

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HÜCRE PENETRASYONU YÜKSEK VE MİTOKONDRI
HEDEFLİ ANTİOKSİDANLARIN KEMOTERAPİ İLE
TETİKLENEN PERİFERİK NÖROPATİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İN VİTRO MODELDE İNCELENMESİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Gülcan VAROL

Trabzon-2022

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HÜCRE PENETRASYONU YÜKSEK VE MİTOKONDİRİ
HEDEFLİ ANTİOKSİDANLARIN KEMOTERAPİ İLE
TETİKLENEN PERİFERİK NÖROPATİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İN VİTRO MODELDE İNCELENMESİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Gülcan VAROL

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Evren FİDAN

Trabzon-2022

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın tüm süreçlerinde bilgisini ve desteğini esirgemeyen, değerli tavsiyeleri ve yönlendirmeleri ile katkıda bulunan tez danışmanı hocam sayın Doç. Dr. Evren FİDAN'a,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde gerekli imkanları sağlayan, planlanması ve yazımında değerli bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren, tüm yardım ve emekleri için saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ahmet AYAR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca akademik bilgi ve tecrübelerini aktararak bilimsel gelişimime katkı sağlayan, yol gösteren değerli hocalarıma, bizi her zaman sabırla dinleyen ve bilgisini esirgemeyen yan dal uzmanlarımıza,

Tezimin yazımında benden desteklerini esirgemeyen çok değerli abim Ahmet SERDAROĞLU ve ablam Nilay TURAN'a, bu süreçte pek çok zorluğu birlikte aştığımız yakın arkadaşlarım Hatice BÜLBÜL, Nida SARAÇOĞLU ve Özlem GÜLER'e,

Eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım tüm kıdemlilerime ve birlikte çalıştığım, pek çok anıyı paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma,

Beni sevgi ve sabırla yetiştiren, hayatım boyunca bana her konuda destek olan yaşamın bana sunduğu en güzel armağanlar olan canım annem, babam, abim ve kardeşime,

En içten duygularla sevgilerimi, saygılarımı ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Gülcan VAROL

Trabzon, 2022

ÖZET

Hücre Penetrasyonu Yüksek ve Mitokondri Hedefli Antioksidanların Kemoterapi ile Tetiklenen Periferik Nöropati Üzerine Etkilerinin *İn Vitro* Modelde İncelenmesi

Amaç: Kemoterapi ile tetiklenen periferik nöropati (KTPN), kanser kemoterapisinin periferik sinir sistemini hasara uğratması sonucu gelişen, hastaların hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyen, sıklıkla duyuşal bozukluklara neden olan, doz kısıtlaması gerektiren yaygın bir nörolojik komplikasyondur. Kemoterapi alan kanser hastalarında tedavinin gecikmesine ve/veya aksamasına yol açan, hastanın hayat kalitesini önemli ölçüde etkileyen bir yan etkidir. Patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamamış olup oksidatif hasar, iyon kanalı aktivite değışiklikleri ve mitokondriyal disfonksiyonun nöropati gelişim sürecinde rol aldığı düşünülmektedir. Önlenmesi ve tedavi edilmesi konusundaki veriler sınırlıdır. Etkinliği kanıtlanmış tek ajan duloksetindir. Bu tez çalışmasında mitokondri hedefli, hücre penetrasyonu yüksek, daha önce bu amaçla test edilmemiş antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun KTPN üzerindeki etkilerinin değeriendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Erişkin sıçanların dorsal kök gangliyonu (DKG) duyuşal nöronlarından elde edilen hücre kültürlerine antineoplastik ajanlar olan sisplatin, paklitaksel, vinkristin ve mitokondri hedefli antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür, Mito-TEMPO farklı doz kombinasyonları halinde ve eş zamanlı uygulanarak nöropati gelişimi (hücre canlılığı üzerinden) incelenmiştir. DKG nöronlarının canlılıkları xCELLigence gerçek zamanlı hücre analizi ile değeriendirilerek nörotoksisite analizleri yapılmıştır. Her bir deney 3 farklı (birbirinden bağımsız hayvandan izole edilen) kültür içeren E-plate ile tekrarlanmıştır.

Bulgular: E-platelerde bulunan kuyucukların hücre indeksi değeri 24 saate kadar 15 dakikalık zaman aralıklarında xCELLigence RTCA sisteminde izlenmiştir. 24. saatin sonunda sadece antineoplastik ajan (sisplatin 0,01 µM, 0,1 µM; paklitaksel 0,01 µM, 1 µM; vinkristin 0,01 µM, 1 µM) eklenen kuyucukların tamamında hücre indeksi değeri 24 saatte kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptanmıştır.

