T.C
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞANLARDA PAKLİTAKSEL VE RESVERATROLÜN BAZI KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Sercan KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

KONYA-2015

T.C

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TAVŞANLARDA PAKLİTAKSEL VE RESVERATROLÜN BAZI KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Sercan KAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğütarafından 14202004 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2015

ÖNSÖZ

Günümüzde birçok kanser türünün tedavisinde endike olan güçlü antitümoral etkiye sahip olan paklitaksel, tek başına ya da çeşitli kombinasyonlarıyla sıklıkla kemoterapi kürlerinde kullanılan antikanser bir ajandır. Taksel grubu ilaçlar mitozun dinamik dengesini ve hücre bölünmesini etkilediği için apoptoza sebep olabilirler. Antikanser ilaçların kullanımı sonucunda ortaya çıkan yan etkilerini baskılamada antioksidan maddeler önem taşımakta olup tamamen veya kısmen koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir.

Resveratrol (3, 4', 5-trihydroxy-trans-stilbene) birçok bitki tarafından doğal olarak üretilen ve kırmızı üzümlerin kabuğunda bulunan antioksidan bir maddedir. Geniş spektrumlu etkiye sahip olması nedeniyle birçok patolojik olguya karşı koruyucu ve tedavi edici olarak kullanılmaktadır.

Sunulan tez çalışmasında, paklitaksel'in tavşanlarda bazı kan parametreleri üzerine oluşturabileceği hasarlar, eğer hasar oluşuyor ise resveratrol'ün bu hasarlara karşı koruyucu özelliği araştırılmıştır.

Bu projenin gerçekleştirilmesi için maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne; çalışmanın her aşamasında yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ başta olmak üzere, Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN, Prof. Dr. Emrah SUR, Prof. Dr. Nurcan DÖNMEZ, Doç. Dr. Murat BOYDAK ve Dr. Caner ÖZTÜRK'e ve hayatımın her aşamasında olduğu gibi bu dönemde de bana destek olan ailem ile eşim Büşra KAYA'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER ve KISALTMALAR iv
1. GİRİŞ 1
1.1. PAKLİTAKSEL 1
1.2. RESVERATROL 3
1.2.1. Biyosentezi 5
1.2.2. Emilimi 6
1.2.3. Dokulara Taşınması 6
1.2.4. Organizmadan Atılması 7
1.2.5. Resveratrol ve sinyal ileti yolları 7
1.2.6. Kardiyoprotektif Etkileri 8
1.2.7. Vazorelaksasyon 8
1.2.8. Anti-enflamatuvar etkileri 9
1.2.9. ROS Yakalayıcısı Olarak Resveratrol 10
1.2.10. Anti-apoptotik Etkisi 10
2. GEREÇ VE YÖNTEM 12
2.1. Tavşanların Bakım ve Beslenmesi 12
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması 12
2.3. Tavşanlara İntravenöz Enjeksiyon 13
2.4. Antikanser İlaç Uygulaması 13
2.5. Resveratrolün Uygulanması 14
2.6. Kan Örneklerinin Alınması ve Boyanması 14
2.6.1. ANAE demonstrasyonu 14
2.6.2. May Grünwald-Giemsa Boyama 15
2.7. İstatistiksel Analiz 15
3.BULGULAR 18
4.TARTIŞMA 22
5.SONUÇ VE ÖNERİLER 26
6. KAYNAKLAR 27
7.EKLER 31
7.1.EK A: Etik Kurul Kararı 31
8.ÖZGEÇMİŞ 32

SİMGELER ve KISALTMALAR

ANAE: Alfa-naftil asetat esteraz

DYT: Doz Yoğun Tedavi

FN: Febril Nötropeni

G-CSF: Granülosit- koloni sitimule edici faktör

NO: Nitrik oksit

PAK: Paklitaksel

RES: Resveratrol

ROS: Reaktif oksijen türleri

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tavşanlarda Paklitaksel ve Resveratrolun Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi

Sercan KAYA

Histoloji ve Embriyoloji (Vet) Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA-2015

Bu çalışmada paklitakselin kan parametreleri üzerine oluşturduğu olumsuz etki ve bunun üzerine resveratrol'ün koruyucu etkisi olup olmadığı, perifer kan ANAE pozitif lenfosit oranı, lökosit formülü, nötrofil çekirdek lob sayısı ve eritrosit çapı üzerine etkileri ile değerlendirildi.

Yeni Zelanda ırkı erkek tavşanlar, her grupta 8 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 40 ml serum fizyolojik, paklitaksel grubuna 40 ml serum fizyolojik içerisinde 5mg/kg dozunda paklitaksel, resveratrol grubuna 40 ml serum fizyolojik içerisinde 4 mg/kg dozunda resveratrol, paklitaksel+resveratrol grubuna ise 40ml lik serum fizyolojik içerisinde 5 mg/kg paklitaksel + 4 mg/kg resveratrol uygulandı. Tüm uygulamalar 8 hafta boyunca haftada bir defa intravenöz yolla yapıldı.

Paklitaksel nötropeniye sebep olurken total lenfosit ve monosit oranını artırdığı gözlendi. Nötrofil çekirdek loblanma eğrisinde diğer gruplardan farklı olarak sağa kayma gözlenirken ANAE + lenfosit oranında ise azalma gözlendi. Resveratrolün ANAE + lenfosit oranını azalttığı kısmende olsa nötrofil oranını artırırken total lenfosit oranını azalttığı gözlendi. Birlikte ise resveratrolun, paklitakselin ortaya çıkardığı nötropeni ve total lenfosit artışını engellediği ve ANAE + lenfosit oranını artırdığı gözlendi.

Sonuç olarak paklitakselin bazı kan parametreleri üzerine olumsuz etkileri olduğu belirlendi. Ayrıca resveratrolun paklitakselin olumsuz etkisine karşı koruyucu etkileri olduğu tespit edildi.

Anahtar Sözcükler: Kan parametreleri; paklitaksel; resveratrol; tavşan.

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Effects of Paclitaxel and Resveratrol on some Blood Parameters in Rabbits

Sercan KAYA

Department of Histology and Embryology (Vet)

MASTER of SCIENCE /KONYA-2015

Adverse effects of paclitaxel on blood parameters, consisting the rate of ANAE positive peripheral blood lymphocytes, white cell count, neutrophil core lobe count and erythrocyte diameter, and the protective effects of resveratrol on these parameters are discussed in this study.

New Zealand breed male rabbits were divided into 4 groups to be 8 per each group. Drugs were administered to the releated groups as following; 40 ml of normal saline to control group, 5 mg / kg dose of paclitaxel in 40 mL normal saline to paclitaxel group, 4 mg / kg dose of resveratrol in 40 ml normal saline to the resveratrol group, 5 mg / kg paclitaxel + 4 mg / kg in 40 ml normal saline to paclitaxel + resveratrol group. All administrations were done intravenously once a week for 8 weeks.

Increase in the total proportion of lymphocytes and monocytes while neutropenia was observed due to paclitaxel. The rightward shift of the lobe curve of the neutrophil nuclei was observed but meanwhile the rate of ANAE positive lymphocytes was declined. Resveratrol was found to reduce the rate of ANAE positive lymphocytes. Although the partly increase in the percentage of neutrophils and the reduction in the total lymphocyte ratio were also observed. In the paclitaxel+resveratrol group it is observed that resveratrol prevents the neutropenia and the increase of lymphocytes due to paclitaxel and supplies the increase of ANAE positive lymphocytes.

As a result, it was determined that paclitaxel had a negative impact on some blood parameters. In addition, resveratrol was found to have a protective effect against the harmful effects of paclitaxel.

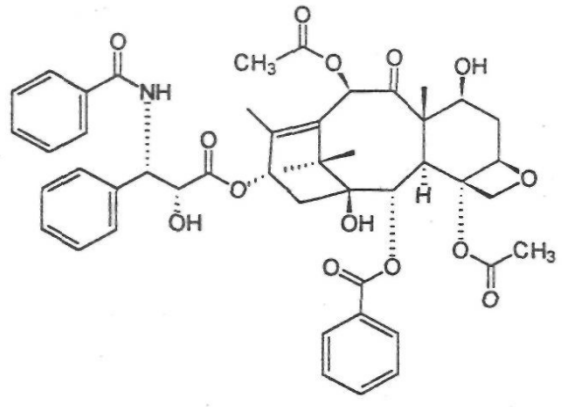
Key Words: Paclitaxel; rabbits; resveratrol; blood parameters

1. GİRİŞ

Antineoplastik ilaçlar özellikle hücreler proliferasyon döneminde iken daha fazla etkinlik göstermektedir. Normal hücrelere oranla daha hızlı bölünme ve çoğalma gösteren kanser hücrelerini tahrip etmek için üretilen çoğu antineoplastik ilaç kanser hücrelerinin yanında bazı normal hücrelerde de benzer özelliklerin bulunmasından dolayı bu hücrelere de doğrudan etki etmektedir. Bu etkilenmeler antineoplastik ilaçların toksik etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Bu etkiler özellikle kan hücreleri, gastrointestinal sistem hücreleri, kıl follikülleri ve germ hücreleri gibi hızlı bölünebilen hücreler üzerinde gözlenmektedir (Türk 2013).

1.1. PAKLİTAKSEL

Paklitaksel ilk defa 1971 yılında kuzeybatı pasifiğin iç kısmındaki dağlar ve kıyıları boyunca yetişen Taxus brevifolia Nutt.'nın kabuklarından düşük miktarda (% 0.02) temin edilmiştir. Diğer Taxus türlerinin de taksol ihtiva ettiği bildirilmiştir (Wani ve ark 1971). Taxus, yavaş büyüyen, seyrek yayılım gösteren ve ağaçlarında bulunan taksolün çok düşük miktarlarda olması ve ağaçların kesilmesiyle çevreye verilen tahrip nedeniyle, ilacın temini için alternatif kaynaklar araştırılmıştır (Croom 1995). Taksol doğada nadir görülen taksan diterpen iskeletine (pentametiltrisiklo [9.3.1.0-3-8]- pentadesen; IUPAC nomenklatürü) sahip, sekiz okso- grubu ve bir yan zincir (N-benzoil fenilizoserin) ile toplam 11 stereomerkez bulunduran kompleks bir bileşiktir (Şekil 1.1) (Wani ve ark 1971).



Şekil 1 1 Paklitakselin moleküler yapısı

Doğal antikanser bileşiklerden birisi olan Paklitaxel (taxol) meme, ovaryum ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinin tedavisinde etkili ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Baş, boyun, gastrointestinal sistem ve mesane kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde de ümit verici olabileceği bildirilmiştir (Rowinsk 1997). Vinca alkaloitleri, kolşisin ve diğer antimitotik bileşiklerden farklı olarak paklitaksel, mikrotubullerde tubulinin polimerizasyonunu artırmak ve dayanıklı mikrotubul toplulukları oluşturmak suretiyle etki etmektedir (Schiff 1979, Horwitz 1992).

Kemoterapide kullanılan ilaçların tamamına yakını hızlı bölünen hücreler üzerinde etki göstermekte olduğundan yan etkileri daha çok kemik iliği, gastrointestinal sistem mukozası ve kıl follikülleri gibi hızlı bölünen hücreler üzerinden olmaktadır (Schrader ve ark 2001, Lee ve ark 2006). Kemoterapide kullanılan ilaçlar etkilerini hücre kinetiği üzerinden gösterir. Tümör hücrelerinin mitoz kapasitesi normal hücrelere oranla daha fazla olduğundan, bu hücreler sitotoksik ilaçlara daha duyarlıdır. Kemoterapide kullanılan ilaçların yan etkileri kümülatif ve irreversible olabilir. Genellikle jinekolojik onkolojide kullanılan kemoterapatik ajanların, kullanıldığı dozlarda, kümülatif toksisite nadir görülür ve tolere edilebilir seviyededir. Paklitaksel'in jinekolojik malignitelerde sıklıkla kullanılan ve mikrotubül üzerinden etki gösteren bir kemoterapi ajanı olduğu bildirilmiştir (Özgül ve ark 2012). Tavşanlarda Paklitaksel in intravenöz yolla uygulanması sonrasında kanda en yüksek konsatrasyona 0.5 saat sonra ulaştığı belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada Paklitaksel'in 5mg/kg dozunda ve 50 mL serum fizyolojik içerisinde kulak veninden uygulandığı belirtilmiştir (Soma ve ark 2008).

