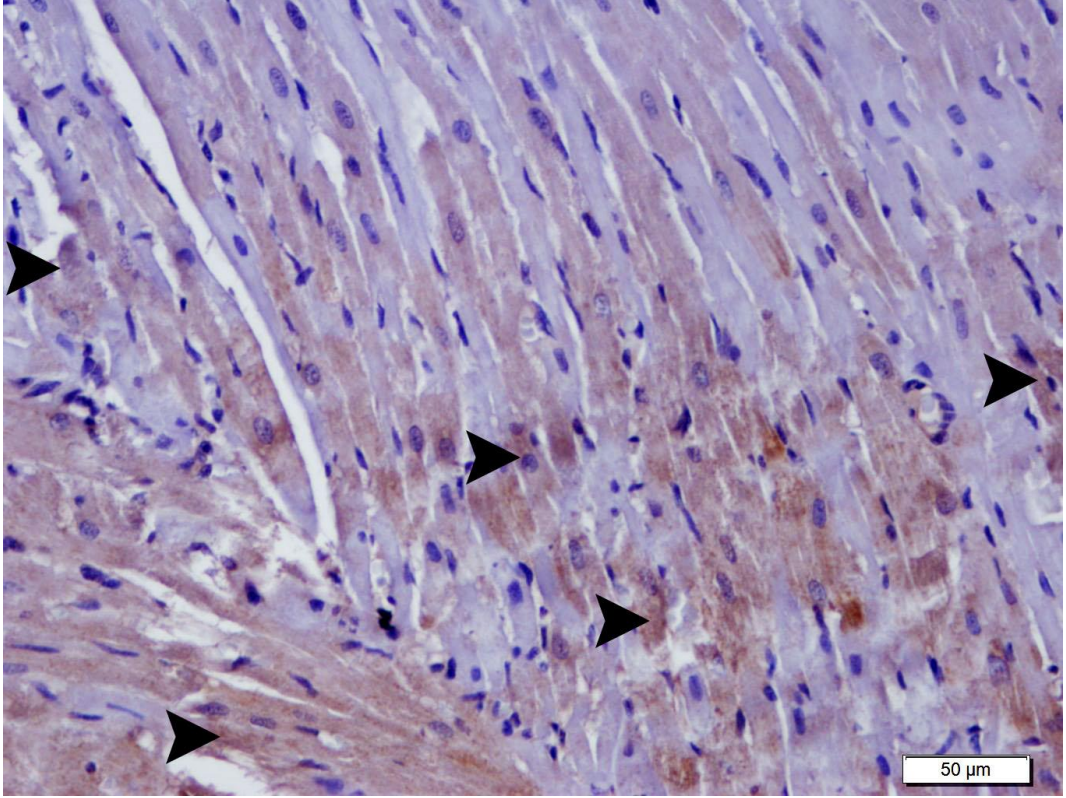
Cisplatin (7.5 mg/kg) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının immunhistokimyasal olarak incelenmesinde, özellikle hasarlanmış kas liflerinde şiddetli düzeyde stoplazmik Cas-3 ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.14). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi.

Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) + Cisplatin (7.5 mg/kg, i.p.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, kas liflerinde hafif düzeyde stoplazmik Cas-3 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.15). Cisplatin grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.6’da özetlendi.

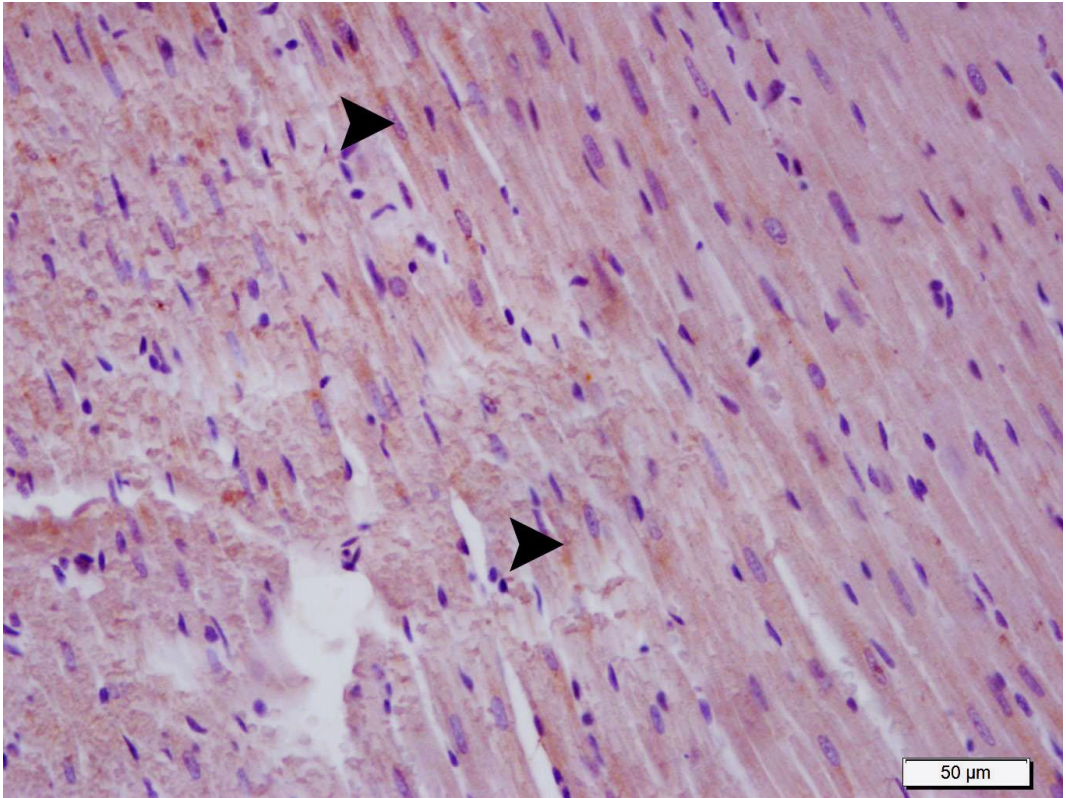
Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Cas-3 ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.16).



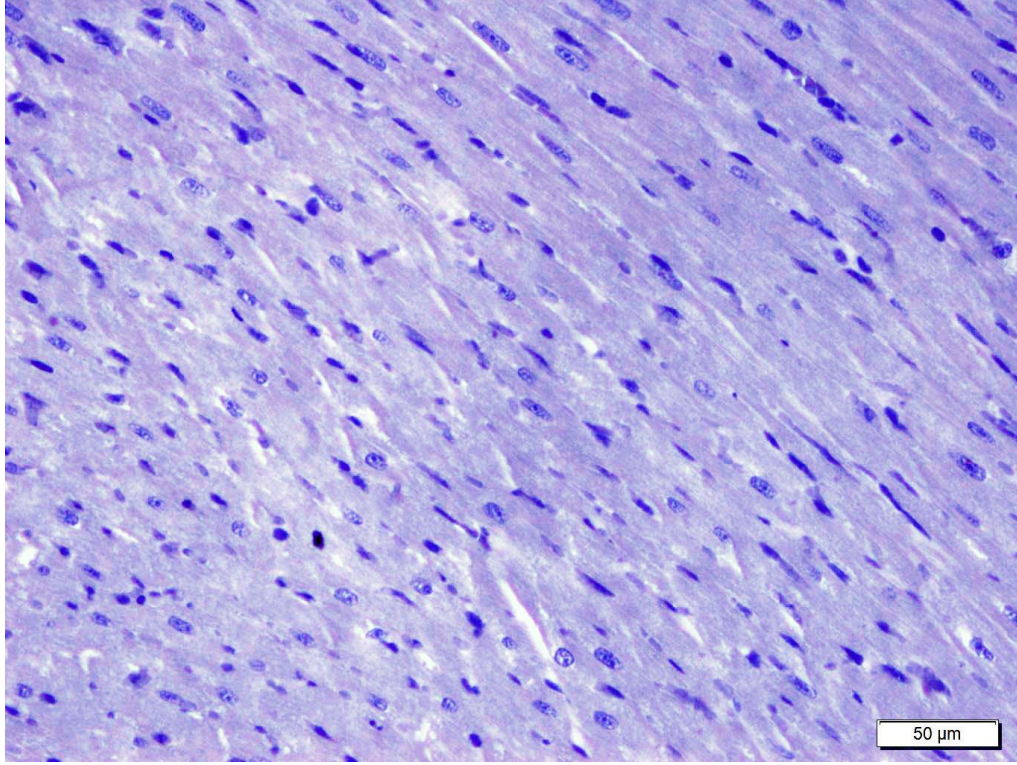
Şekil 4.13. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif Cas-3 ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50μm



Şekil 4.14. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde şiddetli düzeyde Cas-3 ekspresyonu (okbaşları), IHC-P, Bar: 50µm



Şekil 4.15. Pro+CP grup, kalp dokusu, hafif düzeyde kas liflerinde Cas3 ekspresyonu (okbaşları), IHC-P, Bar: 50µm



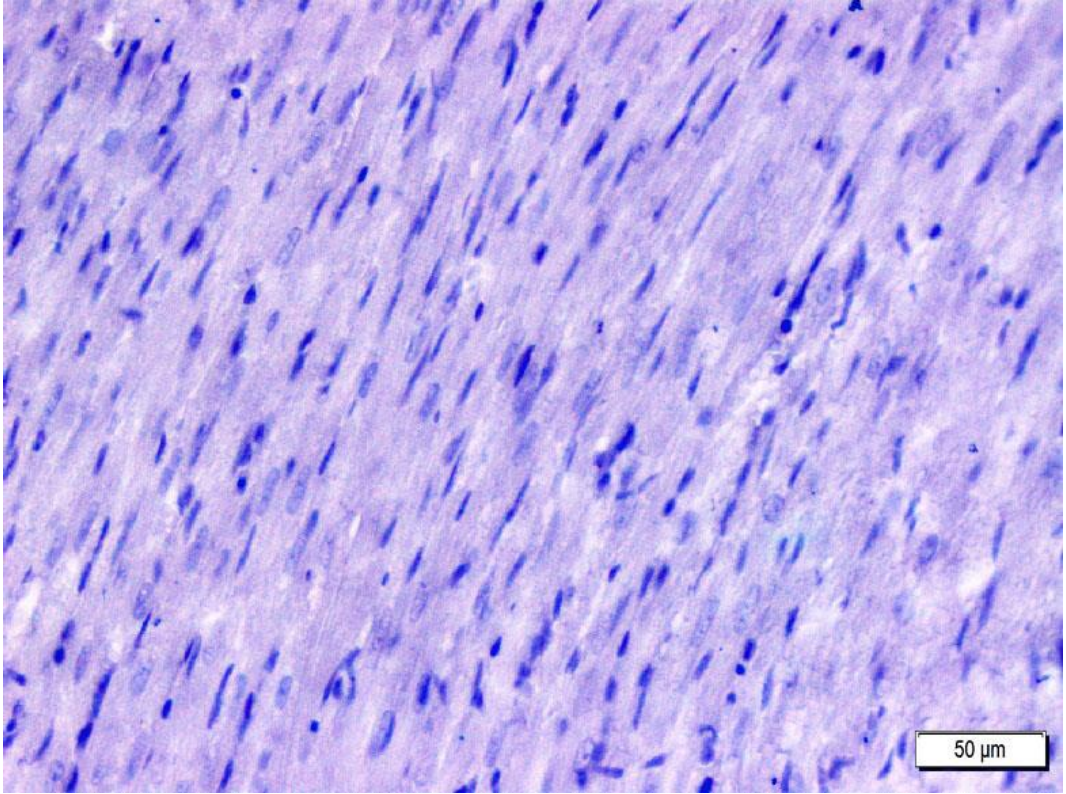
Şekil 4.16. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif Cas-3 ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50µm

Kontrol grup: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Negatif Bcl-2 ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.17).