Paklitaksel, kanser tedavisinde kullanılan güçlü antiproliferatiflerden olan taksan grubunun bir üyesidir. Ana etki mekanizması, anafaz boyunca mitoz için gerekli olan mikrotübülleri stabilize ederek alfa ve beta tubulin polimerizasyonunu etkilemesidir. Bu sayede, uzunca bir süre, düz kas hücrelerinin göçünü, çoğalmasını ve büyümesini neredeyse tamamen engelleyerek intimal hiperplaziyi ve darlık oluşumunu önler (Hoeven ve ark 2005). Paklitaksel, Ras/Raf/MAP kinazdan sonraki hücre mitogenezini düzenlediği ve bu düzenleme P13 kinaz/ PKb/mTOR sinyal ileti yolundan bağımsız olduğu için, insülin direnci olan diyabetli hastalarda neointimal hiperplaziye aracılık eden yolları engelleyerek etkili olabilir. Tüm bu etkilerden

dolayı, paklitakselin diyabetli hastalarda darlık oluşumuna yol açan aktif yolları yavaşlatabileceği belirtilmiştir (Hermiller ve ark 2005).

Paklitakselin bir başka kullanım alanı da kardiyak stentlerdir. Colombo ve ark (2003), paklitaksel kaplı stent implantasyonundan 12 ay sonrasına kadar yavaş veya orta hızda salınım yapan polimer bazlı paklitaksel kaplı stentlerin, darlık oluşumunu azaltmada ilaç kaplı olmayan stentlerden daha üstün ve güvenli olduğunu belirtmiştir. Stone ve ark (2004), çalışmasında daha önce koroner girişim uygulanmayan 1314 hastada, polimer bazlı paklitaksel kaplı stent ile ilaç kaplı olmayan stent karşılaştırılmış ve dokuz aylık takip sonunda, paklitaksel kaplı stent grubunda anjiyografik darlık ile hedef damar revaskülarizasyonu oranlarında belirgin bir azalma elde edilmiş ve 12 ay sonunda aynı etkinin devam ettiği bildirilmiştir.

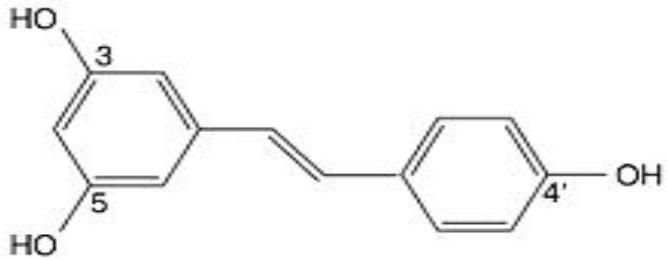
Sgadari ve ark (2000) ise paklitakselin, Bcl-2 anti-apoptotik aktivitesini inhibe etmek ve belirli neoplazmaların tedavisinde son derece etkili olduğu bilinen bir mikrotubul-dengeleyici madde olmakla birlikte son zamanlarda ileri HIV ile ilişkili Kaposi's sarcomalı hastalarda da aktif olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda non-Hodjkin lenfoma (NHL) ve multiple miyeloma (MM) tedavisinde de paklitakselin tek başına ya da başka ilaçlarla kompleks biçimde kullanıldığını belirtilmiştir (Goss ve ark 1999, Miller ve ark 1998). Jazirehi ve Bonavida (2004), kemoterapötik ilaçlara karşı dirençli olan bazı tümör hücrelerinin, farklı ilaç kombinasyonları kullanıldığında apoptoz sürecine girdiklerini bildirmiştir. Aynı çalışmada paklitaksel ile birlikte verilen resveratrolün NHL ve MM hücrelerinin dirençlerini kırarak onları ilaca karşı daha duyarlı hale getirebileceği belirtilmiştir.

1.2. RESVERATROL

Resveratrol (3,4',5-trihydroxystilbene); polifenoller, flavonoidler, antosiyaninler, fenolik asitler, lignanslar ve stilbenleri kapsayan doğal bir antioksidan olup; üzüm, şarap, yer fıstığı ve yabanmersininde bulunan stilbenlerin alt grubu, polifenolik bir bileşiktir (Li 2006). Resveratrol, 1976 yılında üzümde fitoaleksin olarak bulunmuştur. Resveratrolün, 1982 yılında Çin ve Japonya'da Kojo-kon (Kojo-kon: Itadori çayı olarak da bilinmektedir) olarak adlandırılan; cilt enfeksiyonları,

fungal enfeksiyonlar, kalp, karaciğer ve damar hastalıklarında kullanılan "Polygonum cuspidatum" kurusunda bulunduğu belirtilmiştir.



Şekil 1 2 **Resveratrolun Molekul Yapısı**

Fransa'da kırmızı şarap tüketimi ile kardiovasküler hastalık sıklığı arasında ters orantı olduğu belirtilmiştir (Fransız paradoksu) (Wenzel ve Genmany 2005). Resveratrol'ün doğal antioksidan rolü, koenzim Q ile yarışmak ve ROS (Reaktif Oksijen Türevleri) oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmak, mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalamak ve fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibisyonunu sağlayarak üç önemli antioksidan mekanizmasıyla açıklanabilir. Birçok çalışmada, resveratrolün süperoksit ve hidroksil radikalini yakalama yeteneğinin olduğu belirtilmiştir. Buna karşın resveratrolun bu özelliği diğer pek çok güçlü antioksidandan daha zayıftır. Resveratrolün, 9.45 x 108 M-1sec- tepkime hızı ile hidroksil radikalini yakalayabilmesi, askorbik asit gibi potent bir radikal yakalayıcısından daha yavaş olduğunu göstermiştir. Resveratrolün in vitro şartlarda ROS'un zayıf yakalayıcısı olmasına rağmen in vivo koşullarda güçlü bir antioksidan işlevi gördüğü belirtilmiştir. Resveratrolün in vivo koşullarda nitrik oksit sentezini arttırma yeteneği ile antioksidan özelliği güç kazanmaktadır. Resveratrol in vivo koşullarda antioksidan olarak, nitrik oksit süperoksidi yakalama yeteneğine sahiptir. Resveratrolün biyolojik sistemlerde bulunan diğer antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini sağladığı da bildirilmiştir (Lastra ve Villegas 2007). Resveratrolün hidrojen peroksit ile aktive olan insan lenfositlerinde glutatyon miktarında artışa sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca insan lenfositlerinde resveratrolün glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz gibi glutatyon metabolizması ile ilgili enzimlerin miktarını arttırdığı belirtilmiştir (Das ve Maulik 2006).

Resveratrol doğal bir fitoaleksin olarak antioksidan ve antiproliferatif etki gösterir. Resveratrolün inflamatuvar olaylarda ve karsinogenezde düzenleyici rol oynadığı bildirilmiştir. Ayrıca resveratrolün antioksidan, antisiklooksijenaz, lipid ve lipoprotein metabolizmasını düzenleyici etki gösterdiği de belirtilmiştir (Pace-Asciak ve ark 1995, Uğuralp ve ark 2005). Resveratrol hem normal hematopoietik projenitör hücrelerin hem de lösemik hücre hatlarının doza bağlı gelişmesini engellemesine rağmen, lösemik hücre hatlarına kıyasla normal hematopoietik projenitör hücreler üzerine olan antiproliferatif etkisinin çok daha az ve geriye dönüşümlü olabildiği bildirilmiştir (Guatam ve ark 2000).

Resveratrolün radikal süpürücü etkisi sayesinde deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarını azalttığı belirtilmiştir (Nigdikar ve ark 1998). Spinal kord yaralanmalarında resveratrolün etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 99% saflıktaki resveratrolün steril tuzlu suda hazırlanıp tavşanlara intravenöz yolla 100 µg/kg verildiği ve olumlu sonuçlar gösterdiği bildirilmiştir (Kaplan ve ark 2005).

Yeni Zelanda tavşanlarında yapılan iskemi reperfüzyon çalışmasında, resveratrolün omurilik hasarından koruyucu etkisi olup olmadığı araştırılmış, resveratrol 5 dakikalık infüzyonla 1 ve 10 mg/kg dozda uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda resveratrolün oksidatif stresi azalttığı; malonaldehit düzeyini, kontrol grubuna oranla anlamlı düzeyde azalttığı bildirilmiştir (Kızıltepe ve ark 2004).

Sıçanlarda sisplatinin kardiyotoksisitesini incelemek için yapılan çalışmada, resveratrol'ün miyokardiyal hasarı azalttığı, laktat dehidrogenaz artışını ve antioksidan enzim aktivitelerindeki azalmayı önlediği ve malondialdehit artışını engellediği bildirilmiştir. Bunun yanında, resveratrolün kanser hücrelerinde sisplatin ile oluşan sitotoksisiteye karşı da koruyucu olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark 2009).

1.2.1. Biyosentezi

Resveratrol biyosentezini stilben sentaz enzimi kataliz eder. Resveratrolün normalde fazla miktarda üretilmediği buna karşın bitkiler tarafından strese yanıt olarak üretildiği belirtilmiştir. Resveratrolün biyosentezi p-kumarol-CoA'nın p-kumarol kalıntısı ile malonil-CoA'dan 3 adet C-2 alt ünitesinin dekarboksilasyonu ile kondensasyon sonucu ortaya çıktığı bildirilmiştir. Daha ileri reaksiyonları

resveratrolün bifenolik halkasının 3. posizyonunda glikozil veya sülfat kalıntıları ile konjuge olmasıyla oluştuğu belirtilmiştir (Signorelli ve Ghildani 2005).

1.2.2. Emilimi

Resveratrol genellikle jejunumdan, az kısmı ise ileumdan emilmektedir. Bazolateral tarafa transport edilen resveratrolün büyük kısmı, glukuronid ve sülfat formlarına konjuge edilmektedir. Tüm perfüze edilen resveratrolün ve konjugatlarının sadece% 6'sının barsak epitelinden geçebildiği bildirilmiştir (Signorelli ve Ghidoni 2005). Resveratrol diyet ürünlerinde cis ve trans biçiminde de bulunmaktadır. Resveratrolun glikozile formu 3-O-β-D-glukozidtir. Glikozilasyon resveratrolün enzimatik olarak oksidasyonunu engelleyip biyolojik etkinliğini korur, kararlılığını ve biyo-yararlanımının artmasını sağlamaktadır. Barsak hücreleri yalnızca glikozile olmayan resveratrolün emilimini gerçekleştirdiği için bu süreçte glikozidazlar gerekmektedir. Ürünlerde bulunan glikolize olan ve olmayan resveratrolün göreceli oranlarının emilim hızını düzenlediği belirtilmiştir. Trans-piseidin deglikozile edilmesi ince barsakta laktaz florizin hidrolaz [Lactase phlorizin hydrolase (LPH)] ve sitozolik-ß-glukozidaz [Cytosolicß- glucosidase (CBG)] aracılığı ile gerçekleşmektedir. Enterositlere geçişte trans–piseid'in 2 seçeneği bulunmaktadır: bunlardan ilki, apikal membran üzerinde bulunan LPH aracılığıyla lümene glikozile olmayan trans-resveratrol olarak salınıp daha sonra karşı tarafa difüze olmaktır. İkinci seçenek ise sodyuma bağlı glukoz taşıyıcısı 1 [Sodium-dependent glucose transporter1] ile fırçamsı kenar (brush border) membranını geçip daha sonra CBG ile glukozidlerin yıkımının sağlanmasıdır. Deglikozilasyondan sonra trans-piseid'ten trans-resveratrol oluştuğu belirtilmektedir. Trans-resveratrol enterositlerde daha ileri metabolize edilir, ortaya çıkan yeni bileşik glukuronik konjugatıdır. Major glukuronat trans resveratrol-3-O-β-glukuronid olup. glukurokonjugat enterositlerden barsak lümenine salındığı bildirilmiştir (Henry-Vitrac ve ark 2006).