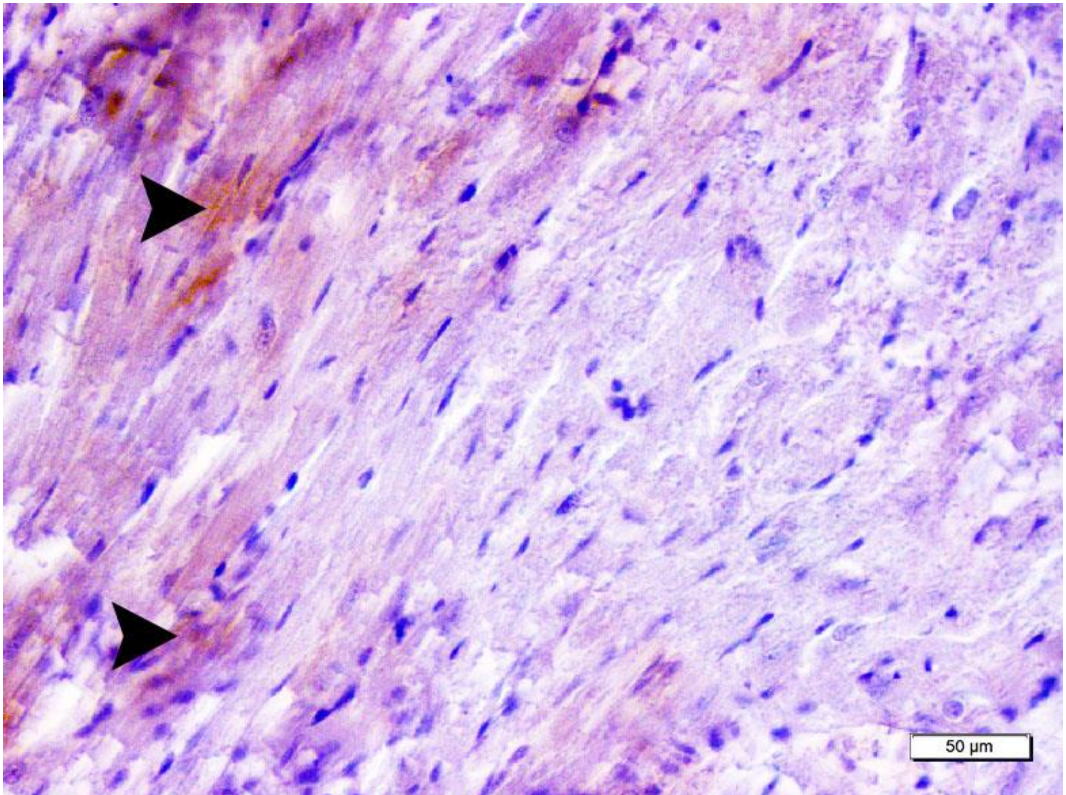
Cisplatin (7.5 mg/kg) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokularının immunhistokimyasal olarak incelenmesinde, özellikle hasarlanmış kas liflerinde hafif düzeyde Bcl-2 ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.18). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi.

Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) + Cisplatin (7.5 mg/kg, i.p.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, kas liflerinde şiddetli düzeyde stoplazmik Bcl-2 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.19). Cisplatin grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) fark tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.6’da özetlendi.

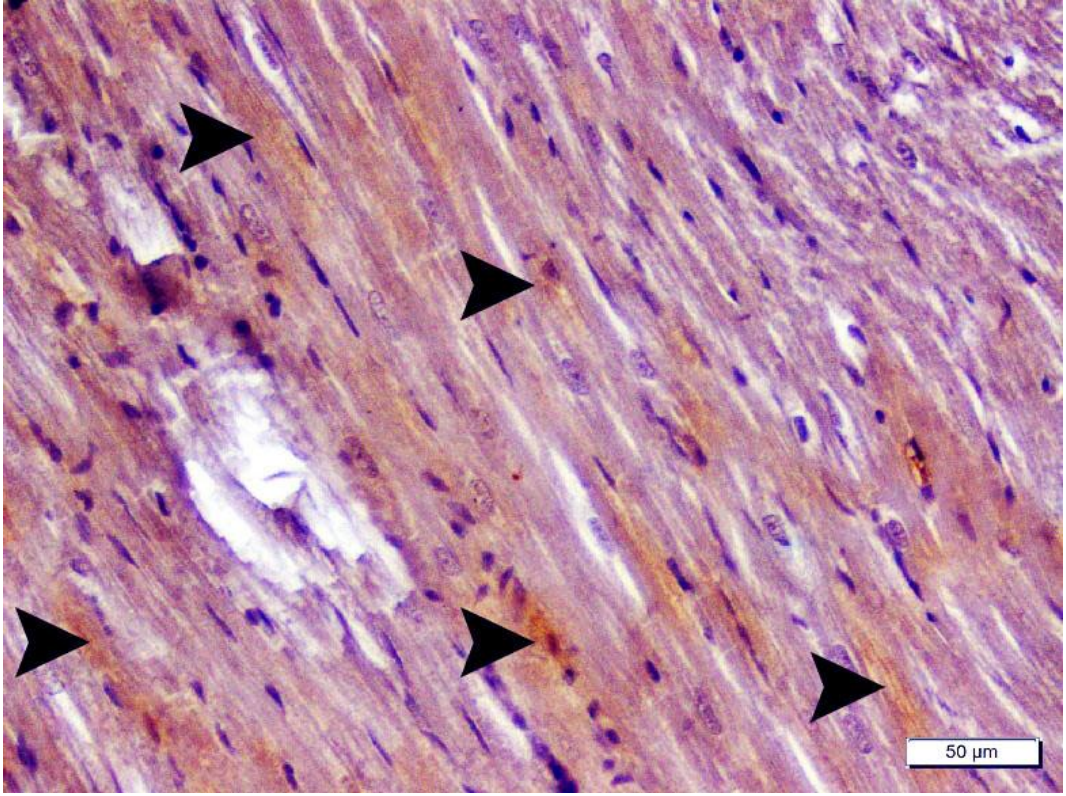
Probiyotik (1 ml/mg/kg i.g.) grubu: Bu grupta bulunan ratların kalp dokuları immunhistokimyasal olarak incelendiğinde, Bcl-2 ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.20).



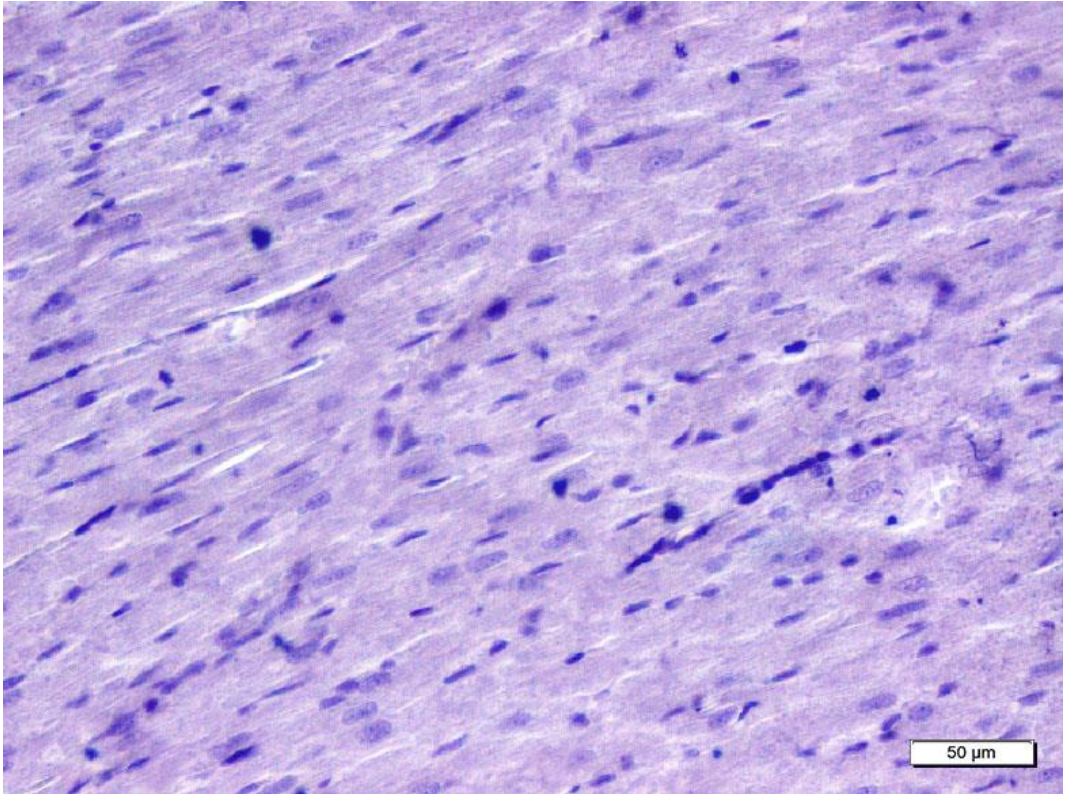
Şekil 4.17. Kontrol grup, kalp dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50μm



Şekil 4.18. CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde hafif düzeyde Bcl-2 ekspresyonu (okbaşları), IHC-P, Bar: 50μm



Şekil 4.19. Pro+CP grup, kalp dokusu, kas liflerinde şiddetli düzeyde Bcl-2 ekspresyonu (okbaşları), IHC-P, Bar: 50µm



Şekil 4.20. Probiyotik grup, kalp dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar: 50µm

Tablo 4.7. Kalp dokusunun immunohistokimyasal bulgularının skorlanması

	Kontrol	CP	Pro+CP	Pro
Tnf-α	-	+++	+	-
Caspase-3	-	+++	+	-
Bcl-2	-	+	+++	-

5. TARTIŞMA

Kanser, kontrol edilmeyen hücre bölünmesi ile karakterize bir hastalıktır. "Normal" hücreler, temas inhibisyonu olarak bilinen bir mekanizma gibi hücrelerle temas ettiğinde bölünmeyi durdurur. Kanserli hücreler ise bu yeteneği kaybeder. Kanser hücrelerinin hücre bölünmesini kontrol eden ve sınırlayan normal kontrol mekanizmaları, sistem ve dengeleri yoktur. Hücre bölünmesi işlemi, ister normal ister kanserli hücreler olsun, hücre döngüsünden geçer. Hücre döngüsü dinlenme fazından aktif büyüme fazlarına ve daha sonra mitoz (bölünmeye) gider. Kemoterapinin kanser hücrelerini öldürme yeteneği, hücre bölünmesini durdurma yeteneğine bağlıdır. Genellikle, kemoterapötik ilaçlar hücreye bölünmeyi nasıl kopyalayacağını söyleyen RNA veya DNA'ya zarar vererek çalışır. Hücre bölünmesini engelleyerek ölümüne neden olurlar.²⁵⁶ Hücreler ne kadar hızlı bölünürse, kemoterapinin hücreleri öldürmesi ve tümörün büzülmesine neden olma olasılığı o kadar yüksektir. Ayrıca hücre intiharını (kendi kendine ölüm veya apoptoz) indüklerler. Hücrelerin bölünme aşamasına etki eden kemoterapötiklere hücre döngüsüne spesifik ilaç denir. Hareketsiz olduklarında hücreleri etkileyen kemoterapi ilaçlarına hücre döngüsü spesifik değildir. Kemoterapinin planlanması, hücrelerin tipine, bölünme hızına ve belirli bir ilacın etkili olma zamanına göre ayarlanır. Bu nedenle kemoterapi tipik olarak sikluslar halinde verilir. Kemoterapi kanserli hücreler ve normal hücreler arasındaki farkı gözetmeksizin hızla bölünen tüm hücreleri öldürür. Kemoterapiden en sık etkilenen normal hücreler kan hücreleri, ağız, mide ve bağırsaktaki hücreler saç folikülleridir; düşük kan sayımı, ağız yaraları, bulantı, ishal ve saç dökülmesi ile sonuçlanır. Farklı ilaçlar vücudun farklı bölgelerini etkileyebilir.^{256, 257} Cisplatin (CP) kemoterapide yaygın olarak kullanılan bir antikanser ajandır. CP mesane kanseri, testis, yumurtalık, baş ve boyun, özofagus, akciğer, meme, mide ve prostat kanserleri tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca Hodgkin ve non-Hodgkin

lenfomalar, nöroblastom, sarkomlar, multipl miyelom, melanom ve mezotelyoma tedavisinde de CP' den faydalanılmaktadır. Çeşitli yan etkilerinin yanı sıra, CP'nin yüksek dozlarının kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada MDA, SOD, GSH, NO, Troponin I, CK, CK-MB ve LDH düzeylerinin kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı farkların olması ve kalp dokusu histopatolojik ve immunhistokimyasal olarak Tnf α , Caspase-3 ve Bcl-2 ekspresyon sonuçları CP nin toksik olduğunu göstermektedir. CP grubunda gözlenen Tedavide CP' nin yan etkilerini bazı insanlar yaşarken bazılarında CP nin belirtilen yan etkilerinden hiç birini yaşamaz. Tedavi tamamlandıktan sonra CP'nin yan etkileri büyük ölçüde kısa zamanda ortadan kalkmaktadır.¹⁻³ Ayrıca CP' nin yan etkilerini en aza indirmek veya önlemek için birçok seçenek vardır. Memeli organizmalar için faydalı olduğu bilinen probiyotikler, deneysel organ toksikasyonu çalışmalarında protektif etkili bileşik olarak da kullanılmaktadır. *Lactobasillus* türleri, süt ürünlerinin üretimi için çok önemlidir ve yaygın olarak kullanılan Gram-pozitif bir bakteridir. *L. lactis* laktis süte eklendiğinde, laktozdan enerji molekülleri (ATP) üretmek için enzimler kullanır. Bu bakteri aynı zamanda bazı sindirim sistemi hastalıklarının tedavisinde canlı olarak kullanılan ilk genetiği değiştirilmiş organizma olarak da ünlenmiştir. Bu bakteri için bildirilen diğer kullanımlar arasında salamura sebzeler, bira, şarap, bazı ekmek, kefir, ayran vb gibi fermente gıda maddelerinin üretiminde yer alır. *L. lactis* esas olarak süt ortamından veya bitki materyalinden izole edilir. Bitkilerden süt ortamına önerilen geçiş, uzun bir süre sütte yetiştirilen bir bitki izolatının deneysel gelişimi yoluyla laboratuvarda yeniden üretilmiştir.^{258, 259}

Genetik olarak tasarlanmış *L. lactis*, enflamatuvar bağırsak hastalıklarının (IBD) tedavisine terapötik müdahale için sitokin interlekin-10'u (IL-10) salgılayabilir, Lothar Steidler ve Wolfgang Hans ⁴ tarafından yapılan bir çalışma, IL-10'un genetik olarak

tasarlanmış *L. lactis* tarafından in situ sentezinin, tümör nekroz faktörüne (TNF) veya rekombinasyon IL-10'a karşı antikorlar gibi sistemik tedavilerden çok daha düşük dozlar gerektirdiğini göstermektedir. Yazarlar, IL-10'un terapötik hedefine ulaşabileceği iki olası yol önermektedir. Genetiği değiştirilmiş *L. lactis* lümende murin IL-10 üretebilir ve protein epiteldeki veya lamina propriadaki duyarlı hücrelere yayılabilir. Başka bir yol, bakteriyel boyutu ve şekli nedeniyle M hücreleri tarafından alınan *L. lactis* 'in etkisinin büyük bir kısmı intestinal lenfoid dokuda rekombinant IL-10 üretimine bağlı olmasıdır. Her iki yol da inflamasyonda geliştirilmiş paraselüler taşıma mekanizmalarını içerebilir. Taşıma işleminden sonra IL-10, enflamasyonu doğrudan azaltabilir. Prensip olarak, bu yöntem, büyük miktarlarda üretilmesi kararsız veya zor olan diğer protein terapötiklerinin bağırsağa verilmesi ve IBD'nin sistemik tedavisine alternatif olarak faydalı olabileceği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada probiyotik uygulamasının Tnf α ekspresyonunu azattığı ve bununla paralel olarak apoptozisin son aşaması olan cellat caspas olarak adlandırılan Casapase 3 ekspresyonu azattığı belirlenmiştir.

Zhang B ve ark. (2016) KISS1 olarak bilinen tümör metastazı inhibe edici peptit içeren bir plazmid taşıyan bir *L. lactis* suşu oluşturdu.⁵ *L. lactis* NZ9000' in, insan kolorektal kanser HT-29 hücreleri üzerinde inhibisyon etkileri uygulayarak biyolojik olarak aktif KiSS1 proteininin salgılanması için bir hücre fabrikası olduğunu gösterilmiştir. Rekombinant *L. lactis* suşundan salgılanan KiSS1, tümör hücresi büyümesini, hayatta kalma, istila, iltihaplanma ve anjiyogenezi kontrol eden sinyal yollarının düzenlenmesi olan Matrix metalloproteinazların (MMP-9) ekspresyonunu etkili bir şekilde azalttığı bildirilmiştir.⁶⁻⁸ Bunun nedeni *L. lactis* 'te eksprese edilen KiSS1'in MAPK yolunu GPR54 sinyali yoluyla aktive etmesi, NF κ B'nin MMP-9 promotörüne bağlanmasını baskılaması ve böylece MMP-9 ekspresyonunu aşağı regüle etmesidir.⁹ Bu da, kanser hücresinin hayatta kalma oranını azaltır, metastazı inhibe eder

ve kanser hücrelerinin uyku halini indükler. Ek olarak, LAB'nin ekzopolisakkarit üretme kabiliyeti nedeniyle tümör büyümesinin LAB suşunun kendisi tarafından inhibe edilebildiği gösterilmiştir.^{10,11} Bu çalışma *L. lactis* NZ9000'in HT-29 proliferasyonunu inhibe edebileceğini ve kendi başına hücre apoptozunu indükleyebileceğini göstermektedir. Bu suşun yapısının başarısı, kanser hücrelerinin göçünü ve genişlemesini engellediğinden dolayı, bu özel peptidin *L. lactis* 'in salgılama özelliklerinin gelecekte kanser tedavisi için yeni bir araç olabileceğini göstermiştir.¹²

Tümör nekroz factor alfa (TNF α), lenfosit, makrofaj ve NK hücrelerinden salınan multifonksiyonel bir stokindir. TNF α stokin ailesinin en önemli özelliklerinden birisi apoptotik hücre ölümünü azaltmasıdır. Bu özelliklerinden dolayı kanser ve diğer proliferatif hastalıkların tedavisinde temel tedavi prensibi olarak son zamanlarda karşımıza çıkmaktadır.²⁶⁰ Bu sitokin, otoimmün hastalıklar, toksikasyonlar, kematerapotik ajanlara bağlı hasarlarda, sepsis, insülin direnci ve kanser dâhil olmak üzere çeşitli hastalıklarda rol oynamaktadır.²⁶¹ Bu çalışmada kalp dokularında immunhistokimyasal olarak yapılan incelemede CP grupta literatürle uyumlu olarak kas lifleri arasında damar çevrelerinde ve hasarlı kas dokusu bölgelerinde şiddetli düzeyde TNF α ekspresyonları belirlenirken, PRO+CP grubunda söz konusu ekspresyonun istatistiki olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir.

Herhangi bir organ veya sistemde oluşabilen hastalıkların teşhisinde ve tedavisinin seyrinin takibinde, hekimin bazı biyomarker değerlerinden yararlanılması daha iyi bir sonuç almasını sağlar. Teşhiste ve tedavinin seyrinin takibinde bakılacak biyomarkerların dokulardaki yoğunluğu ve kana hızlı bir şekilde geçmesi önemlidir. Bu bağlamda ise Troponin I, CK ve CK-MB, LDH, MDA, SOD, GSH, NO, Tnf α , Caspase 3, Bcl-2 değerleri büyük önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, CP ile indüklenmiş kardiyotoksistide, kalbin histopatolojisi ve bazı enzimler ile apoptotik marker değerleri Tablo 4.1,4.2, 4.3 ve Şekil 1,2,3 ve 4 de verilmektedir. Kalp dokusunda oluşan hasarlarda Troponin I, CK, CK-MB, LDH ve MDA'nın doku ve kandaki düzeylerinin artması hastalıkların teşhisi ve tedavisinde önemlidir. LDH ve CK kalp ve tüm iskelet kası hasarlarında artarken, Troponin I ve CK-MB'nin sadece kalp kası hasarlarında artması büyük önem taşımaktadır. CK-MB'nin total CK'ya oranı %2.5-3'den fazlaysa kalbin hasarlanma olasılığı yüksektir. Yüksek CK ile birlikte bu değer altındaki bir rölatif indeks ise iskelet kaslarının hasarlanmış olduğunu düşündürmektedir. Böbrek yetersizliği akvitelerinde CK-MB izoenzimlerinin arttığı literatürlerde belirtilmektedir.^{5, 262} El-Awady, ve ark (2011) tarafından yapılan çalışmada CP'nin tek dozunun kalp dokusunda önemli düzeyde hasara neden olduğu, kas liflerinde dejenerasyon, çekirdeklerinde piknoz, kas lifleri arasında hafif düzeyde fibroze neden olduğu bildirilmiştir.^{244, 263} Farklı bir çalışmada stoplazmanın eozinofilik olduğu, çekirdeğin piknotik, damarlarda konjesyon ve interfibrillar aralıklarda ödemin belirlendiği ifade edilmiştir.²⁶⁴ Bu çalışmada CP grubu kalp dokularında, myokartta şiddetli düzeyde hyalin dejenerasyonu ve zenker nekrozu, interstisyel damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi tespit edilmesi literatürü destekler niteliktedir.

Araştırmamızda ki Kontrol, CP, Pro+CP ve Pro gruplarından elde edilen CK değerlerinin ortalaması sırasıyla 749, 2443, 128 ve 940 U/L; CK-MB değerleri ortalaması 522, 1198, 671 ve 643 U/L; Troponin I değerleri ortalaması 5.0, 8.1, 5.9 ve 5.6 ng/ml; LDH düzeyleri ortalaması ise 611, 1511, 785 ve 771 U/L olarak saptandı. Probiyotik olarak uygulanan *Lactobacillus lactis*'in, CP ile indüklenmiş ratlarda kardiyotoksistite üzerine protektif etkilerinin varlığı Tablo 4.1 ve 4.2 görülmektedir. CP grubunda CK, CK-MB, LDH ve Troponin I düzeyleri istatistiki bakımdan anlamlı bir şekilde ($p<0.001$) yükselirken, Probiyotk+CP verilen gruptaki değerler CP grubundaki değerlerden daha

düşük bulundu. Yalnızca probiyotik verilen gruptaki veriler ise kontrol grubu verileri ile benzerlik gösterdi. Bununla birlikte kontrol grubu ile probiyotik verilen gruplar arasında ki değerlerde istatistiki açıdan herhangi bir fark bulunamadı. Araştırmamızda ki Kontrol ve probiyotik gruplarından elde ettiğimiz bu değerler sağlıklı ratlar için bildirilen değerlerle ^{13,15,260} uyum içerisindedir.