1.2.3. Dokulara Taşınması

Resveratrolün hidrofilik konjuge halde kana geçişinin, vücutta dağılımını ve ekskresyonunu kolaylaştırdığı belirtilmiştir. Resveratrol ve metabolitleri karaciğer ve safra kesesi tarafından kandan filtre edilerek safra yolu ile barsaklara geçip geri

emilime uğrar. Resveratrol ağız yoluyla alındıktan kısa süre sonra kolonda bulunmasına rağmen, dokulara dağılımı birkaç saat almaktadır. Resveratrol karaciğerde glukuronatlanır, karaciğer ve duedenumda ise sülfatlanmaktadır. Resveratrolün biyo-yararlanımında hız sınırlayıcı basamağı sülfatla konjugasyonudur. Diyetle alınan oral dozun %70'i plazmada resveratrol ve konjugatları biçiminde tepe noktaya ulaşır; yarı ömrünün dokuz saat olduğu belirtilmiştir. Değişmemiş resveratrolün eser miktarda plazmada saptandığı bildirilmiştir (Walle ve ark 2004). Resveratrolün hücre içi reseptörlere bağlanması konusunda bilinenler çok az olmakla birlikte Aril hidrokarbon reseptörüne (AhR) bağlanan digoksinin kompetetif antogonisti olabileceği düşünülmüştür. Resveratrol, AhR'nin nükleusa tranlokasyonunu sağlayabileceği belirtilmiştir. Genistein ve resveratrol gibi fitoöstrojenlerin, insan östrojenleri ile yapısal benzerlikler sergilediği ve östrojen reseptörüne bağlanabildiği gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda da resveratrol ile östrojen reseptörleri arasındaki etkileşim belirlenmiştir (Jannin ve ark 2004). Resveratrolün, östrojenle ilgili genlerin ekspresyonunu indüklemek için estradiol ile birleştiğinde "süperagonist" olarak işlev gösterdiği bildirilmiştir. Son çalışmalarda resveratrolün her iki izomerinin ılımlı konsantrasyonda (>10 μM) sadece süperöstrojen etkinliğine sahip olduğu; daha düşük konsantrasyonlarda (<1 μM) antiöstrojenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca resveratrol meme kanseri hücrelerinde östrojen reseptör agonisti olarakta işlev göstermektedir (Das ve Mavlik 2006).

1.2.4. Organizmadan Atılması

Atılım zamanı plazmada mevcut resveratrol konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Üretilen miktar ile atılan miktar arasında her hangi bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Çok az miktarda glikolize olmayan resveratrolün idrarla atılabileceği belirtilmiştir. Böbrekte temel olarak doğal formunda bulunmasına rağmen, idrarda genellikle konjuge formda bulunduğu bildirilmiştir (Signorelli ve Ghidoni 2005).

1.2.5. Resveratrol ve sinyal ileti yolları

Resveratrol mitogen ile aktive olabilen protein kinaz (MAPK) kaskadını etkileyerek harekete geçirebilir. MAPK'ların mekanizmanın alt basamaklarındaki/sonraki aşamalarındaki (yolun aşağısına doğru) hedeflerinin,

mitojenik pro-enflamatuar enzimler ve nükleer transkripsiyon faktörleri olduğu belirtilmiştir. Resveratrol protein kinaz C (PKC) fosforilasyonunu inhibe ederek mekanizmanın üst basamaklarını/önceki aşamalarını (yolun yukarısına doğru) etkileyebileceği (rol oynayabiliceği) belirtilmiştir. Resveratrol MAPK kaskadını etkin hale getirerek diğer kinazları, fosfoinozitol 3- kinaz (PI3K) fosforilasyonunu ve protein kinaz B'nin (Akt/PKB) fosforilasyonunu inhibe edebilir. Bu etkilemelerle resveratrol vasküler düz kas hücrelerinde p70S6K'nın fosforilasyonunu azaltabilir. Resveratrol ERK1/2/JNK/p38'in tirozin fosforilasyonunu ve vasküler hücrelerde nükleusa geçişini inhibe ederek MAPK kaskadının aşağıya doğru baskılanmasını sağlar. Fosforilasyonun ve sitoplazmadan nükleusa geçişin inhibisyonu vazokonstrüksiyon, anjiyogenez, çoğalma ve farklılaşma ile ilgili genlerin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Okside LDL (oxLDL), ROS ve PKC benzeri çeşitli uyaranlar, nükleer faktör κB (NF-κB) yolunu harekete geçirme potansiyeline sahiptir. NFκB sitoplazmada inhibitör κB (IκB) ile birlikte iken inaktif kompleks olarak bulunur. Uyarana yanıt olarak IκB kinaz bileşiğinin katalitik alt birimi (IKK) IκBα'nın iki serin aminoasidini fosforiller olduğu bildirilmiştir. Bu fosforilasyon 26S proteozom tarafından IκB'nin ubikitine bağlı yıkımını tetikleyip aktive p50/p65 kompleksinin sonrasında nükleusa geçişini sağlamaktadır. p50/p65 kompleksi NF-κB spesifik Kb DNA motiflerine bağlanır ve siklooksijenaz, sitokin gibi hedef genlerin transkripsiyonunu düzenlediği belirtilmiştir. Resveratrol p65'in fosforilasyonunu ve transaktivasyonunu IKK, PKC gibi kinazları engelleyerek baskıladığı bildirilmiştir (Delmas ve ark 2005).

1.2.6. Kardiyoprotektif Etkileri

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda resveratrolün kardiyoprotektif özelliği belirlenmiştir. Kardiyak hasarın akut ve kronik türlerinde, resveratrolün miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarının şiddetini azalttığı gösterilmiştir (Das ve Mavlik 2006).

1.2.7. Vazorelaksasyon

Üzüm ekstraktı, damar duvarında 3',5'–monofosfat (cGMP) miktarını arttırır, hem relaksasyon hem de cGMP'de artış NG-monometil-L-arjinin ya da NG-nitro-L-arjinin (endotelyuma bağlı gevşetici faktörün sentezinin kompetetif inhibitörü)

sayesinde ters çevrilmektedir. Üzümde bulunan ürünler tarafından etkilenen vazorelaksasyona NO-cGMP yolu aracılık etmektedir. Vazorelaksasyonda NO'nun doğrudan rolü resveratrol ile muame edilen pulmoner arter endotel hücre kültüründe nitrik oksit sentaz (NOS) etkinliğinde artış ile belirtilmiştir. Ayrıca resveratrolün NOS üretimini etkileyerek kardiyoprotektif bir etki gösterdiği de belirlenmiştir (Das ve Mavlik 2006). Resveratrolün kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikarsinojenik ve anti-enflamatuvar etkileri in vitro ve in vivo yapılan araştırmalar neticesinde belirtilmiştir. Ratlarda iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarını, resveratrolün kardiyoprotektif etkilerini miyokardiyal nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) parametreleri üzerinde değerlendirmiş ve resveratrolün I/R hasarı uygulanan ratlarda kalbi koruyucu etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu etkinin ise NO üretiminin arttırılması ve antioksidan etkinliği ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalarda resveratrol bakımından zengin olan Akdeniz diyetinin azalmış koroner arter hastalık riski ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (Shen ve ark 2006).

1.2.8. Anti-enflamatuvar etkileri

İskemik kalpte resveratrolün kardiyoprotektif özelliği kalbin anti-enflamatuvar fonksiyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir. Resveratrol ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, resveratrolün miyokardiyal enfarkt büyüklüğünü azalttığı ve iskemi sonrası ventriküler fonksiyonda önemli iyileştirmeler sağladığı bildirilmiştir. Resveratrol verilen grupta proadezif moleküllerde [hücre içi adezyon molekül-1 (sICAM-1), endotelyal lökosit adezyon molekül-1 (sE-Selectin) ve vasküler hücre adezyon molekül -1 (sVCAM-1)] reperfüzyon sırasında önemli derecede azalma saptandığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda NO blokeri nitro-L-arjinin metil esterinin (L–NAME), resveratrolün yararlı etkilerini tamamen ortadan kaldırdığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar resveratrolün anti-enflamatuvar etkisini NO'ya bağlı mekanizma aracılığı ile gerçekleştirdiğini göstermektedir (Das ve Mavlik 2006). Resveratrolün insan koroner arter endotel hücrelerinde TNF-α'nın indüklediği NF-κB aktivasyonunu ve enflamatuar gen ekspresyonunu doza bağlı olarak inhibe ettiği bildirilmektedir (Csiszar ve ark 2006).

1.2.9. ROS Yakalayıcısı Olarak Resveratrol

Resveratrolün kardiyoprotektif etkilerine miyokardiyumdaki katalaz etkinliğini artırma yeteneği de katkı sağlayarak desteklemektedir. Resveratrol in vivo antioksidan olarak işlev görür, kalpte peroksil radikalini yakalayabilir ve bu sayede iskemi-reperfüzyon hasarından kalbi koruyabileceği bildirilmiştir (Moskaug ve ark 2005). Brito ve arkadaşları sığır aortik endotel hücresinde peroksinitritin aracılık ettiği endotel hücre toksisitesinde resveratrolün çeşitli doz ve sürelerinin etkisini hücre canlılığı, okside ve redükte glutatyon seviyeleri üzerinden değerlendirmişlerdir (Paula ve ark 2006). Resveratrolün peroksinitritin indüklediği oksidatif strese karşı hücre içi indirgenmiş glutatyon (GSH) seviyesindeki artış ile kardioprotektif etki sağladığını belirtilmiştir. Glutatyonun hücre yaşamındaki önemi dikkate alındığında, resveratrolün antioksidan özelliği sayesinde kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etki sağlamadığı ve yeni tedavi stratejilerinin gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Wistar albino ırkı sıçanlarda resveratrolün iskemi-reperfüzyon hasarına karşı renal dokuyu koruyucu etkisini radikalleri yakalama ve antioksidan etkinliği ile gösterdiği, GSH seviyesini sabit tutarak renal dokuyu oksidatif strese karşı koruduğu belirtilmiştir (Şener ve ark 2006). Resveratrol'ün in vitro insan umblikal ven endotel hücrelerinde hipoksi-reoksijenasyon hasarına karşı koruyucu etki gösterip göstermediği glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, NO ve nitrotirozin ile değerlendirilmiştir (Altun ve ark 2007). Aynı çalışmada, hipoksi reoksijenasyon ile nitrik oksit konsantrasyonunun, katalaz ve SOD seviyelerinde farklılaşmaya neden olmadığı, buna karşın, resveratrolün 10, 50, 100 μM konsantrasyonlarında ROS oluşumunu azalttığı bildirilmektedir.