Yapılan literatür taramalarında kanser tedavisinde kullanılan antineoplastik ilaçların oksidatif stresi azaltmak için bazı antioksidatif ajanların kullanıldığı göstermektedir.²⁶⁵⁻²⁶⁹ Şengül ve ark.²⁷² akciğer toksisitesi üzerine quersetinin protektif etkilerini, Kang ve ark.²⁶⁶ kardiyak hasar üzerine antioksidanların etkilerini incelemiştir. Bir başka çalışmada ise Göktepe ve Günay'ın ²⁶⁷ quersetinin serbest radikallerle birlikte oluşan oksidatif hasarı azaltarak antioksidan sistemini güçlendirdiğini ifade etmektedirler. Dong ve ark.²⁶⁸ ise quersetinin Doxorobucin'e bağlı kardiyotoksiteyi inhibe ettiğini belirtmektedirler. Aristatile ve ark. ²⁶⁹ oksidatif strese karvakrol'ün etkilerini araştırmışlar ve karvakrol'ün hücreyi oksidatif stres ve DNA hasarına karşı koruduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmada probiyotik uygulamasının MDA ve NO değerlerini artırdığı, SOD ve GSH düzeylerini azalttığı gözlemlendi. Yukarıda eklenen anti oksidan uygulamalarına gözlenen benzer bulgular tespit edilerek literatürü desteklediği belirlendi.

Araştırmamızda CP grubunda kalp kası hücrelerinde ve dokusunda oluşan hasar Tablo 4.3 ve Şekil 2 de açıkça görülmektedir. Bu çalışmadan elde edilen veriler kontrol, CP, Pro+CP ve Pro gruplarında sırasıyla ortalama olarak MDA 0.88, 1.53, 1.04 ve 0.96 $\mu\text{mol/g}$; SOD 1.39, 0.93, 1.09 ve 1.44 U/mg; GSH 2.64, 1.87, 2.33 ve 2.49 $\mu\text{mol/g}$; NO 53.6, 77.8, 56.3 ve 51.6 mg/dl olarak bulundu. Tablo 4.3 te de görüldüğü gibi MDA, SOD, GSH ve NO parametrelerinde CP nin etkisiyle belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu araştırmada, CP uygulamasının MDA ve NO düzeylerini önemli

miktarda artırırken SOD ve GSH seviyelerini ise azalttığı tespit edilmiştir ($p<0.01$). Probiyotik verilen gruptaki veriler, Kontrol grubu verilerine oldukça yakınlık göstermektedir. Probiyotik verilen gruptaki veriler ile Kontrol grubu verileri arasında ki değerlerde istatistiki açıdan herhangi bir fark bulunamadı. Kontrol grubunda bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelemesinde, normal histolojik görünümde olduğu tespit edildi. CP grubuna ait ratların myokartlarında şiddetli düzeyde hyalin dejenerasyonu ve zenker nekrozu, interstisyel damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi ve hemoraji gözlemlendi (Şekil 2). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) fark tespit edildi. Pro+CP grubunda bulunan ratların kalp dokularının histopatolojik incelendiğinde, myokartta hafif düzeyde hyalin dejenerasyonu ve interstisyel damarlarda orta düzeyde hiperemi belirlendi. Cisplatin grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) fark tespit edildi. Histopatolojik bulgular Tablo 4.3 de özetlendi. Probiyotik grupta, perikart, miyokart ve endokart tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi.

Apoptozis, canlıların doğumundan ölümüne kadar, gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerinin çevreye zarar vermeden moleküler temelleri ve süreci olan programlanmış hücre ölümü mekanizmasıdır.²⁶⁶ Caspazlar apoptoz esnasında önemli rol oynayan sistein-proteaz grubu enzimlerdir. Öncelikli olarak inaktif proteinler olarak sentezlenen bu enzimler çeşitli yollarla aktive edilirler. Apoptozisin içsel ve dışsal mekanizmasında caspase 8 ve caspase 9 rol almaktadır. Bu süreçte anti apoptotik marker olan Bcl2 devreye girdiğinde hücre apoptoz mekanizmasından çıkıp normal sürecine girmektedir. Şayet anti-apoptoz mekanizmasına girmezse apoptozis devam eder ve Cas 3 devreye girer. Cellat caspase olarakta bilinen Cas 3 apoptozisin geri dönüşümsüz son yolağı olarak karşımıza çıkmaktadır.^{260,270,271} Cas 3 ün bu özelliklerinden dolayı son yıllarda pek çok deneysel çalışmada çalışmaların etkinliğinin belirlenmesinde kullanılan

önemli bir marker olarak dikkat çekmektedir. ^{260,270,271} Yapılan çalışmalarda çeşitli antikanserojen ajanların indüklediği toksikasyonlarda Cas 3 ekspresyonlarının arttığı, anti apoptotik marker olan Bcl2 ekspresyonlarının ise azaldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada CP grubunda kalp kası liflerinde şiddetli düzeyde Cas 3 ekspresyonu belirlenirken, hafif düzeyde Bcl2 ekspresyonu belirlendi. Pro+CP grubunda kalp kası liflerinde hafif düzeyde Cas 3 ekspresyonu belirlenirken, şiddetli düzeyde Bcl2 ekspresyonu belirlendi.

Yukarıda da belirtildiği gibi antineoplastik ilaçların olumsuz etkilerini baskılamak ve oksidatif stresi azaltmak amacıyla bazı araştırmacılar ²⁶¹⁻²⁶⁵ rutin, quarcetin, karvakrol, naringin, selenyum, vitamin A, C ve E gibi bazı antioksidatif ajanlar kullanmışlardır. Araştırmamızda ki kontrol ve probiyotik grubundan elde ettiğimiz bu değerler (CK, CK-MB, Troponin I, LDH, MDA, SOD, GSH, NO, Tnf α , Cas 3 ve Bcl-2) sağlıklı ratlar için bildirilen değerlerle uyum içerisinde, elde edilen bu değerler literatürleri. ^{13,261,272,273} destekler niteliktedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

CP ile indüklenmiş ratlarda, kardiyotoksisite üzerine probiyotiklerin protektif etkileri biyokimyasal, immunohistokimyasal ve histopatolojik bulgularda görülmüştür. Pro+CP li grupların enzim düzeylerinin probiyotik uygulanmasına bağlı olarak normal olan Kontrol grubunun değerlerine yakınlaştığı saptanmıştır.

Bu araştırma sonuçlarının, CP ile indüklenmiş ratlarda kardiyovasküler sistem üzerine Probiyotik uygulamasının koruyucu etkilerinin incelenmesinde ve bundan sonra yapılacak olan bilimsel çalışmalarda yararlı olabileceği ümidini taşımaktayız

KAYNAKLAR

- 1 Cisplatin. <http://chemocare.com/chemotherapy/drug-info/cisplatin.aspx>.19 Haziran 2020.
- 2 Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, 2014, 740: 364-378.
- 3 Oun R, Moussa YE, Wheate NJ. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton transactions*, 2018, 47: 6645-6653.
- 4 Steidler L, Hans W, Schotte L, Neirynck S, Obermeier F, Falk W, Fiers W, Remaut E. Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10. *Science*, 2000, 289: 1352-1355.
- 5 Zhang B, Li A, Zuo F, Yu R, Zeng Z, Ma H, Chen S. Recombinant *Lactococcus lactis* NZ9000 secretes a bioactive kiss peptin that inhibits proliferation and migration of human colon carcinoma HT-29 cells. *Microbial cell factories*, 2016, 15(1): 1-11.
- 6 Bauvois B. New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 2012, 1825: 29-36.
- 7 Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases:Regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010, 141: 52-67.
- 8 Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino acids*, 2011, 41: 271-290.
- 9 Nash KT, Welch DR. The KISS1 metastasis suppressor: mechanistic insights and clinical utility. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library* ,2006, 11: 647.
- 10 Gorbach SL. Lactic acid bacteria and human health. *Annals of medicine*, 1990, 22: 37-41.

- 11 Hirayama K, Rafter J. The role of lactic acid bacteria in colon cancer prevention: mechanistic considerations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1999, 76: 391-394.
- 12 Åkerberg C, Hofvendahl K, Zacchi G, Hahn-Hägerdal B. Modelling the influence of pH, temperature, glucose and lactic acid concentrations on the kinetics of lactic acid production by *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ATCC 19435 in whole-wheat flour. *Applied microbiology and biotechnology*, 1998, 49: 682-690.
- 13 Gelen V, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A. Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Hemorajik Sistitte Mesane Kontraktilitesi ve Histopatolojisi Üzerine Rutin'in Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2018, 13: 337-346.
- 14 Bülbül GY, Mis L, Şengül E, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar, A. Cyclophosphamide İle İndüklenmiş Ratlarda Karaciğer Enzimleri (AST, ALT, ALP) ve Histopatolojisi Üzerine Naringin'in Protektif Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2018, 13(2): 182-190.
- 15 Dağ Y, Şengül E, Selçuk M, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A. Ratlarda Cyclophosphamide ile İndüklenen Nefrotoksisitede Bazı Hematolojik Parametreler ve Böbreğin Histopatolojisi Üzerine Naringinin Protektif Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2018, 13(2): 219-228.
- 16 TW S. Langman's medikal embriyoloji. *Başaklar AC (çeviri editörü)*, 2005, 9: 235-264.
- 17 Gartner LP, Hiatt JL. *Renkli histoloji atlası*. Güneş Tıp Yayınevi, 2009.
- 18 Moore KL, Persaud T, Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. *Klinik yönleri ile insan embriyolojisi*. Nobel Tıp Kitapevi, 2002.
- 19 Arey LB. *Developmental anatomy: a textbook and laboratory manual of embryology*. WB Saunders, 1954.

- 20 Carlson BM. *Human Embryology and Developmental Biology E-Book: with Student consult Online Access. Elsevier Health Sciences*, 2012.
- 21 Spach MS, Heidlage JF, Barr RC, Dolber PC. Cell size and communication: role in structural and electrical development and remodeling of the heart. *Heart Rhythm*, 2004, 1: 500-515.
- 22 Ross MH, Pawlina W. *Histology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- 23 Fitzgerald M. *Human embryology*. WB Saunders Co, 1994.
- 24 Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. Cilt 1. 5. Baskı, Adana, Nobel Tıp Kitabevi, 1999.
- 25 Snell RS. *Klinik Anatomi (Tercüme)*. 6. Baskı. Nobel Tıp Kitapevi, 2004.
- 26 Cumhuriyet M, Yener N, Tuncel M. *Temel anatomi*. Ankara, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık, 2001: 287-291.
- 27 Gavaghan M. Cardiac anatomy and physiology: a review. *Aorn Journal*, 1998, 67: 800-822.
- 28 Anderson RH, Razavi R, Taylor AM. Cardiac anatomy revisited. *Journal of anatomy*, 2004, 205: 159-177.
- 29 Ulutaş İ. *Dolaşım sistemi ve iç salgı bezlerinin anatomisi* 3. baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Matbaası, 1977.
- 30 Arıncı K. *Anatomi 2. cilt: Dolaşım sistemi, periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi, duyu organları*. Güneş kitapevi, 2006.
- 31 Cook AC, Yates RW, Anderson RH. Normal and abnormal fetal cardiac anatomy. *Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis*, 2004, 24: 1032-1048.
- 32 Vogl W, Mitchell A. W. *Gray's anatomy for students*. Elsevier Churchill Livingstone, 2005.