1.2.10. Anti-apoptotik Etkisi

Resveratrol kalbi korumak için antiapoptotik sinyali indüklemektedir. Domuz koroner arterlerinde, resveratrol ile kısa süreli muamelede MAPK etkinliği inhibe edilmekte; ERK1/2, Jun N-terminal kinaz (JNK-1) ve p38MAPK'ın fosforilasyonunu azalttığı belirtilmektedir.. Resveratrolün endotelin-1'in aracılık ettiği protein tirozin fosforilasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Resveratrolün iskemik-reperfüze kalpte apoptotik kardiyomiyositleri azalttığı bildirilmiş ve anti-apoptotik etkileri desteklenmiştir (Das ve Maulik 2006). Resveratrol oksidatif stresin etkilemiş olduğu apoptotik hücre ölümüne engel olarak ve H_2O_2'i yakalayarak vasküler oksidatif

strese direnci arttırdığı gösterilmiştir. Resveratrol, sıçan koroner arter endotel hücresinde antioksidan etkilerini, glutatyon peroksidaz-1 ve oksijenaz-1 ekspresyonunu arttırarak göstermektedir. Resveratrol, endotel hücresinin H_2O_2 ile oluşan apoptotik ölümündeki artışa karşı koruyucu etki sağlar ve damarların oksidatif strese karşı direncini artırmaktadır (Ungvari ve Orosz 2007).

Bu çalışmada paklitaksel, resveratrol ve paklitaksel ile birlikte verilen resveratrolün perifer kan ANAE pozitif lenfosit oranları ve lökosit formülüne etkileri ile nötröfil çekirdek loplanmasını nasıl etkilediği ve alyuvar hacimlerinde meydana getirebileceği değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca elde edilen veriler ile antioksidan olarak resveratrol kullanımının etkinliğinin ortaya konması da önemli bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi Araştırma Laboratuvarı'nda yürütüldü. Sunulan çalışma için Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu'ndan gerekli izin (2013/059 tarih ve sayılı karar) alındı.

2.1. Tavşanların Bakım ve Beslenmesi

Çalışmada canlı ağırlıkları 2,5-3 kg arasında değişen 32 adet erkek beyaz Yeni Zelanda ırkı tavşan kullanıldı. Tavşanlar, yem haznesi ve otomatik sulukları bulunan paslanmaz çelik kafeslerde her kafeste tek hayvan kalacak biçimde (Şekil 2.1) sessiz, sıcaklığın 20±2 ºC ve nemin % 60-65 arasında kontrol altında tutulduğu, ayrıca 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ışık döngüsünün sağlandığı bir odada barındırıldılar. Tavşanlar standart pelet yem ve içme suyu ile beslendi.



Şekil 2.1. Hayvanların bakıldığı kafesler

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Hayvanlar, genel sağlık yönünden muayene edildikten sonra canlı ağırlıkları tartılarak, her grupta 8 tane olmak üzere 4 eşit gruba ayrıldı ve çalışma öncesi homojen dağılım sağlandı.

Çizelge 2.1. Hayvanların çalışma başlangıcındaki ağırlıkları ve gruplara göre dağılımı (Kg)

	Kontrol grubu	PAK grubu	RES grubu	PAK+RES grubu
1	2,4	2,5	2,7	2,7
2	2,5	2,5	2,7	2,7
3	2,8	2,4	2,7	2,8
4	2,6	2,3	2,5	2,5
5	2,4	2,8	2,5	2,6
6	2,7	2,7	2,6	2,6
7	2,7	2,6	2,5	2,5
8	2,6	2,4	2,3	2,8
Ort.	2,58	2,52	2,56	2,65

2.3. Tavşanlara İntravenöz Enjeksiyon

Bu uygulamalar için vena auricularis marginalis kullanıldı. İlk olarak hayvan türüne uygun bir şekilde sabitlendi. Ven çevresindeki deri alkol ile dezenfekte edildi. Uygulamaya başlamak için venin kulak üzerindeki başlangıç noktasına bastırıldı ve vena auricularis marginalisin dilate hale gelmesi sağlandı. Ven belirgin bir biçimde görüldüğünde bir elle kulak tutuldu ve diğer elle intraket vene paralel olarak 1-2 cm ilerletildi. Damarda olunduğundan emin olunduktan sonra uygulama yapıldı.

2.4. Antikanser İlaç Uygulaması

Paklitaksel (actavis, Sindaxel 300mg/50ml) günlük olarak 5 mg/kg dozunda 40 ml serum fizyolojik ile birlikte 8 hafta boyunca kulak venasından intravenöz yolla verildi.



Şekil 2.2. Kullanılan Antikanser İlaç (Paklitaksel)

2.5. Resveratrolün Uygulanması

Resveratrol (Sigma–Aldrich) 5 dakikalık infüzyonla, serum fizyolojik içerisinde çözülmüş 4 mg/kg dozunda 8 hafta boyunca kulak venasından intravenöz yolla verildi.

Kontrol grubuna ise kulak venasından intravenöz yolla 40 ml serum fizyolojik verilerek placebo etkisi sağlandı.

2.6. Kan Örneklerinin Alınması ve Boyanması

Paklitaksel ve resveratrol uygulamalarının tamamlandığı 8 haftanın sonunda tüm tavşanlardan kan dokusu örnekleri alınarak her hayvandan 4 adet olacak şekilde frotiler hazırlandı. Frotiler havada kurutulduktan sonra 2'şer adedine alfa-naftil asetat esteraz (ANAE) demonstrasyonu (Knowles ve ark 1978) uygulanarak perifer kan ANAE pozitif lenfosit oranları belirlendi. Diğer 2 frotiye ise May Grünwald-Giemsa boyama metodu (Konuk 1981) uygulanarak lökosit formülü çıkarıldı, nötrofillerin çekirdek lob sayısı ve alyuvarlarda çap ölçümleri yapıldı. Sayımlar ve çap ölçümleri Leica DM 2500 ışık mikroskobuna bağlı Leica DFC 320 kamera aracılığıyla yapıldı.

2.6.1. ANAE Demonstrasyonu

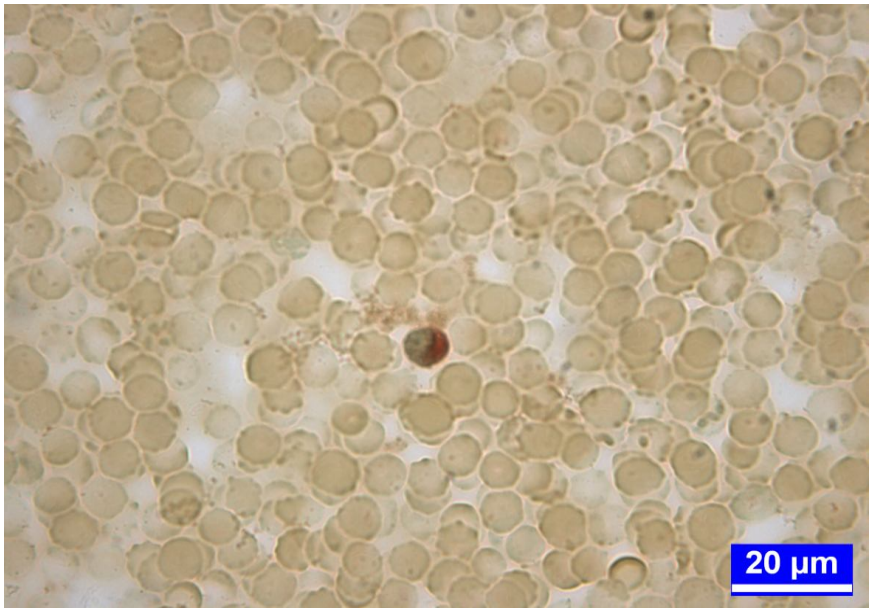
Hazırlanan frotiler havada kurutulduktan sonra gluteraldehit-aceton solüsyonunda 3 dakika süreyle tespit edildi. Fosfat tamponunda hazırlanan hekzozotize pararozanilin solüsyonuna ilave edilen alfa naftil asetat substratı ile oluşturulan çalışma solüsyonu pH 5,8'e ayarlandıktan sonra 2 saat süreyle frotiler bu çalışma solüsyonunda tutuldu. Light green ile çekirdek boyaması yapıldıktan sonra preparatlar entellan yardımıyla kapatılarak mikroskopta incelendi. Değerlendirmede sitoplazmasında 1 veya daha fazla nokta tarzında kahverengi boyanma gösteren lenfositler pozitif olarak değerlendirilirken (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4); diğer lenfositler negatif olarak değerlendirildi (Şekil 2.4). Monositlerin spesifik olmayan bir şekilde tüm sitoplazmayı kaplayacak bir pozitif boyanma özelliği gösterdiği gözlendi (Şekil 2.4). Nötrofillerin negatif boyanma özelliği gösterdiği tespit edildi (Şekil 2.4)

2.6.2. May Grünwald-Giemsa Boyama

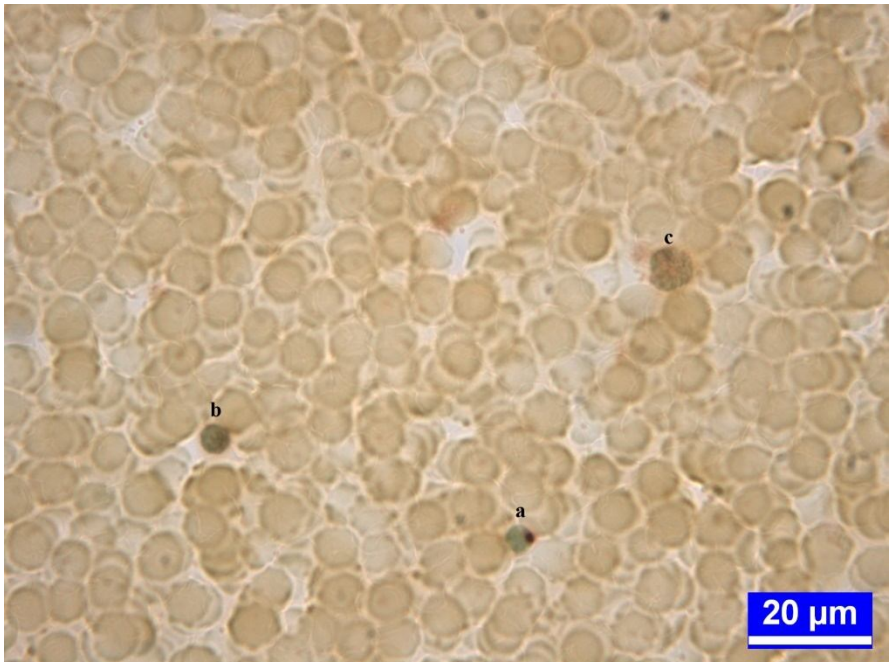
Hazırlanan frotiler havada kurutulduktan sonra 10 dakika süreyle May Grünwald solüsyonunda tutulduktan sonra distile su ile yıkandı. Daha sonra her ml distile suya 1 damla Giemsa olacak şekilde hazırlanan Giemsa solüsyonunda 30 dakika tutulduktan sonra tekrar distile su ile yıkanarak dehidrasyon işlemi uygulandıktan sonra entellan yardımı ile kapatma işlemi uygulanarak preparatlar hazırlandı.