- 33 Loukas M, Bilinsky S, Bilinsky E, El-Sedfy A, Anderson RH. Cardiac veins: a review of the literature. *Clinical Anatomy: The Official Journal of the American Association of Clinical Anatomists and the British Association of Clinical Anatomists*, 2009, 22: 129-145.
- 34 Aruncu K, Elhan A. *Anatomi* (2. Cilt) Ankara, Güneş Kitabevi, 1995: 403-404.
- 35 Solomon EP. *Introduction to human anatomy and physiology*. Elsevier Health Sciences, 2015.
- 36 Streeter DD. *The Heart*, Ch. 4. Handbook of physiology-The cardiovascular system I, 1979, 1: 61-112.
- 37 Barrett K, Barman S, Boitano S, Brooks HL. *Cardiovascular regulatory mechanisms*. Ganong's Review of Medical Physiology. 23rd Ed. New Delhi, Tata McGraw-Hill Companies, 2010: 555-568.
- 38 Kierszenbaum AL, Demir R. Histoloji ve Hücrebiyolojisi: *Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık, 2006.
- 39 Hall JE. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. Elsevier Health Sciences, 2010.
- 40 Waller B, Gering L, Branyas N, Slack J. Anatomy, histology, and pathology of the cardiac conduction system: Part I. *Clinical cardiology*, 1993, 16: 249-252.
- 41 Laflamme MA, Sebastian MM, Buetow BS. *In Comparative Anatomy and Histology*. Elsevier, 2012: 135-153.
- 42 Sabiston Jr DC. Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. *Annals of Surgery*, 1981, 194: 116.
- 43 Junqueira LCU, Mescher AL. *Junqueira's basic histology*. McGraw-Hill Medical, 2005.

- 44 James JF, Hewett TE, Robbins J. Cardiac physiology in transgenic mice. *Circulation research*, 1998, 82: 407-415.
- 45 Koeppen BM, SB BR. Berne & Levy Physiology. updated ed. Philadelphia: Mosby. 2010.
- 46 Luczak ED. Leinwand LA. Sex-based cardiac physiology. *Annual review of physiology*, 2009, 71: 1-18.
- 47 Prinzen F, Spinelli JC, Auricchio A. In *Clinical Cardiac Pacing, Defibrillation, And Resynchronization Therapy*. Elsevier, 2007: 291-335.
- 48 Iaizzo PA. *Handbook of cardiac anatomy, physiology, and devices*. Springer Science & Business Media, 2009.
- 49 Holmuhamedov EL, Jovanović S, Dzeja PP, Jovanović A, Terzic A. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 1998, 275: 1567-1576.
- 50 Fox SI. Rompolski K. *Human physiology*. Wm. C. Brown Dubuque, IA, 1996.
- 51 Boulpaep EL, Boron WF, Caplan MJ, Cantley L, Igarashi P, Aronson PS, Moczydlowski E. Medical physiology a cellular and molecular approach. *Signal Transduct*, 2009, 48: 27.
- 52 Ellenbogen KA, Wilkoff BL, Kay GN, Lau CP, Auricchio A. *Clinical Cardiac Pacing, Defibrillation and Resynchronization Therapy E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2016.
- 53 Corthier G. The health benefits of probiotics Danone Nutritopics. *Route Departementale Palaiseau Cedex*, France, 2004, 17: 1-4.
- 54 Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of applied microbiology*, 2006, 100: 1171-1185.

- 55 Ohashi Y, Ushida K. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*, 2009, 80: 361-371.
- 56 Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 1998, 41:103-125.
- 57 Ross RP, Fitzgerald G, Collins K, Stanton C. Cheese delivering biocultures-- probiotic cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2002, 57: 71-91.
- 58 Sanders RL. Records management returns to the departments: a suggestion for the next century. *Information Management*, 1998, 32: 67-75.
- 59 Kullen MJ, Klaenhammer TR. Genetic modification of intestinal lactobacilli and bifidobacteria. *Current issues in molecular biology*, 2000, 2: 41-50.
- 60 Uymaz B. Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 2010,16: 95-104.
- 61 Soccol CR, Vandenberghe LPDS, Spier MR, Medeiros ABP, Yamaguishi CT, Lindner JDD, Thomaz-Soccol V. The potential of probiotics: a review. *Food Technology and Biotechnology*, 2010, 48(4): 413-434.
- 62 Gültekin M. Probiyotikler. *Ankem Dergisi*, 2004,18: 87-89.
- 63 Naidu A, Bidlack W, Clemens R. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical reviews in food science and nutrition*, 1999, 39: 13-126.
- 64 Holzapfel WH, Schillinger U. Introduction to pre-and probiotics. *Food Research International*, 2002, 35: 109-116.
- 65 Panzuto F, D'Amato A, Laghi A, Cadau G, D'Ambra G, Aguzzi D, Lannaccone R, Montesani C, Caprilli R, Delle Fave G. Abdominal tuberculosis with pancreatic involvement: a case report. *Digestive and liver disease*, 2003, 35: 283-287.
- 66 Gibson GR., Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. Expert consensus

- document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 2017, 14: 491-502.
- 67 Markowiak P, Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut pathogen*, 2018, 10: 21 .
- 68 Ebner S, Smug LN, Kneifel W, Salminen SJ. Sanders ME. Probiotics in dietary guidelines and clinical recommendations outside the European Union. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20: 16095-16100.
- 69 Lee YK, Salminen S. *Handbook of probiotics and prebiotics*. John Wiley & Sons, 2009.
- 70 Guarner F, Schaafsma G. Probiotics. *International journal of food microbiology*, 1998,39: 237-238.
- 71 Salminen S. Probiotics: scientific support for use. *Food Technology*, 1999, 53: 66-77.
- 72 Kerry RG. *et al*. Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of food and drug analysis*, 2018, 26: 927-939.
- 73 Leroy F, Falony G, de Vuyst L. in *Meat biotechnology*, Springer, 2008: 217-229.
- 74 Michalak I, Chojnacka K. Functional fermented food and feed from seaweed. *Fermented Foods, Part I: Biochemistry and Biotechnology*. 2016: 246-.
- 75 Duwat P, Cesselin B, Sourice S, Gruss A. *Lactococcus lactis*, a bacterial model for stress responses and survival. *International journal of food microbiology*, 2000, 55: 83-86.
- 76 Omak G, Özcan T, Ersan LY. Biyolojik Detoksifikasyon ve Probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2016, 30: 157-168.

- 77 Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, 2014,11: 4745-4767 .
- 78 Timmerman H, Koning C, Mulder L, Rombouts F, Beynen A. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics—a comparison of functionality and efficacy. *International journal of food microbiology*, 2004, 96: 219-233 .
- 79 Hasler CM. Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of nutrition*, 2002, 132: 3772-3781.
- 80 Fanaro S, Chierici R, Guerrini P, Vigi V. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta paediatrica*, 2003, 92: 48-55.
- 81 Dogan M, Ozpinar H. Investigation of probiotic features of bacteria isolated from some food products. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2017, 23: 555-562.
- 82 Canbulat Z, Ozcan T. Effects of Short-Chain and Long-Chain Inulin on the Quality of Probiotic Yogurt Containing *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of food processing and preservation*, 2015, 39, 1251-1260.
- 83 Seppo, L., Jauhiainen, T., Poussa, T. & Korpela, R. A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure–lowering effect in hypertensive subjects. *The American journal of clinical nutrition*, 2003, 77: 326-330.
- 84 Shah NP. Functional cultures and health benefits. *International dairy journal*, 2007, 17: 1262-1277.
- 85 Williams NT. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2010, 67: 449-458.

- 86 Gismondo M, Drago L, Lombardi A. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International journal of antimicrobial agents*, 1999, 12: 287-292.
- 87 Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, 2000, 84: 197-215.
- 88 Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. *International journal of dairy technology*, 1998, 51: 123-136.
- 89 Başıyğit G. *Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanılma özellikleri*, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süleyman Demirel Üniversitesi, 2004.
- 90 Gülbandılar A, Mehtap O, Dönmez M. Fonksiyonel Gıda Olarak Kullanılan Probiyotikler Ve Özellikleri. *Turkish Journal Of Scientific Reviews*, 2017, 10: 44-47.
- 91 Heyman M, Ménard S. Probiotic microorganisms: how they affect intestinal pathophysiology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2002, 59: 1151-65.
- 92 Tachedjian G, Aldunate M, Bradshaw CS, Cone RA. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in microbiology*, 2017, 168: 782-792.
- 93 Staudacher HM, Lomer MCE, Farquharson FM, Louis P, Fava F, Franciosi E, Scholz M, Tuohy KM, Lindsay JO, Irving PM, Whelan K. A diet low in FODMAPs reduces symptoms in patients with irritable bowel syndrome and a probiotic restores bifidobacterium species: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*, 2017, 153: 936-947.

- 94 Celandroni F, Vecchione A, Cara A, Mazzantini D, Lupetti A, Ghelardi E. Identification of *Bacillus* species: Implication on the quality of probiotic formulations. *PloS one*, 2019,14: e0217021.
- 95 Taşdemir A. Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler. *Sağlık Akademisi Kastamonu* 2017, 2: 71-88.
- 96 Chandak S, Moon AA, Karale SS, Bharadwaj A. Comparative evaluation of efficacy of various probiotics on *Streptococcus* species. *International Journal*, 2017, 3:173-176.
- 97 Zafar H, Saier Jr MH. Comparative genomics of transport proteins in seven *Bacteroides* species. *PloS one*, 2018, 13: e0208151.
- 98 Prathivadi Bayankaram P, Sellamuthu PS. Antifungal and anti-aflatoxigenic effect of probiotics against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Toxin Reviews*, 2016, 35: 10-15.
- 99 Lourens-Hattingh A, Viljoen B. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International*, 2001, 34: 791-796.
- 100 Sarao LK, Arora M. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2017, 57: 344-371.
- 101 Hosono A. *et al.* Characterization of a water-soluble polysaccharide fraction with immunopotentiating activity from *Bifidobacterium adolescentis* M101-4. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 1997, 61: 312-316.
- 102 Grangette C, Grangette C, Nutten S, Palumbo E, Morath S, Hermann C, Dewulf J, Pot B, Hartung T, Hols P, Mercenier A. Enhanced antiinflammatory capacity of a *Lactobacillus plantarum* mutant synthesizing modified teichoic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005,102: 10321-10326.

- 103 Konstantinov SR, Smidta H, de Vos^{a,c} WM, Bruijns^b SCM, Singh^b SK, Valence^d F, Molle^d D, Lortal^d S, Alterman^e E, Klaenhammer^e TR, Van Kooyk Y. S layer protein A of *Lactobacillus acidophilus* NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105: 19474-19479.
- 104 Mishra C, Lambert J. Production of anti-microbial substances by probiotics. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 1996, 5: 20-24.
- 105 Pizzorno JE, Murray MT. *Textbook of Natural Medicine-E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2012.
- 106 Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobbato N. Immune system stimulation by probiotics. *Journal of dairy science*, 1995, 78: 1597-1606.
- 107 Servin AL, Coconnier MH. Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2003, 17: 741-754.
- 108 McGhee J. *Mucosal immune responses*. An overview. *Mucosal immunology*, 1999: 485-505.
- 109 Marteau P, Seksik P, Jian R. Probiotics and health: new facts and ideas. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13: 486-489.
- 110 Roszak D, Colwell R. Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiological reviews*, 1987, 51: 365-379.
- 111 Oliver JD. The viable but nonculturable state in bacteria. *Journal of Microbiology*, 2005, 43: 93-100.
- 112 Rastall RA, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, Reid G, Rowland IR, Sanders ME. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: an overview of

- enabling science and potential applications. *FEMS microbiology ecology*, 2005, 52: 145-152.
- 113 Saxelin M, Tynkkynen S, Mattila-Sandholm T, de Vos WM. Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current opinion in biotechnology*, 2005, 16: 204-211.
 - 114 Yan F, Polk DB. Probiotics: progress toward novel therapies for intestinal diseases. *Current opinion in gastroenterology*, 2010, 26: 95-101.
 - 115 Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied microbiology and biotechnology*, 2019,103: 6463-6472.
 - 116 Shida K, Nanno M. Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff. *Trends in immunology*, 2008, 29: 565-573.
 - 117 Galdeano CM, De Leblanc ADM, Vinderola G, Bonet MB, Perdigon G. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and vaccine immunology*, 2007, 14: 485-492.
 - 118 Schultz M, Sartor RB. Probiotics and inflammatory bowel diseases. *The American journal of gastroenterology*, 2000, 95: 19-21.
 - 119 Resta SC. Effects of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: implications for nutrient handling. *The Journal of physiology*, 2009, 587: 4169-4174.
 - 120 Jiang T, Xing X, Zhang L, Liu Z, Zhao J, Liu X. Chitosan oligosaccharides show protective effects in coronary heart disease by improving antioxidant capacity via the increase in intestinal probiotics. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.