2.7. İstatistiksel Analiz

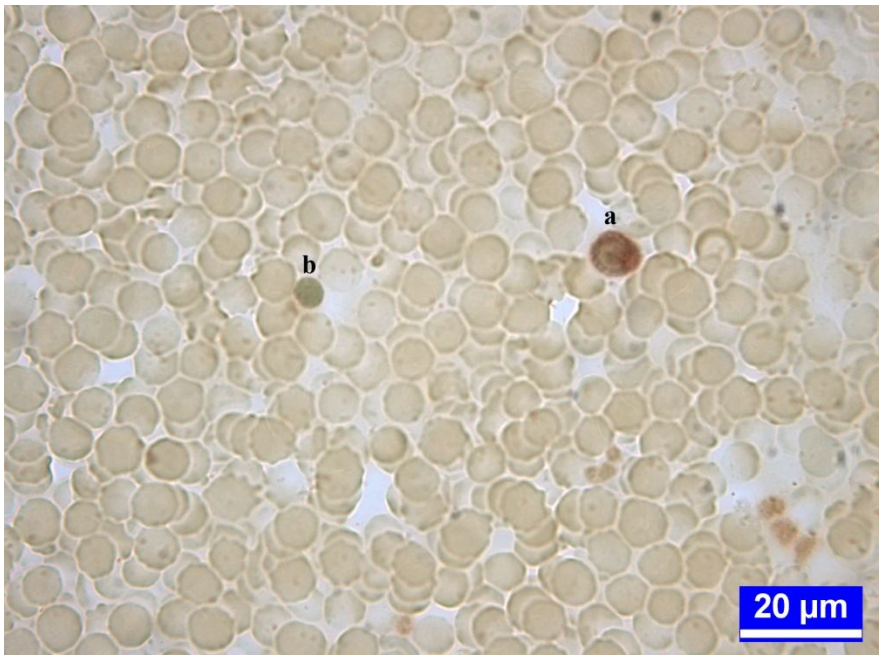
Elde edilen verilere SPSS paket programı yardımıyla varyans analizi yapılarak gruplar arası farklılıklar belirlendi (SPSS 15).



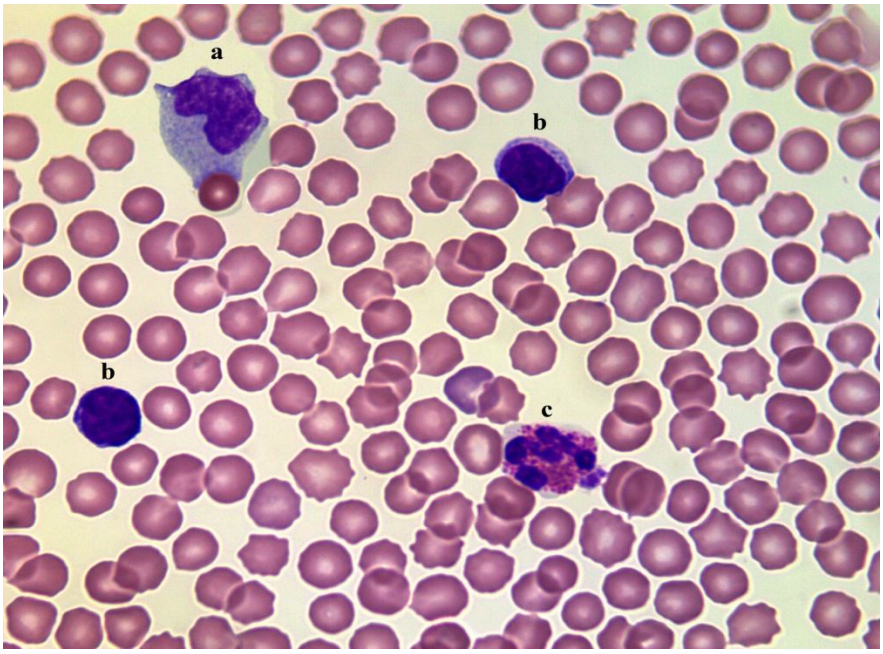
Şekil 2.3. Kontrol grubunda ANAE (+) lenfosit. ANAE demonstrasyonu.



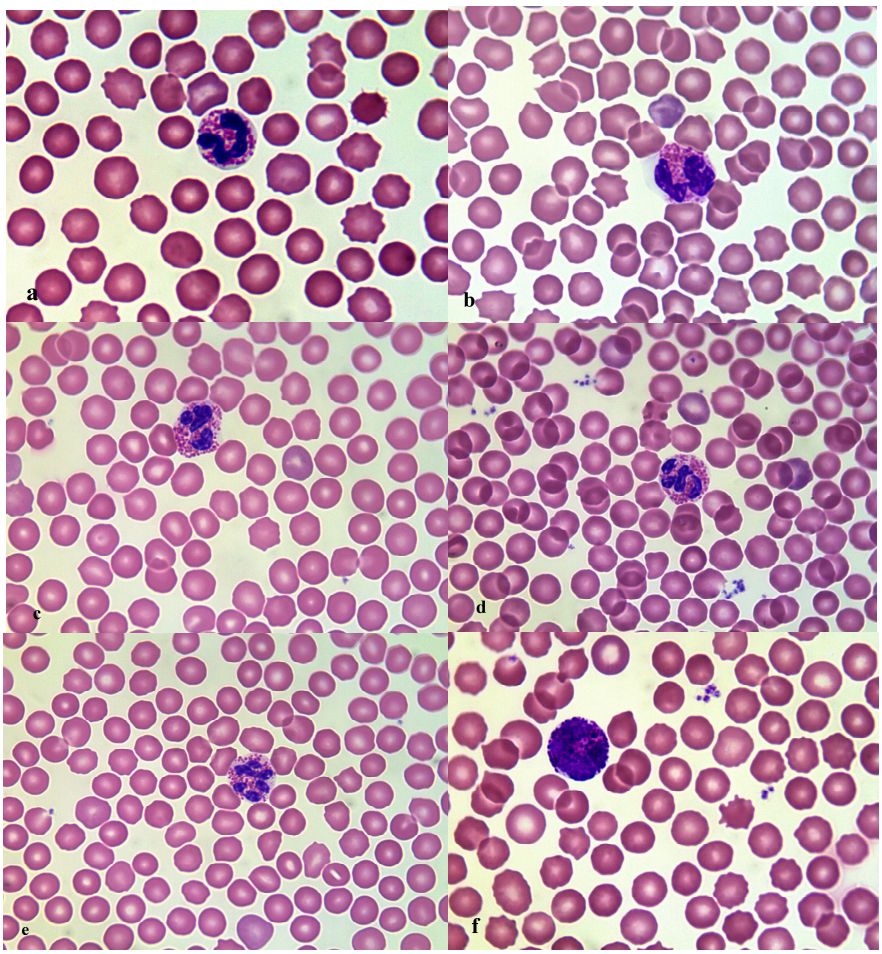
Şekil 2.4. Paklitaksel grubunda ANAE pozitif (a), ANAE negatif (b) lenfositler ve nötrofil (c). ANAE demonstrasyonu.



Şekil 2.5. Resveratrol grubunda ANAE pozitivitesi gösteren monosit (a) ve ANAE negatif (b) lenfosit. ANAE demonstrasyonu.



Şekil 2.6. Kontrol grubundan alınan froti. a) monosit, b) lenfosit, c) nötrofil, x100. MayGrünwald-Giemsa boyaması.



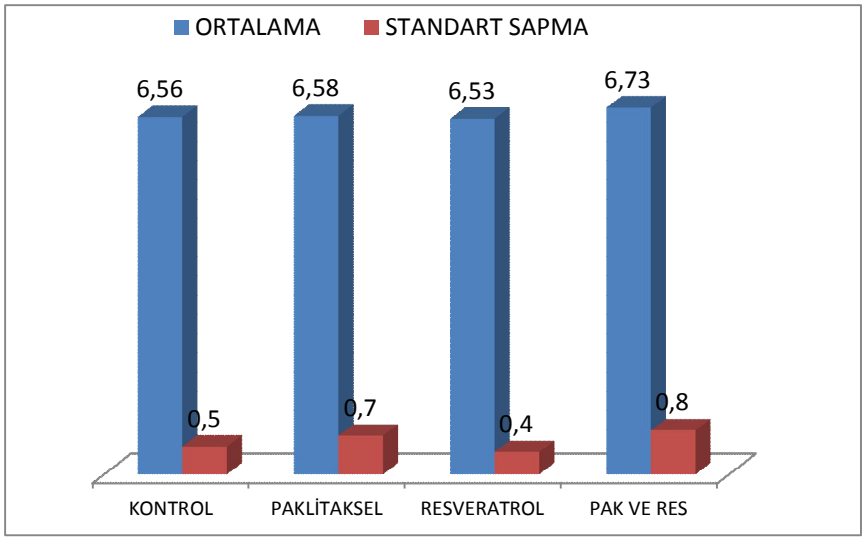
Şekil 2.7. Paklitaksel+resveratrol grubunda farklı loplanma özelliği gösteren nötrofiller (a, çekirdeği tek loblu; b, 2 loblu; c, 3 loblu; d, 4 loblu; e, 5 loblu), ve bazofil (f), x100. May Grünwald-Giemsa boyaması.

3. BULGULAR

Çalışmada eritrosit çapları ile ilgili yapılan ölçüm sonuçları Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3 1 Eritrosit çapı ölçüleri

Gruplar	Alyuvar çapları (µm)
Kontrol	6,56
Paklitaksel	6,58
Resveratrol	6,53
Paklitaksel ve Resveratrol	6,73



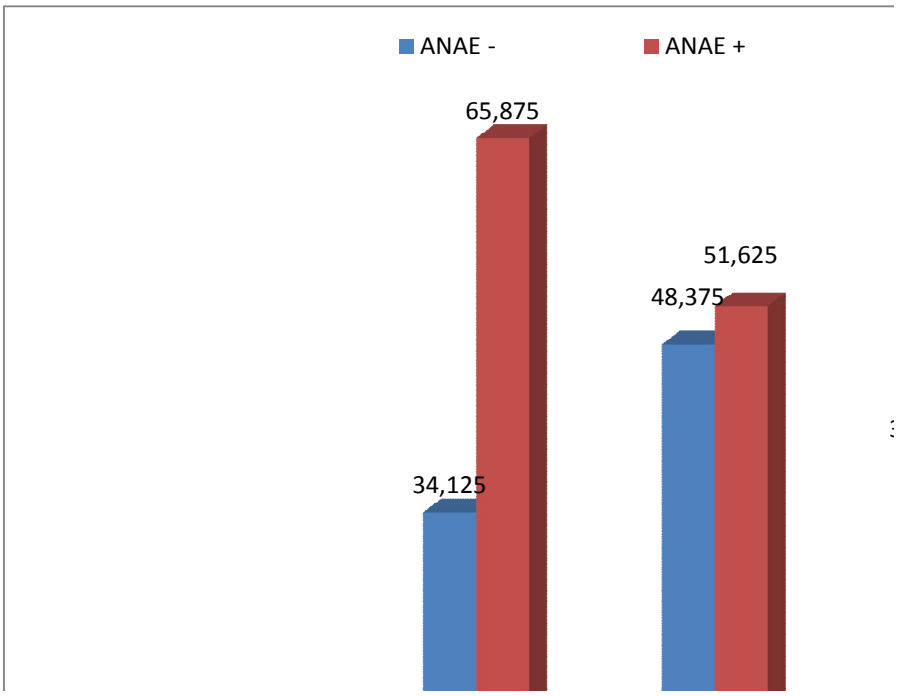
Şekil 3.1. Eritrosit Çapı (n=8) ölçüleri.

Buna göre eritrositlerin ortalama çaplarının kontrol grubunda 6,56; paklitaksel verilen grupta 6,58; resveratrol verilen grupta 6,53; paklitaksel ile resveratrolun birlikte verildiği grupta ise 6,73 µm olduğu ve gruplar arasında farklılığın olmadığı gözlendi.

Çizelge 3. 2. Perifer kan ANAE Pozitif Lenfosit Oranları (%)

Gruplar (n=8)	**ANAE+ lenfosit**
Kontrol	$65,9\pm0,97^{a}$
Paklitaksel	$51,6\pm1,10^{c}$
Resveratrol	$61,1\pm1,02^{b}$
Paklitaksel ve Resveratrol	$58,6\pm0,94^{b}$

a,b,c,d: Farklı harfler gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu gösterir ($p<0.05$)



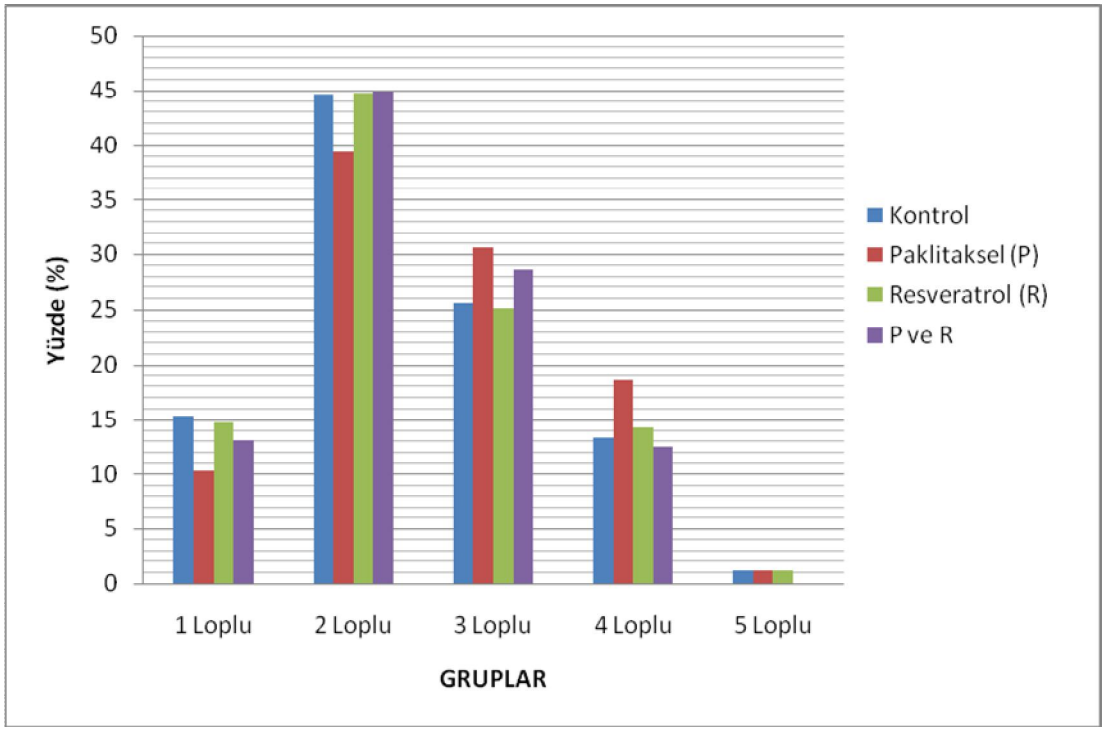
Şekil 3.2. Perifer kan ANAE pozitif ve negatif lenfosit oranları (%).

ANAE demonstrasyonu yapılan frotilerde pozitif ve negatif lenfositlerin oranları Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Buna göre ANAE+ lenfosit oranının kontrol grubunda % 65,875; paklitaksel verilen grupta % 51,625; resveratrol verilen grupta % 61,125; paklitaksel ve resveratrolun birlikte verildiği grupta ise % 58,625 olduğu gözlendi.

Çizelge 3.3. Nötrofil Çekirdek Loblanması (%).

Gruplar	**1 Loplu**	**2 Loplu**	**3 Loplu**	**4 Loplu**	**5 Loplu**
Kontrol	15,25±0,39^{a}	44,62±0,85^{a}	25,62±0,91^{b}	13,37±0,46^{b}	1,12±0,19
Paklitaksel	10,25±0,51^{c}	39,37±0,89^{b}	30,62±0,74^{a}	18,62±0,94^{a}	1,12±0,13
Resveratrol	14,75±0,61^{a}	44,75±0,76^{a}	25,12±0,53^{b}	14,25±0,82^{b}	1,12±0,13
Pak. ve Res.	13,12±0,51^{b}	44,87±0,68^{a}	28,62±0,60^{a}	12,50±0,39^{c}	0.87±0,12

a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu gösterir ($p<0.05$).



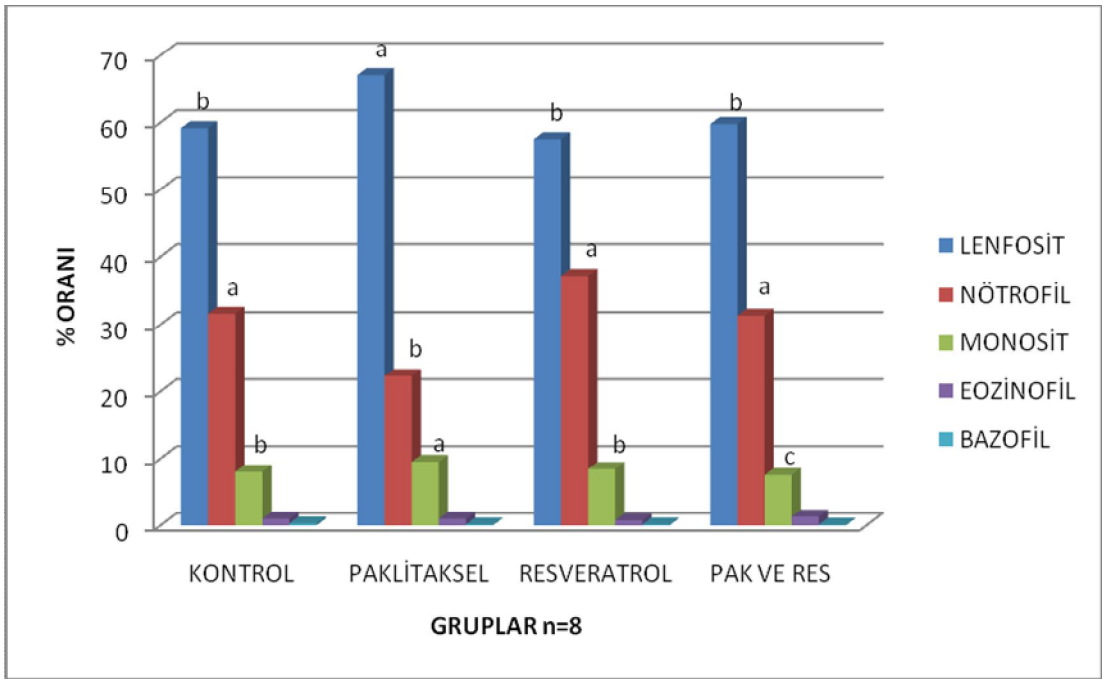
Şekil 3.3. Nötrofil Çekirdek Loblanması (%).

Nötrofil çekirdeklerinin loblanma oranları Şekil 3.3. ve Çizelge 3.3'de gösterilmiştir. Buna göre kontrol grubuna ait hayvanların perifer kan nötrofil çekirdeklerinin; % 15,25'inin tek loblu; % 44,6255'inin iki lob halinde; % 25,625'inin üç loblu; %13,375'inin dört loblu ve %1,125'inin ise beş loblu olduğu gözlendi. Paklitaksel verilen gruptaki dağılım ise; % 10,25'inin tek loblu; % 39,375'ünün iki lob halinde; % 30,625'inin üç loblu; % 18,625'inin dört loblu ve % 1,125'inin ise beş loblu olduğu gözlendi. Resveratrol verilen grupta nötrofil çekirdeklerinin % 14,75'i tek loblu; % 44,75'u iki lob halinde; % 25,125'i üç loblu; % 14,25'i dört loblu ve % 1,125'i ise beş lobluydu. Paklitaksel ve resveratrolun birlikte verildiği grupta ise nötrofil çekirdeklerinin % 13,125'i tek % 44,875'i iki ; %28,625'i üç ; %12,5'i dört ve % 0,875'i ise beş loblu olarak tespit edildi..

Çizelge 3.4. Perifer Kan Lökosit Formülü

Gruplar	Monosit	Nötrofil	Eozinofil	Bazofil	Lenfosit
Kontrol	8,0±0,48^{b}	31.60±1,99^{a}	1,00±0,17^{ab}	0.28±0,08	59.15±1,52^{b}
Paklitaksel (P)	9.5±0,52^{a}	22.31±1,14^{b}	1,00±0,19^{ab}	0.12±0,06	67.06±1,29^{a}
Resveratrol (R)	8.4±0,53^{b}	37.21±4,04^{a}	0.75±0,11^{b}	0.12±0,06	57.53±1,13^{b}
P + R	7.5±0,53^{c}	31.31±1,05^{a}	1.31±0,13^{a}	0.09±0,04	59.75±1,03^{b}

a,b,c,d: farklı harfler gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu gösterir ($p<0.05$).



Şekil 3.4. Perifer Kan Lökosit Formülü (%).

Lökosit formülü ile ilgili yapılan değerlendirme sonuçları Şekil 3.6 ve Şekil 3.7'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubundaki her yüz lökosit hücresinin ortalama 8'i monosit; 31.6'sı nötrofil; 1'i eozinofil; 0.25'i bazofil; 59.15'inin ise lenfosit olduğu gözlendi. Paklitaksel verilen grupta ise; yine her yüz lökositten ortalama 9.5' inin monosit; 22.312'sinin nötrofil; 1'inin eozinofil; 0.125'inin bazofil; 67.065'inin ise lenfosit olduğu tespit edildi. Resveratrol verilen grupta; 8.4 monosit; 33.2 nötrofil; 0.75 eozinofil; 0.125 bazofil; 57.525 lenfosit olarak gözlenirken; paklitaksel ve resveratrolun birlikte verildiği grupta ise; 7.53 monosit; 31.31 nötrofil; 1.3 eozinofil; 0.09 bazofil ve 59.77 lenfosit olarak hesaplandı.

4.TARTIŞMA

Sitotoksik kemoterapi bir çok kanser çeşidinin tedavisinde etkili bir yöntem olmasına rağmen organizmada çok sayıda yan etkilere yol açmaktadır. Kemoterapötik ilaçların meydana getirdiği en önemli yan etkilerden biri de immun sistemin baskılanmasıdır. Bu çalışmada, tavşanlarda antikanser ilaç (paklitaksel) uygulamasının perifer kan ANAE pozitif lenfosit oranı, lökosit formülü, nötrofil çekirdek lob sayısı ve eritrosit çapı üzerine etkileri değerlendirildi. Çalışmada ayrıca oluşan bu etkiler üzerine antioksidan madde (resveratrol) uygulamasının koruyucu etkisi olup olmadığı araştırıldı. Elde edilen veriler, hem daha önce paklitaksel ve resveratrol kullanımı sonucu elde edilen verilerle hem de aynı amaçla kullanılan diğer antikanser ilaç ve antioksidan madde kullanım sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Memelilerde perifer kandaki eritrositlerin çok azı değişik şekil ve çaplarda bulunabilir. Eritrosit çaplarının metabolizmaya göre değişebileceği, farelerde aspirinin eritrosit çapını 6.3 µm'den 7.5-8 µm'ye (Modi ve Merchant 2003) ratlarda ise dekstranın 6.8 µm'den 8-12 µm'ye (Bishop ve ark 2004), arı sütünün 6.9 µm'den 7.8 µm'ye, nar çekirdeğinin 6.9 µm'den 7.4 µm'ye çıkardığı, L-karnitinin ise ratlarda kısmende olsa eritrosit çapını düşürdüğü (Şimşek ve ark 2009) yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmada tavşanlara verilen paklitakselin veya resveratrolun ayrı ayrı ya da ikisinin birlikte verilmesinin eritrosit çapında her hangi bir değişikliğe yol açmadığı gözlendi.