- 121 Ripert G. Ripert G, Racedo SM, Elie AM, Jacquot C, Bressollier P, Urdaci MC. Secreted compounds of the probiotic *Bacillus clausii* strain O/C inhibit the cytotoxic effects induced by *Clostridium difficile* and *Bacillus cereus* toxins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, 60: 3445-3454.
- 122 Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, Wang Y, Li W. Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 2017, 9: 521.
- 123 Gutteridge J, Richmond R, Halliwell B. Inhibition of the iron-catalysed formation of hydroxyl radicals from superoxide and of lipid peroxidation by desferrioxamine. *Biochemical Journal*, 1979, 184: 469-472.
- 124 Lin MY, Yen CL. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1999, 47: 1460-1466.
- 125 Lee J, Hwang KT, Chung MY, Cho DH, Park CS. Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): role for a metal ion chelating effect. *Journal of food science*, 2005, 70: 388-391.
- 126 Ahire JJ, Mokashe NU, Patil HJ, Chaudhari BL. Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. *Journal of food science and technology*, 2013, 50: 26-34.
- 127 Dargahi N, Johnson J, Apostolopoulos V. *Streptococcus thermophilus* alters the expression of genes associated with innate and adaptive immunity in human peripheral blood mononuclear cells. *PloS one*, 2020, 15: e0228531.
- 128 Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1995, 35: 7-20.
- 129 Landis GN, Tower J. Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 2005, 126: 365-379.

- 130 Davies KJ. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB life*, 2000, 50: 279-289.
- 131 Kullisaar T, Zilmer M, Mikelsaar M , Vihailemm T, Annuk H, Kairane C, Kilk A. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International journal of food microbiology*, 2002, 72: 215-224.
- 132 Koc M, Taysi S, Buyukokuroglu ME, Bakan N. Melatonin protects rat liver against irradiation-induced oxidative injury. *Journal of radiation research*, 2003, 44: 211-215.
- 133 Seguí J, Gironella M, Sans M, Granell S, Gil F, Gimeno M, Coronel P, Piqué JM, Panés J. Superoxide dismutase ameliorates TNBS-induced colitis by reducing oxidative stress, adhesion molecule expression, and leukocyte recruitment into the inflamed intestine. *Journal of leukocyte biology*, 2004, 76: 537-544.
- 134 Mollà M, Gironella M, Salas A, Closa D, Biete A, Gimeno M, Coronel P, Pique JM, Panes J. Protective effect of superoxide dismutase in radiation-induced intestinal inflammation. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 2005, 61: 1159-1166.
- 135 LeBlanc JG, del Carmen S, Miyoshi A, Azevedo V, Sesma F, Langella P, Bermúdez-Humarán LG, Watterlot L, Perdigon G, LeBlanc ADM. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. *Journal of Biotechnology*, 2011, 151: 287-293.
- 136 Ho YS, Xiong Y, Ma W, Spector A, Ho DS. Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279: 32804-32812.
- 137 de LeBlanc ADM, LeBlanc JG, Perdigón G, Miyoshi A, Langella P, Azevedo V, Sesma F. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can

- prevent a chemically induced colon cancer in mice. *Journal of Medical Microbiology*, 2008, 57: 100-105.
- 138 Wang A, Yi X, Yu H, Dong B, Qiao S. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing–finishing pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107: 1140-1148.
- 139 Aluwong T, Kawu M, Raji M, Dzenda T, Govwang F, Sinkalu V, Ayo J. Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. *Antioxidants*, 2013, 2: 26-339.
- 140 Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 2012, 28: 539-543.
- 141 Pompei A, Cordisco L, Amaretti A, Zanoni S, Matteuzzi D, Rossi M. Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Applied and environmental microbiology*, 2007, 73: 179-185.
- 142 Rossi M, Amaretti A, Raimondi S. Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients*, 2011, 3: 118-134.
- 143 Pompei A, Cordisco L, Amaretti A, Zanoni S, Raimondi S, Matteuzzi D, Rossi . Administration of folate-producing bifidobacteria enhances folate status in Wistar rats. *The Journal of nutrition*, 2007, 137: 2742-2746.
- 144 Strozzi GP, Mogna L. Quantification of folic acid in human feces after administration of *Bifidobacterium* probiotic strains. *Journal of clinical gastroenterology*, 2008, 42: 179-184.
- 145 Zilmer M, Soomets U, Rehema A, Langel U. The glutathione system as an attractive therapeutic target. *Drug Design Reviews-Online*, 2005, 2: 121-127.

- 146 Kullisaar T, Songisepp E, Aunapuu M, Kilk K, Arend A, Mikelsaar M, Rehema A, Zilmer M. Complete glutathione system in probiotic *Lactobacillus fermentum* ME-3. *Applied biochemistry and microbiology*, 2010, 46: 481-486.
- 147 Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 2011, 474: 327-336.
- 148 Endo H, Niioka M, Kobayashi N, Tanaka M, Watanabe T. Butyrate-producing probiotics reduce nonalcoholic fatty liver disease progression in rats: new insight into the probiotics for the gut-liver axis. *PloS one*, 2013, 8: e63388.
- 149 Al-Maskari MY, Waly MI, Ali A, Al-Shuaibi YS, Ouhtit A. Folate and vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia promote oxidative stress in adult type 2 diabetes. *Nutrition*, 2012, 28: 23-26.
- 150 Salehi-Abargouei A, Ghasvand R, Hariri M. Prebiotics, probiotics and synbiotics: can they reduce plasma oxidative stress parameters? A systematic review. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 2017, 9: 1-11.
- 151 Bell J. Anti-oxidant nutrition: An adjuvant with a balance diet. *Journal of Critical Reviews*, 2018, 5.
- 152 Darendelioglu E, Çiftci M, Baydas G. *Lactobacillus Reuteri*'den Elde Edilen Kzya'nin İnsan Kolon Kanseri Hücrelerinde (Ht-29) Apoptotik Etkileri. *Türk Doğa Ve Fen Dergisi*, 2017, 6: 11-19.
- 153 Bucur O, Ray S, Bucur MC, Almasan A. APO2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in prostate cancer therapy. *Front Biosci*, 2006, 11: 1549-1568.
- 154 Kato I, Endo K, Yokokura T. Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. *International journal of immunopharmacology*, 1994, 16: 29-36.

- 155 Matsuu M, Shichijo K, Okaichi K, Yang Wen C, Fukuda E, Nakashima M, Nakayama T, Shirahata S, Tokumaru S, Sekine I. The protective effect of fermented milk kefir on radiation-induced apoptosis in colonic crypt cells of rats. *Journal of radiation research*, 2003, 44: 111-115.
- 156 Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *Journal of biological chemistry*, 2002, 277: 50959-50965.
- 157 Den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*, 2013, 54: 2325-2340.
- 158 Van Zanten GC, Knudsen A, R  yti   H, Forssten S, Lawther M, Blennow A, Lahtinen SJ, Jakobsen M, Svensson B, Jespersen L. The effect of selected synbiotics on microbial composition and short-chain fatty acid production in a model system of the human colon. *PloS one*, 2012, 7: e47212.
- 159 Noverr MC, Huffnagle GB. Regulation of *Candida albicans* morphogenesis by fatty acid metabolites. *Infection and immunity*, 2004, 72: 6206-6210.
- 160 Willett WC. Diet and cancer. *The oncologist*, 2000, 5: 393-404.
- 161 Reddy BS, Rivenson A. Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* on colon, mammary, and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline, a food mutagen. *Cancer Research*, 1993, 53: 3914-3918.
- 162 Biffi A, Coradini D, Larsen R, Riva L, Di Fronzo G. Antiproliferative effect of fermented milk on the growth of a human breast cancer cell line. 1997.
- 163 Thirabunyanon M, Hongwittayakorn P. Potential probiotic lactic acid bacteria of human origin induce antiproliferation of colon cancer cells via synergic actions in adhesion to cancer cells and short-chain fatty acid bioproduction. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2013, 169: 511-525.

- 164 Hague A, Singh B, Paraskeva C. Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate. *Gastroenterology*, 1997, 112: 1036-1040.
- 165 Kim AD, Han X, Piao MJ, Hewage SRKM, Hyun CL, Cho SJ, Hyun JW. Esculetin induces death of human colon cancer cells via the reactive oxygen species-mediated mitochondrial apoptosis pathway. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2015, 39: 982-989.
- 166 Rosenberg B., Van Camp L, Grimley EB, Thomson AJ. The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum (IV) complexes. *Journal of Biological Chemistry*, 1967, 242: 1347-1352.
- 167 Ryu JS, Robinson L, Raucher D. Elastin-Like Polypeptide Delivers a Notch Inhibitory Peptide to Inhibit Tumor Growth in Combination with Paclitaxel. *Journal of Chemotherapy*, 2019, 31: 23-29.
- 168 Wang D, Lippard S. Nature Rev Drug Discov 2005, 4: 307–320.[PubMed: 15789122] b) Kelland L. *Nature Rev Cancer*, 2007, 7: 573-584.
- 169 Burger A, Double J, Newell D. Inhibition of telomerase activity by cisplatin in human testicular cancer cells. *European Journal of Cancer* ,1997, 33: 638-644.
- 170 Gryparis EC, Hatzia Apostolou M, Papadimitriou, E. & Avgoustakis, K. Anticancer activity of cisplatin-loaded PLGA-mPEG nanoparticles on LNCaP prostate cancer cells. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 2007, 67: 1-8.
- 171 Xiang Y, Ma N, Wang D, Zhang Y, Zhou J, Wu G, Zhao R, Huang H, Wang X, Qiao Y, Li F, Han D, Wang L, Zhang G, Gao X. MiR-152 and miR-185 co-contribute to ovarian cancer cells cisplatin sensitivity by targeting DNMT1 directly: a novel epigenetic therapy independent of decitabine. *Oncogene*, 2014, 33: 378-386.

- 172 Cohen SM, Lippard SJ. Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. 2001.
- 173 Jeon MS, Song SH, Yun J, Kang JY, Kim HP, Han SW, Kim TY. Aberrant epigenetic modifications of LPHN2 function as a potential cisplatin-specific biomarker for human gastrointestinal cancer. *Cancer Research and Treatment: Official Journal of Korean Cancer Association*, 2016, 48: 676-686.
- 174 Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, Gorlia T, Mesia R, Degardin M, Stewart JS, Jelic S, Betka J, Preiss JH, van den Weyngaert D, Awada A, Cupissol D, Kienzer HR, Rey A, Desauois I, Bernier J, Lefebvre JL. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *New England Journal of Medicine*, 2007, 357: 1695-1704.
- 175 Szturz P, Wouters K, Kiyota N, Tahara M, Prabhash K, Noronha V, Adelstein D, Vermorken JB. Altered fractionation radiotherapy combined with concurrent low-dose or high-dose cisplatin in head and neck cancer: a systematic review of literature and meta-analysis. *Oral Oncology*, 2018, 76: 52-60 .
- 176 Group IALCTC. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, 2004, 350: 351-360.
- 177 Isakoff SJ, Mayer EL, He L, Traina TA, Carey LA, Krag KJ, Rugo HS, Liu MC, Stearns V, Come SE, Timms KM, Hartman AR, Borger DR, Finkelstein DM, Garber JE, Ryan PD , Winer EP, Goss PE, Ellisen LW. TBCRC009: a multicenter phase II clinical trial of platinum monotherapy with biomarker assessment in metastatic triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 2015, 33: 1902-9.

- 178 Crump M, Baetz T, Couban S, Belch A, Marcellus D, Howson-Jan K, Imrie K, Myers R, Adams G, Ding K, Paul N, Shepherd L, Iglesias J, Meyer R. Gemcitabine, dexamethasone, and cisplatin in patients with recurrent or refractory aggressive histology B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase II study by the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC-CTG). *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 2004, 101: 1835-1842.
- 179 Lazzarino M, Corso A, Barbarano L, Alessandrino EP, Cairoli R, Pinotti G, Ucci G, Uziel L, Rodeghiero F, Fava S, Ferrari D, Fiumanò M, Frigerio G, Isa L, Luraschi A, Montanara S, Morandi S, Perego D, Santagostino A, Savaré M, Vismara A, Morra E. DCEP (dexamethasone, cyclophosphamide, etoposide, and cisplatin) is an effective regimen for peripheral blood stem cell collection in multiple myeloma. *Bone marrow transplantation*, 2001, 28: 835-839.
- 180 Federici C, Petrucci F, Caimi S, Cesolini A, Logozzi M, Borghi M, D'Ilio S, Lugini L, Violante N, Azzarito T, Majorani C, Brambilla D, Fais S. Exosome release and low pH belong to a framework of resistance of human melanoma cells to cisplatin. *PloS one*, 2014, 9: e88193.
- 181 Cvitanović S, Kanceljak-Macan B, Kotarac S, Matanić D, Vuković J, Kardum G. Liječenje malignog mezotelioma poplućnice. *Medicina Fluminensis: Medicina Fluminensis*, 2009, 45: 94-101.
- 182 Sabuncuoğlu S. Özgüneş H. Sisplatin Toksisitesi: Oksidatif Stresin Önemi Ve Antioksidanların Etkisi. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 2011, 74: 18-25.
- 183 Wozniak K, Czechowska A, Blasiak J. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. *Chemico-biological interactions*, 2004, 147: 309-318.

- 184 Basu A, Krishnamurthy, S. Cellular responses to Cisplatin-induced DNA damage. *Journal of nucleic acids*, 2010.
- 185 Atessahin A, Yilmaz S, Karahan I, Ceribasi AO, Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology*, 2005, 212: 116-123.
- 186 Nowak GY. Protein kinase C- α and ERK1/2 mediate mitochondrial dysfunction, decreases in active Na⁺ transport, and cisplatin-induced apoptosis in renal cells. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277: 43377-43388.
- 187 Eid AH, Abdelkader NF, Abd El-Raouf OM, Fawzy HM, Ezz-El-Din S. Carvedilol alleviates testicular and spermatological damage induced by cisplatin in rats via modulation of oxidative stress and inflammation. *Archives of pharmacal research*, 2016, 39: 1693-1702.
- 188 Pabla N, Dong, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney international*, 2008, 73: 994-1007.
- 189 Arnesano F, Natile G. "Platinum on the road": Interactions of antitumoral cisplatin with proteins. *Pure and Applied Chemistry*, 2008, 80: 2715-2725.
- 190 Carloni P, Andreoni V, Hutter J, Curioni A, Giannozzi P, Parrinello M. Structure and bonding in cisplatin and other Pt (II) complexes. *Chemical physics letters*, 1995, 234: 50-56.
- 191 Speelmans G, Sips WH, Grisel RJ, Staffhorst RW, Fichtinger-Schepman AM, Reedijk J, de Kruijff B. The interaction of the anti-cancer drug cisplatin with phospholipids is specific for negatively charged phospholipids and takes place at low chloride ion concentration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1996, 1283: 60-66.

- 192 Coll M, Sherman SE, Gibson D, Lippard SJ, Wang AHJ. Molecular structure of the complex formed between the anticancer drug cisplatin and d (pGpG): C2221 crystal form. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1990, 8: 315-330.
- 193 Scovell WM, Muirhead N, Kroos LR. Cis-diamminedichloroplatinum (II) selectively cross-links high mobility group proteins 1 and 2 to DNA in micrococcal nuclease accessible regions of chromatin. *Biochemical and biophysical research communications*, 1987, 142: 826-835.
- 194 Florea AM, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers*, 2011, 3: 1351-1371.
- 195 Goodsell DS. The molecular perspective: cisplatin. *Stem Cells*, 2006, 24: 514-515.
- 196 Corden BJ, Fine RL, Ozols RF, Collins JM. Clinical pharmacology of high-dose cisplatin. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 1985, 14: 38-41.
- 197 Jordan P, Carmo-Fonseca M. Molecular mechanisms involved in cisplatin cytotoxicity. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2000, 57: 1229-1235.
- 198 Litterst CL, Gram TE, Dedrick RL, Leroy AF, Guarino AM. Distribution and disposition of platinum following intravenous administration of cis-diamminedichloroplatinum (II)(NSC 119875) to dogs. *Cancer Research*, 1976, 36: 2340-2344.
- 199 Barabas K, Milner R, Lurie D, Adin C. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *Veterinary and comparative oncology*, 2008, 6: 1-18.
- 200 Chabner BA. Antineoplastic agents. *Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics*, 1996
- 201 Kuhlmann M, Burkhardt G, Köhler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrology, dialysis*,

- transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association*, 1997, 12: 2478-2480.
- 202 Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature reviews Drug discovery*, 2005, 4: 307-320.
 - 203 Oh GS, Kim HJ, Shen A, Lee SB, Khadka D, Pandit A, So. Cisplatin-induced kidney dysfunction and perspectives on improving treatment strategies. *Electrolytes & Blood Pressure*, 2014, 12: 55-65.
 - 204 Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, Pavenstädt H, Koepsell H, Piechota H, Haier J, Jaehde U, Zisowsky J, Schlatter E. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter. *The American journal of pathology*, 2005, 167: 1477-84.
 - 205 Hanigan MH, Devarajan P. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms. *Cancer therapy*, 2003, 1: 47-61.
 - 206 Dzagnidze A, Katsarava Z, Makhalova J, Liedert B, Yoon MS, Kaube H, Limmroth V, Thomale J. Repair capacity for platinum-DNA adducts determines the severity of cisplatin-induced peripheral neuropathy. *Journal of Neuroscience*, 2007, 27: 9451-9457.
 - 207 Nishikawa M, Nagatomi H, Chang BJ, Sato E, Inoue M. Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells inhibits mitochondrial injury and renal dysfunction induced by cisplatin. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2001, 387: 78-84.
 - 208 Minirevie A. Mechanisms Of Effects Of Platinum (Ii) And (Iv) Complexes. Comparison Of Cisplatin And Oxaliplatin With Satraplatin And La-12, New Pt (Iv)-Based Drugs. *Scripta Medica (Brno)*, 2008, 81: 105-116.

- 209 Casagrande N, De Paoli M, Celegato M, Borghese C, Mongiat M, Colombatti A, Aldinucci D. Preclinical evaluation of a new liposomal formulation of cisplatin, lipoplatin, to treat cisplatin-resistant cervical cancer. *Gynecologic oncology*, 2013, 131: 744-752.
- 210 Parker RJ, Gill I, Tarone R, Vionnet JA, Grunberg S, Muggia FM, Reed E. Platinum—DNA damage in leukocyte DNA of patients receiving carboplatin and cisplatin chemotherapy, measured by atomic absorption spectrometry. *Carcinogenesis*, 1991, 12: 1253-1258.
- 211 Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, Castedo M, Kroemer G. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene*, 2012, 31:1869-1883.
- 212 Chen Y, Tsai YH, Fang Y, Tseng SH. Micro-RNA-21 regulates the sensitivity to cisplatin in human neuroblastoma cells. *Journal of pediatric surgery*, 2012, 47: 1797-1805.
- 213 Sculier J-P, Moro-Sibilot D. İleri Evre Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanserinin Birinci- ve İkinci- Basamak Tedavisi. *European Respiratory Journal*, 2008, 32: 1295–1303.
- 214 Leibbrandt ME, Wolfgang GH, Metz AL, Ozobia AA, Haskins JR. Critical subcellular targets of cisplatin and related platinum analogs in rat renal proximal tubule cells. *Kidney international*, 1995, 48: 761-770.
- 215 Desoize B, Madoulet C. Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. *Critical reviews in oncology/hematology*, 2002, 2: 317-325.
- 216 Liao Y, Lu X, Lu C, Li G, Jin Y, Tang H. Selection of agents for prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity. *Pharmacological Research*, 2008, 57: 125-131.

- 217 Ravi R, Somani SM, Rybak LP. Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacology & toxicology*, 1995, 76: 386-394.
- 218 Cersosimo RJ. Cisplatin neurotoxicity. *Cancer treatment reviews*, 1989, 16: 195-211.
- 219 Pinzani V, Bressolle F, Haug IJ, Galtier M, Blayac JP, Balmès P. Cisplatin-induced renal toxicity and toxicity-modulating strategies: a review. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 1994.35: 1-9.
- 220 MacEwen EG, Kurzman ID, Rosenthal RC, Smith BW, Manley PA, Roush JK, Howard PE. Therapy for osteosarcoma in dogs with intravenous injection of liposome-encapsulated muramyl tripeptide. 1989.
- 221 Plumb DC. *Plumb's Veterinary Drug Handbook: Desk*. John Wiley & Sons
- 222 Mattson DM, Ahmad IM, Dayal D, Parsons AD, Aykin-Burns N, Li L, Orcutt KP, Spitz DR, Dornfeld KJ, Simons AL. Cisplatin combined with zidovudine enhances cytotoxicity and oxidative stress in human head and neck cancer cells via a thiol-dependent mechanism. *Free Radical Biology and Medicine*, 2018, 46: 232-7.
- 223 Dugbartey GJ, Peppone LJ, de Graaf IA. An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology*, 2016, 371: 58-66.
- 224 Townsend DM, Tew KD, He L, King JB, Hanigan MH. Role of glutathione S-transferase Pi in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2009, 63: 79-85.
- 225 Kruidering M, Van De Water B, De Heer E, Mulder GJ, Nagelkerke JF. Cisplatin-induced nephrotoxicity in porcine proximal tubular cells: mitochondrial dysfunction by inhibition of complexes I to IV of the respiratory chain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1997, 280: 638-649.

- 226 Fatima S, Arivarasu N, Mahmood R, Vitamin C. Attenuates cisplatin-induced alterations in renal brush border membrane enzymes and phosphate transport. *Human & experimental toxicology*, 2007, 26: 419-426.
- 227 Chowdhury S, Sinha K, Banerjee S, Sil PC. Taurine protects cisplatin induced cardiotoxicity by modulating inflammatory and endoplasmic reticulum stress responses. *Biofactors*, 2016, 42: 647-664.
- 228 Shiraishi F, Curtis LM, Truong L, Poss K, Visner GA, Madsen K, Nick HS, Agarwal A. Heme oxygenase-1 gene ablation or expression modulates cisplatin-induced renal tubular apoptosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2000, 278: 726-736.
- 229 Hanigan MH, Frierson Jr HF. Immunohistochemical detection of gamma-glutamyl transpeptidase in normal human tissue. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1996, 44: 1101-1108.
- 230 Paolicchi A, Sotiropoulou M, Perego P, Daubeuf S, Visvikis A, Lorenzini E, Franzini M, Romiti N, Chieli E, Leone R, Apostoli P, Colangelo D, Zunino F, Pompella A. γ -Glutamyl transpeptidase catalyses the extracellular detoxification of cisplatin in a human cell line derived from the proximal convoluted tubule of the kidney. *European Journal of Cancer*, 2003, 39: 996-1003.
- 231 Pabla N, Murphy RF, Liu K, Dong Z. The copper transporter Ctr1 contributes to cisplatin uptake by renal tubular cells during cisplatin nephrotoxicity. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2009, 296: 505-511.
- 232 Kolb RJ, Ghazi MA, Barfuss DW. Inhibition of basolateral transport and cellular accumulation of cDDP and N-acetyl-L-cysteine-cDDP by TEA and PAH in the renal proximal tubule. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2003, 51: 132-138.