Yapılan bazı çalışmalarda perifer kan ANAE+ lenfosit oranları hayvan türlerinde farklılıklar göstermektedir. Bu oran Ankara tavşanlarında % 68.2 (Özcan 2005), ergin Ankara keçilerinde % 59,3 (Kurtdede ve ark 1995), kangal köpeklerinde yaşa bağlı olarak değişmek üzere %76 ile %89 arasında (Aştı ve ark 1993), develerde %81,3 (Sandıkçı ve ark 2005), deve kuşunda %59,3 (Ergün ve ark 2004), tavuklarda %54,4 (Dönmez ve ark 2002), sülünlerde %33.7 (Sur ve ark 2004), hindilerde %51.8 (Ergün ve ark 2004) olarak bulunmuştur. Bunun yanı sıra yapılan bazı çalışmalarda ise perifer kandaki lenfosit sayısının yaş, cinsiyet ve ırka bağlı olarak değişebileceği bildirilmektedir (Dönmez ve Sur 2008). Daha önceden yapılmış olan Wistar ırkı erişkin dişi ratlarda ANAE+ lenfosit oranının %68 olarak belirlenmesine rağmen, genç Sprague Dawley ırkı dişi ratlarla yapılan bir çalışmada ANAE+ lenfosit oranının %72.8 olduğu saptanmıştır (Şimsek ve ark 2007). Özcan (2005), Ankara

tavşanlarında perifer kan ANAE + lenfosit oranını %68.2 olarak bulurken, yapılan bu çalışmada Yeni Zellanda ırkı tavşanlardaki ANAE+ lenfosit oranı % 65.9 olarak belirlenmiştir. ANAE pozitif lenfosit oranı paklitaksel verilen tavşanlarda %51,6 bulunurken; resveratrol verilen grupta bu oran %61,1, Paklitaksel ile birlikte resveratrol verilen grupta ise %58.6 bulunmuştur. Bu veriler paklitaksel uygulamasının perifer kan ANAE pozitif lenfosit oranını düşürürken; paklitaksel ile birlikte verilen resveratrolün bu etkiyi hemen hemen ortadan kaldırmış olduğunu göstermektedir. Vicari ve ark (2009), farelerde paklitaksel uygulamasının perifer kan CD4 pozitif lenfositlerin sayısında önemli azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Hakim ve ark (1997) göğüs kanseri olan hastalara uyguladıkları paklitakselin uygulamalardan sonraki kısa dönemlerde CD4 pozitif lenfositlerin sayısında önemli düşüşlerin olduğunu göstermişler; uygulamadan 3 ile 6 ay sonraki dönemlerde ise lenfositlerin repopulasyonuna önemli katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Erdemoğlu ve Şener (2000)'in yapmış oldukları çalışmada Paklitaksel ve yarısentetik türevi olan dosetaksel`in Faz I ve II çalışmalarında her iki bileşiğin aynı yan etkilere sahip bulunmuştur. Bunlar, kemik iliği baskılanmasına bağlı olarak gelişen nötropeni, saç dökülmesi, gastrointestinal sistem etkileri ve hipersensitivite reaksiyonlarıdır. Nötropeni her iki ilaç için de doz sınırlayıcı bir toksisitedir. Dosetaksel kısa süreli uygulamada paklitaksel'e göre daha şiddetli nötropeni geliştirmektedir. Bunun sebebi her iki taksol bileşiğinin intrasellüler tutulmalarının ve tubulin formasyonuna olan etkilerinin farklı olmasıdır. Her iki bileşikte stomatitise neden olmakta, özellikle bu komplikasyon uzun süreli uygulamalarda ortaya çıkmaktadır (Rowinsky ve ark 1993, Arbuck ve ark 1993). Forastiere (1995)'in yaptığı bir çalışmada skuamöz hücreli baş ve boyun kanserlerinde kullanılan paklitaksel ve dosetaksel'in her ikisinin de tek başlarına kullanıldıklarında orta düzeyde aktivite gösterdiği, paklitaksel'in 250 mg dozda 24 saatlik infüzyonu ile tedavi edilmemiş hastaların % 35 oranında cevap verdiği ancak şiddetli nötropeni geliştiği bildirilmiştir. 175 mg dozda 3 saatlik uygulamada ise % 20'lik bir iyileşme görülmüş ve nötropeni tespit edilmediği bildirilmiştir. Daha önce hiç tedavi almayan küçük hücreli olmayan akciğer kanserli hastalarda paklitaksel ile % 21-24 oranında tedavi sağlanmış fakat çok şiddetli nötropeni görülmüştür (Eisenhauer 1998). Citron ve ark (2003) ve Schartz ve ark (2005) çalışmalarında siklofosfamid, antrasiklin ve taksan içeren rejimlere bağlı gelişen yan etkilerin sıklığını değerlendirmişlerdir. Bu

çalışmalarda hastalar 2x2 dizaynda, dört kür doksorubisin, paklitaksel, siklofosfamid (TAC) kombinasyonu veya ardışık olarak 4 kür AC ve 4 kür paklitaksel alanlar şeklinde ayrıldıktan sonra her iki grup kendi içinde 3 haftada 1 ya da 2 haftada bir tedavi alanlar şeklinde tekrar ikiye bölünmüştür. Sadece DYT kolunda profilaktik filgrastim (3-10. günler arasın toplam 7 gün, 5μg/kg) kullanımına izin verilmiştir. Her iki çalışmada da DYT grubunda profilaktik G-CSF kullanımı ile nötropeni, FN ve buna bağlı hastaneye yatışlarda anlamlı bir azalma olduğu gösterilmiştir. Gabay ve Tanzi (2010) çalışmalarında; pankreas, over, özafagial, gastrik, meme ve testis solid tümerlerinde paklitaksel veya dosetaksel kemoterapötik rejimleri kullanımının febril nötropeniye neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Demirci ve ark (2014), meme kanserli hastalara paklitaksel ve dosetaksel uygulaması yaparak hastalarda nötrofil sayılarının incelemişler ve belirgin bir febril nötropeni şekillendiğini belirtmişlerdir. Şekillenen febril nötropeninin G-CSF verilerek engellenebileceğini de göstermişlerdir.

Bu çalışmada nötrofil sayısı; kontrol grubunda %31.60, paklitaksel grubunda %22.31, resveratrol grubunda %37.21, Paklitaksel ve Resveratrol grubunda %31.31 olarak gözlendi. Literatür taramalarındaki diğer çalışmalarla (Forastiere 1995, Eisenhauer 1998 Cirton ve ark 2003, Schartz ve ark 2005, Gabay ve Tanzi 2010, Demirci ve ark 2014) paralel olarak bu çalışmada da paklitakselin istatistiksel olarak nötrofil sayısında anlamlı bir düşüşe sebep olduğu gözlendi.

Olgun notröfiller genel olarak 3 ya da 4 lobtan oluşan çekirdeğe sahiptir. Çekirdek loblanmasında meydana gelen değişimler canlının genel durumundaki değişikliklerin göstergesi olarak değerlendirilebilir (Sanchez ve Wang 1999, Hoffman ve ark 2007, Carvalho ve ark 2015). Nakayama ve Yamaguchi (2005) granulositlerdeki çok loblu çekirdek oluşumunu hücre siklusunun S fazındaki gecikmeden kaynaklanacağını bildirmişlerdir. Loblanmanın da farklılaşma esnasında hücre iskeletini oluşturan mikrotubullerin değişime uğramasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Campbell ve ark 1995). Hoeven ve ark (2005) da paklitakselin nötröfillerde mikrotubulleri stabilize ederek tubulin polimerizasyonunu etkilediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen verilere göre nötröfillerin çekirdeklerindeki loblanma paklitaksel verilen grupta diğer gruplara göre sağa doğru kayma göstermektedir. Bu verilere göre mevcut nötrofillerde yaşlanma olduğu ve

nötropenik durumdan dolayı yeni nötrofil yapımının baskılandığı söylenebilir. Paklitaksel ile birlikte resveratrol verilen grubun değerlerinin kontrol grubundan farklı ancak paklitaksel grubuna göre sola kayma göstermesi resveratrolun, paklitakselin oluşturduğu mikrotubul polimerizasyon engelini azalttığının göstergesi olarak değerlendirilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak paklitakselin kan parametrelerinde, diğer çalışmalarla paralel olarak, perifer kan nötrofil sayısını ve ANAE + lenfosit oranını anlamlı biçimde azalttığı; total lenfosit sayısında ise artışa neden olduğu görüldü.

Nötrofil çekirdek loblanmasında ise paklitaksel verilen grupta diğer gruplardan biraz farklı olarak sağa kayma gözlendi. Eritrosit çap ölçümlerinde ise gruplar arasında herhangi bir fark gözlenmedi.

Resveratrol, nötrofil sayısında anlamlı artışa neden oldu. Paklitaksel ve resveratrolun birlikte verildiği grupta resveratrolun paklitakselin sebep olduğu nötropeniyi ortadan kaldırdığı gözlendi.

Resveratrolun ANAE + lenfosit oranını kısmen düşürse de, paklitakselin aynı etkisine karşı ANAE + lenfosit oranını birlikte kullanıldığı grupta anlamlı derecede arttırdığı ve paklitakselin immün sistem üzerindeki baskısını kısmen de olsa kaldırabileceği düşünüldü.

Ayrıca benzer antioksidan maddelerin de aynı koruyucu etkiyi gösterip göstermeyeceğinin tam olarak anlaşılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varıldı. Sunulan tez çalışması ve yapılacak yeni çalışmaların antioksidan maddelerin koruyucu tedavi alanında kullanılmasına yol göstereceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Altun Z, Egrilmez MY, Bicer NY, Genc K, Genc S, Sayin O, Oktay G, Islekel H, Guner GA, 2007. Protective effects of resveratrol against in vitro hypoxia reoxygenation injury in human umbilical vein endothelial cells. FEBS J, 274-362.

Arbuck SG, Canetta R, Onetto N, Christian MC 1993. Current dosage and schedule issues in the development of paclitaxel (Taxol®). Semin Oncol, 20(4), Suppl 3, 31-9.

Aştı RN, Kurtdede N ve Ergün L, 1993. Kangal köpekierinin perifer kan T lenfositleri üzerinde ışık ve elektron mikroskopik çalışmalar. AÜ Vet Fak Derg, 40,4, 363-76.

Bishop JJ, Nance PR, Popel AS, Intaglietta M, Johnson PC, 2004. Relationship between erythrocyte aggregate size and flow rate in skeletal muscle venules. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 286, 113-20.

Campbell MS, Lovell MA, Gorbsky GJ,1995. Stability of nuclear segments in human neutrophils and evidence against a role for microfilaments or microtubules in their genesis during differentiation of HL6O myelocytes. J Leukoc Biol58,6, 659–66

Carvalho LO, Aquino EN, Neves ACD, Fontes W, 2015. The neutrophil nucleus and its role in neutrophilicfunction. J Cell Biochem, 116, 1831-6.

Citron ML, Berry DA, Cirrincione C, et al, 2003. Randomized Trial of Dose-Dense Versus Conventionally Scheduled and Sequential Versus Concurrent Combination Chemotherapy as Postoperative Adjuvant Treatment of Node-Positive Primary Breast Cancer. First Report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741. J Clin Oncol, 21, 1431-9.

Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, et al, 2003. Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. Circulation,108,788-94.

Croom EM, 1995. Taxus for Taxol and Taxoids in Taxol, Science and Applications, Suffness M (Ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 37-70.

Csiszar A, Smith K, Labinskyy N, 2006. Resveratrol attenuates TNF-α induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-κB inhibition Am J Physiol Heart Circ Physiol. 291, 1694–9.

Das DK, Maulik N, 2006. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. Mol Interv, 6, 36-47.

Delmas D, Jannin B, Latruffe N, 2005. Resveratrol: Preventing properties against vascular alterations and ageing. Mol Nutr Food Res, 49, 377-95.

Demirci A, Demirci U, Coşkun U, Demir H, Algın E, Başal F,Yamaç D, 2014. The Tolerability of in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer Comprising Sequential Anthracycline and Taxane Treatment: Single Center Experience. Acta Oncologica Turcica, 47,2, 8-15.