- 233 Yin X, Apostolov EO, Shah SV, Wang X, Bogdanov KV, Buzder T, Stewart AG, Basnakian AG. Induction of renal endonuclease G by cisplatin is reduced in DNase I-deficient mice. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2007, 18: 2544-2553.
- 234 Deng J, Kohda Y, Chiao H, Wang Y, Hu X, Hewitt SM, Miyaji T, Mcleroy P, Nibhanupudy B, Li S, Star SA. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney international*, 2001, 60: 2118-2128.
- 235 Noori S, Mahboob T. Antioxidant effect of carnosine pretreatment on cisplatin-induced renal oxidative stress in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2010, 25: 86-91.
- 236 Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2001, 12: 2683-2690.
- 237 Portilla D, Dai G, McClure T, Bates L, Kurten R, Megyesi J, Price P, Li S. Alterations of PPAR α and its coactivator PGC-1 in cisplatin-induced acute renal failure. *Kidney international*, 2002, 62: 1208-1218.
- 238 Cullen KJ, Yang Z, Schumaker L, Guo Z. Mitochondria as a critical target of the chemotherapeutic agent cisplatin in head and neck cancer. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 2007, 39: 43-50.
- 239 Antunes LMG, Darin JDAC, Maria de Lourdes PB. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacological Research*, 2001, 43: 145-150.
- 240 Jiang M, Wang CY, Huang S, Yang T, Dong Z. Cisplatin-induced apoptosis in p53-deficient renal cells via the intrinsic mitochondrial pathway. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2009, 296: 983-993.

- 241 Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Nielsen S, Frøkiær J, Østergaard LF Christensen S, Daugaard G, Jonassen TEN. Magnesium depletion enhances cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 2005, 56: 535-542.
- 242 El-Sawalhi MM, Ahmed LA. Exploring the protective role of apocynin, a specific NADPH oxidase inhibitor, in cisplatin-induced cardiotoxicity in rats. *Chemico-biological interactions*, 2014, 207: 58-66.
- 243 Karthikeyan K, Bai BS, Devaraj SN. Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *International Journal of Cardiology*, 2007, 115: 326-333.
- 244 El-Awady ESE, Moustafa YM, Abo-Elmatty DM, Radwan A. Cisplatin-induced cardiotoxicity: Mechanisms and cardioprotective strategies. *European journal of pharmacology*, 2011, 650: 335-341.
- 245 Khan SA, McLean MK. Toxicology of frequently encountered nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2012, 42: 289-306.
- 246 Ramesh G, Reeves WB. TNF- α mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *The Journal of clinical investigation*, 2002, 110: 835-842.
- 247 Ramesh G, Kimball SR, Jefferson LS, Reeves WB. Endotoxin and cisplatin synergistically stimulate TNF- α production by renal epithelial cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 2007, 292: 812-819.
- 248 Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, Ljubanovic D, Hoke TS, Somerset H, Oh DJ, Lu L, Klein CL, Dinarello CA, Edelstein CL. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1 β , IL-18, IL-6, and

- neutrophil infiltration in the kidney. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 322: 8-15.
- 249 Lee RH, Song JM, Park MY, Kang SK, Kim YK, Jung YS. Cisplatin-induced apoptosis by translocation of endogenous Bax in mouse collecting duct cells. *Biochemical pharmacology*, 2001, 62: 1013-1023.
- 250 Jiang M, Wei Q, Wang J, Du Q, Yu J, Zhang L, Dong Z. Regulation of PUMA- α by p53 in cisplatin-induced renal cell apoptosis. *Oncogene*, 2006, 25: 4056-4066.
- 251 Liu H, Baliga R. Endoplasmic reticulum stress-associated caspase 12 mediates cisplatin-induced LLC-PK1 cell apoptosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2005, 16: 1985-1992.
- 252 Pincus DH. Microbial identification using the BioMerieux VITEK® 2 System. Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods. Bethesda, MD: Parenteral Drug Association; 2006.
- 253 Karataş T, Yildirim S, Arslan H. Effects of different concentrations of diazinon on 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and histopathology, antioxidant enzyme, acetylcholinesterase activity and plasma metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int. J. of Agricult. and Biol.* 2019a, 21: 583-589.
- 254 Karataş T, Yildirim S, Arslan H, Aggul AG. The effects on brown trout (*Salmo trutta fario*) of different concentrations of deltamethrin. *Comp. Biochem. and Physiol Part C*. 2019b, 226: 1-6.
- 255 Karatas T, Korkmaz F, Karatas A, Yıldırım S. Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on growth, blood biochemistry, immunity, antioxidant, digestive enzymes and liver histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 2020, DOI: 10.1111/ANU.13100
- 256 Cancer. <https://en.wikipedia.org/wiki/Cancer>. 20 Haziran 2020

- 257 Islami F, Sauer AG, Miller KD, Siegel RL, Fedewa SA, Jacobs EJ, McCullough ML, Patel AV, Ma J, Soerjomataram I, Flanders WD, Brawley OW, Gapstur SM, Jemal A. Proportion and number of cancer cases and deaths attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2018, 68: 31-54 .
- 258 Kok J, Buist G, Zomer AL, Van Hijum SA, Kuipers OP. Comparative and functional genomics of lactococci. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, 29: 411-433.
- 259 Van Hylckama Vlieg JE, Rademaker JLW, Bachmann H, Molenaar D, Kelly WJ, Siezen RJ. Natural diversity and adaptive responses of *Lactococcus lactis*. *Current opinion in biotechnology*, 2006, 17: 183-190 .
- 260 Ware, C. F. *Tumor necrosis factors*. 2002.
- 261 Saral S, Dokumacioglu E, Mercantepe T, Atak M, Cinar S, Saral O, Yildiz L, Iskender H, Tumkaya L. The effect of white tea on serum TNF- α /NF- κ B and immunohistochemical parameters in cisplatin-related renal dysfunction in female rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 112: 108604.
- 262 Çınar, DDA. Cyclophosphamide ile indüklenmiş ratlarda, EKG ve kalp enzimleri üzerine naringinin protektif etkilerinin araştırılması, 2017.
- 263 Ibrahim MA, Bakhaat GA, Tammam HG, Mohamed RM. El-Naggar SA. Cardioprotective effect of green tea extract and vitamin E on Cisplatin-induced cardiotoxicity in mice: toxicological, histological and immunohistochemical studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 113: 108731.
- 264 Adalı F, Gonul Y, Kocak A, Yuksel Y, Ozkececi G, Ozdemir C, Tunay K, Bozkurt MF, Gulec Sen O. Effects of thymoquinone against cisplatin-induced cardiac injury in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2016, 31: 271-277.

- 265 Gelen V, Sengul E, Gedikli S, Ozkanlar S., Gur C, Kara A, ... & Cinar A. September). Effects Of Quercetin On Cyclophosphamide-Induced Cardiotoxicity In Rats. In *Acta Physiologica* (Vol. 218, Pp. 14-15). 111 River St, Hoboken 07030-5774, Nj Usa: Wiley-Blackwell.. 2016.
- 266 Kang YJ, Chen Y, Yu A, Voss-McCowan M, Epstein PN. Overexpression of metallothionein in the heart of transgenic mice suppresses doxorubicin cardiotoxicity. *The Journal of clinical investigation*, 1997, 100: 1501-1506 .
- 267 Göktepe M, Günay M. Quercetin Uygulamasının Egzersiz, Serbest Radikal Ve Antioksidan Enzim Düzeyleri Üzerine Etkisi. *International Journal Of Science Culture And Sport (Intjscs)*, 2014.
- 268 Dong Q, Chen L, Lu Q, Sharma S, Li L, Morimoto S, Wang G. Quercetin attenuates doxorubicin cardiotoxicity by modulating B mi-1 expression. *British journal of pharmacology*, 2014, 171: 4440-4454.
- 270 Cagin YF, Erdogan MA, Sahin N, Parlakpınar H, Atayan Y, Polat A, Vardi N, Yıldız A, Tanbek K. Protective effects of apocynin on cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Archives of medical research*, 2015, 46: 517-526.
- 271 Aboud HM, Mahmoud MO, Abdeltawab Mohammed M, Shafiq Awad M, Sabry D. Preparation and appraisal of self-assembled valsartan-loaded amalgamated Pluronic F127/Tween 80 polymeric micelles: boosted cardioprotection via regulation of Mhrt/Nrf2 and Trx1 pathways in cisplatin-induced cardiotoxicity. *Journal of Drug Targeting*, 2020, 28: 282-299.
- 272 Şengül E, Gelen V, Gedikli S, Özkanlar S, Gür C, Çelebi F, Çınar A. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 92: 303-307.

- 273 Sengul E, Gelen SU, Yıldırım S, Çelebi F, Çınar A. Probiotic bacteria attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2019, 9: 116-122.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Eylül TURUNÇ DABANIYASTI Doğum tarihi: 1991 Doğum Yeri: Hatay Medeni Hali: Evli Uyruğu: T.C. Adres: Eylül Veteriner Kliniği Şehitkamil\Gaziantep Tel: 05388477637 Faks: - E-mail: eylulturunc@hotmail.com
Eğitim
Lise: Lisans: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi 2016 Yüksek lisans: Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Patolojisi Anabilim Dalı (2017-) Doktora: -
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: orta Almanca: - Rusça: -
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
Türk Veteriner Hekimleri Birliği
İlgi Alanları ve Hobiler
Kitap Okumak, Sokak Hayvanları İle İlgilenmek.

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

T.C.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Doç. Dr. Serkan YILDIRIM danışmanlığında sunulan “Ratlarda Cisplatin İle İndüklenen Kardiyotoksisiteye Karşı Probiyotiklerin Koruyucu Etkisinin Biyokimyasal, Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	1	15
Genel Bilgiler	2	30
Materyal ve Metod	31	35
Bulgular	1	10
Tartışma	4	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 14 /07/ 2020

EYLÜL TURUNÇ DABANIYASTI

Doç. Dr. Serkan YILDIRIM

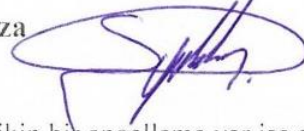
Öğrenci Adı-Soyadı

Danışman Adı-Soyadı

İmza



İmza



* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü

Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 75296309-050.01.04-E.1900071220
Konu : HADYЕК Kararı.

28.02.2019

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 18.02.2019 tarihli ve 36643897-000-E.1900056224 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.02.2019 tarih ve 2 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 20 no'lu kararı ile sözkonusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Üniversitemiz Tıbbi Deney Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYЕК Sonuç Raporu"nın Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ
Kurul Başkanı

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi 25240 Erzurum
Tel: +90 442 2317222
Elektronik Ağ: <http://www.atauni.edu.tr/#!birim=veteriner-fakultesi>

Kep Adresi: atauni@hs01.kep.tr

Bilgi: Mehmet KOCA
Faks: +90 442 2317244
E-Posta: vtfak@atauni.edu.tr



1 / 2

Bu belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
<https://ubys.atauni.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation/Confirmation?code=5C15307>

TOPLANTI TARİHİ : 28.02.2019

TOPLANTI SAYISI : 2

KARAR NO 20: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Serkan YILDIRIM'ın yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Ratlarda Cisplatin İle İndüklenen Kardiotoksisiteye Karşı Probiyotiklerin Koruyucu Etkisinin Biyokimyasal, Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal Olarak Araştırılması”** isimli araştırma çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 18.02.2019 tarih ve 36643897-000-E.1900056224 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesinin, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.