Dönmez HH ve Sur E, 2008. Hematology and enzyme histochemistry of the peripheral blood leucocytes in Rock Partridges (Alectoris graeca). Poult Sci, 87, 56-60.

Dönmez N, Dönmez HH, Keskin E, Çelik İ, 2002. Effects of Zinc Supplementation to Ration on Some Hematological Parameters in Broiler Chicks.Biol Trace Element Res, 87, 125-31.

Eisenhauer EA, Vermorken JB, 1998. The Taxoids Drugs, 55(1), 5-30.

Erdemoğlu N, Şener B, 2000. The antitumor effects of the taxane class compounds. J Fac Pharm, Ankara 29(1),77-90.

Ergün E, Ergün L, Özen A ve Aştı RN, 2004. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes of ostrich (Struthio camelus masaicus). Revue Med Vet, 155,3, 147-50.

Forastiere AA, 1995. Current and future trials of taxol (paclitaxel) in head and neck cancer. Ann Oncol, 5, Suppl, 6, 51-4.

Gabay M, Tanzi M, 2010. Guidelines for the management of febrile neutropenia. Clinical Oncology,1,115-22.

Gautam SC, Xu YX, Dumaguin M, Janakiraman N, Chapman RA, 2000. Resveratrol selectively inhibits leukemia cells: a prospective agent for ex vivo bone marrow purging. Bone Marrow Transplant, 25, 639–45.

Goss P, Stewart AK, Couture F, Klasa R, Gluck S, Kaizer L, 1999. Combined results of two phase II studies of taxol (paclitaxel) in patients with relapsed or refractory lymphomas. Leuk Lymphoma, 34, 295–304.

Hakim FT, Cepeda R, Kaimei S, Mackall CL, McAtee A, Zujewski J, Cowan K, Gress RE, 1997. Constraints on CD4 Recovery Postchemotherapy in Adults: Thymic Insufficiency and Apoptotic Decline of Expanded Peripheral CD4 Cells. Blood, 90, 9, 3789-98.

Henry-Vitrac C, Desmoulie`re A, Girard D, Me´rillon JM, 2006. Transport, deglycosylation and metabolism of trans-piceid by small intestinal epithelial cells. Eur J Nutr, 45, 376–82.

Hermiller JB, Raizner A, Cannon L, Gurbel PA, Kutcher MA, Wong SC, et al, 2005. Outcomes with the polymer- based paclitaxel-eluting TAXUS stent in patients with diabetes mellitus: the TAXUS-IV trial. J Am Coll 216 Türk Kardiyol Dern Arfl Cardiol, 45, 1172-9.

Hoeven BL, Pires NM, Warda HM, Oemrawsingh PV, van Vlijmen BJ, Quax PH, et al, 2005. Drug-eluting stents: results, promises and problems. Int J Cardiol, 99, 9-17.

Hoffmann K, Sperling K, Olins AL, Olins DE. 2007. The granulocyte nucleus and lamin B receptor: Avoiding the ovoid. Chromosoma,116,3, 227–35.

Horwitz SB, 1992. Mechanism of Action of Taxol Trends Pharmacol. Sci, 13(4), 134-6.

Jannin B, Menzel M, Berlot JP, Delmas D, 2004. Transport of resveratrol, a cancer chemopreventive agent, to cellular targets: plasmatic protein binding and cell uptake. Biochem Pharmacol, 68, 1113–8.

Jazirehi AR, Bonavida B, 2004. Resveratrol modifies the expression of apoptotic regulatory proteins and sensitizes non-Hodgkin's lymphoma and multiple myeloma cell lines to paclitaxel-induced apoptosis. Mol Cancer Ther, 3, 71-84.

Kaplan S, Bisleri G, Morgan JA, Cheema FH, Oz MC, 2005. Resveratrol, a Natural Red Wine Polyphenol, Reduces Ischemia-Reperfusion–Induced Spinal Cord Injury. Ann Thorac Surg, 80, 2242–9.

Kiziltepe U, Nilufer N, Turan D, Han U, Ulus AT, Akar F, 2004. Resveratrol, a red winepolyphenol, protects spinal cord from ischemia-reperfusion injury. Society for Vascular Surgery, 32, 138-45.

Knowles DM, Hoffman T,Ferrarini M, Kunkel HG, 1978. The demonstration of acid α-naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes: usefulness as a T-cell marker, Cell Immunol, 35, 1, 112–23.

Konuk T, 1981. Pratik Fizyoloji. A Ü Vet Fak Yayınları, 378, A Ü Basımevi, Ankara.

Kurtdede N, Aştı RN, Altunay H ve Akdeniz C, 1995. Ankara keçilerinin perifer kan T ve B lenfositlerinin alfa naftil asetat esteraz ve yüzey immunglobulin boyama yöntemi ile belirlenmesi. AÜ Vet Fak Derg, 42, 85-90.

Lastra CA, Villegas I, 2007. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. Biochem Soc Trans, 35, 1156-60.

Lee SJ, Schover LR, Partridge AH, Patrizio P, Wallace WH, Hagerty K, 2006. American Society of Clinical Oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients. J Clin Oncol, 24(18), 2917-31.

Li Y, Cao Z, Zhu H, 2006. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stres. Pharmacol Res, 53, 6–15.

Miller HJ, Leong T, Khandekar J, Greip PR, Gertz MA, Kyle RA, 1998. Paclitaxel as the initial treatment of multiple myeloma: an Eastern Cooperative Oncology Group Study. Am J Clin Oncol, 21, 553–6.

Modi DN, Merchant MA, 2003. In vitro effects of aspirin and salicylate on erythrocytes: size and NA+/K+ ATPase activity. Indian J Pharmacol, 35, 27-31.

Moskaug J, Carlsen H, Myhrstad MCV, 2005. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. Am J Clin Nutr, 81(suppl), 277–83.

Nakayama Y, Yamaguchi N,2005. Multi-lobulation of the nucleus in prolonged S phase by nuclear expression of Chk tyrosine kinase. Exp Cell Res,304,570–81.

Nigdikar SV, Wiliams NR, Griffin BA, Howard AN, 1998. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. Am J Clin Nutr, 68, 258-65.

Özcan Z, 2005. Determination of alpha naphthyl acetate esterase activity in the peripheral blood leukocytes in Angora rabbits. Turkish J Vet Anim Sci, 29, 881-4.

Özgül N, Erten Ö, Düzgüner S, Turan T, Kög İ, Boran N, Balta İ, Köse MF, 2012. Paklitaksel /Platin Kombinasyonu ve Alopesi. Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, 9, 239-43.

Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G, Goldberg DM, 1995. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. Clin Chim Acta,235, 207-19.

Paula M Brito, Anabela Mariano, Leonor M Almeida, Teresa CP Dinis, 2006. Resveratrol affords protection against peroxynitrite- mediated endothelial cell death: A role for intracellular glutathione. Chem Biol Interact, 164, 157-66.

Rowinsky EK, 1997. The Development and Clinical Utility of the Taxane Class of Antimicrotubule Chemotherapy Agents. Annu Rev Med, 48, 353-74.

Rowinsky EK, Eisenhauer A, Chaudrhry V, Arbuck SG, Donehower RC, 1993. Clinical toxicities encountered with paclitaxel (Taxol). Semin Oncol, 20(4), Suppl, 3, 1-15.

Sanchez JA, Wangh LJ, 1999. New insights into the mechanisms of nuclear segmentation in human neutrophils. J Cell Biochem, 73, 1-10.

Sandıkçı M, Kum Ş ve Eren Ü, 2005. Develerin (Camelus dromedarius) perifer kan lökositlerinde alfa-naftil asetat esteraz aktivites inin belirlenmesi. AÜ Vet Fak Derg, 52, 13-6.

Schartz J, Domchek SM, Hwang WT, Fox K, 2005. Evaluation of anemia, neutropenia and skin toxicities in standard or dose-dense doxorubicin/cyclophosphamide (AC)–paclitaxel or docetaxel adjuvant chemotherapy in breast cancer. Ann Oncol, 16, 247-52.

Schiff PB, Fant J ve Horwitz SB, 1979. Promotion of microtubule assembly ınvitro by taxol. Nature, 277, 665-7.

Schrader M, Heicappell R, Müler M, Straub B, Miller K, 2001. Impact of chemotherapy on male fertility. Onkologie, 24, 326-30.

Sener G, Tugtepe H, Yuksel M, 2006. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. Arch Med Res, 37, 822–9.

Sgadari C, Toschi E, Palladino, Barillari G, Carlei D, Cereseto A, Ciccolella C, Yarchoan R, Monini P, Stürzl M, Ensoli B, 2000. Mechanism of Paclitaxel Activity in Kaposi's Sarcoma. J Immunol, 165, 509-17.

Shen M, Jia GL, Wang YM, 2006. Cardioprotective effect of resvaratrol pretreatment on myocardial ischemia–reperfusion induced injury in rats. Vascul Pharmacol, 45, 122–6.

Signorelli P, Ghidoni R, 2005. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises J Nutr Biochem. 16, 449–66.

Soma D, Kitayama J, Ishigami H, Kaisaki S, Nagawa H, 2008. Different Tissue Distribution of Paclitaxel with Intravenous and Intraperitoneal Administration. Journal of Surgical Research, 155, 142-6.

Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, Shaughnessy C, Mann JT, et al, 2004. One-year clinical results with the slow-release, polymer-based, paclitaxel- eluting TAXUS stent: the TAXUS-IV trial. Circulation, 109, 1942-7.

Sur E, Çelik İ, Öznurlu Y ve Aydın T, 2004. Genç ve ergin sülünlerin perifer kan lökosit oranları ile lenIositlerin alfa naftil asetat esteraz (ANAE) aktiviteler inin belirlenmesi. Vet Bil Derg 20,3, 87-93.

Şimsek N, Karadeniz A, Karaca T, 2007. Effects of the Spirulina platensis and Panax ginseng oral supplementation on peripheral blood cells in rats. Revue Med Vet, 158, 483-8.

Şimsek N, Karadeniz A, Bayraktaroğlu AG, 2009. Ratlarda periferal kan hücreleri üzerine L-karnitin, arı sütü ve nar çekirdeğinin etkileri. Yayın kodu 2008\68-A Kafkas Üniv Vet Fak Derg 15 (1), 63-9.

Türk G, 2013. Kemoterapötiklerin erkek üreme sistemi üzerindeki yan etkileri ve koruyucu stratejiler. Marmara Pharmaceutical Journal, 17, 73-92.

Uguralp S, Usta U, Mizrak B, 2005. Resveratrol may reduce apoptosis of rat testicular germ cells after experimental testicular torsion. Eur J Pediatr Surg, 15, 333-6.

Ungvari Z, Orosz Z, 2007. Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 292, 2417-24.

Walle T, Hsieh F, Delege M, 2004. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. Drug Metab Dispos, 32, 1377-82.

Wang J, He D, Zhang Q, Han Y, Jin S, Qi F, 2009. Resveratrol protects against Cisplatin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage. Cancer Biother Radiopharm, 24, 675-80.

Wani, MC, Taylor, HL, Wall, ME, Coggon, P ve McPhail, AT, 1971. Plant antitumor agents 6. ısolation and structure of taxol, a novel anti leukemic and antitumor agent from taxus-brevifolia, Journal of The American Chemical Society, 93, 2325-7.

Wenzel E, Germany SV, 2005. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. Mol Nutr Food Res, 49, 472–81.

8. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Elazığ' da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Hazar ilköğretim okulunda, lise öğrenimini Elazığ Lisesi'nde tamamladı. Fırat Üniversitesi Elazığ Sağlık Yüksekokulunu 2007 yılında kazandı ve 2011 yılında mezun oldu. 2011 yılında Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesine atandı. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında 2012 yılında yüksek lisans eğitimine başladı. 2013 yılında evlendi.