Antineoplastiklerin kullanılan dozlarının tamamının istatistiksel olarak anlamlı nörotoksik etki oluşturduğu görülmüştür (sırasıyla $p:0,00501$, $p:0,00161$, $p:0,00514$, $p:0,02605$, $p:0,00644$, $p:0,00667$). Gelişen nörotoksitenin şiddetinde antineoplastik ajanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Kuyucuklara sisplatin (0,01 μM ve 0,1 μM), paklitaksel (0,01 μM ve 1 μM) ve vinkristin (0,01 μM) varlığında uygulanan daidzein (10 μM , 30 μM ve 100 μM), MnTBAP klorür (60 μM , 100 μM ve 200 μM) ve Mito-TEMPO (30 μM , 100 μM ve 200 μM) antineoplastik ajanların neden olduğu hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. 1 μM vinkristin varlığında kuyucuklara uygulanan daidzein (10 μM , 30 μM ve 100 μM) vinkristinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü engellemede etkili olamamıştır. 1 μM vinkristin sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μM , 100 μM ve 200 μM dozları ve Mito-TEMPO'nun 200 μM dozu kuyucuklardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamış ve vinkristinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır (sırasıyla $p:0,01008$, $p:0,03386$, $p:0,03115$, $p:0,0378$). Dozlar arasında koruyucu etkinlik bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Mito-TEMPO'nun 30 μM ve 100 μM dozları vinkristinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü engelleyememiştir.

Sonuç: Bu çalışmada sisplatin, paklitaksel ve vinkristinin literatürde belirtildiği gibi nörotoksitate gelişimine eden olduğu görülmüştür. DKG nöron kültürü çalışmalarında daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun nöroprotektif etkili olduğunun gösterilmesine rağmen bu çalışmada benzer etkilerin bulunmamasının antineoplastik ajanların nöronlarda oluşturduğu şiddetli nörodejeneratif etkiye bağlı olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bu antioksidanların KTPN üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmaların olmaması da dikkate alındığında bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kemoterapi ile tetiklenen periferik nöropati, dorsal kök gangliyon nöron kültürü, mitokondri hedefli antioksidan

SUMMARY

Investigation of the Effects of High Cell Penetration and Mitochondrial Targeted Antioxidants on Chemotherapy-induced Peripheral Neuropathy *in Vitro* Model

Objective: Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) is a common neurological complication that develops as a result of damage to the peripheral nervous system by cancer chemotherapy, negatively affects the quality of life of patients, often causes sensory disturbances, and requires dose restriction. It is a side effect that causes delay and/or interruption of treatment in cancer patients receiving chemotherapy and significantly affects the patient's quality of life. Its pathophysiology is still not fully understood, and it is thought that oxidative damage, ion channel activity changes and mitochondrial dysfunction play a role in the development of neuropathy. Data on prevention and treatment are limited. The only agent with proven efficacy is duloxetine. In this thesis, it was aimed to evaluate the effects of daidzein, MnTBAP chloride and Mito-TEMPO, which are mitochondria-targeted antioxidants with high cell penetration and have not been tested for this purpose before, on CIPN.

Materials and Methods: Neuropathy development (on cell viability) was investigated by simultaneous application with different doses of antineoplastic agents cisplatin, paclitaxel, vincristine and mitochondria-targeted antioxidants daidzein, MnTBAP chloride, Mito-TEMPO applied in to cell cultures obtained from dorsal root ganglion (DRG) sensory neurons of adult rats. Neurotoxicity analyzes were performed by evaluating the viability of DRG neurons by xCELLigence real-time cell analysis. Each experiment was repeated with an E-plate containing 3 different (isolated from individual animals) cultures.

Results: Cell index values of the wells in the e-plates were monitored in the xCELLigence RTCA system at 15-minute intervals up to 24 hours. At the end of the 24th hour, there was a statistically significant decrease in cell index values in all wells in which only antineoplastic agent (cisplatin 0.01 μ M, 0.1 μ M; paclitaxel 0.01 μ M, 1 μ M; vincristine 0.01 μ M, 1 μ M) was added. It was observed that all doses of antineoplastics used had a statistically significant neurotoxic effect (p :0.0050, p :0.00161, p :0.00514, p :0.02605, p :0.00644, p :0.00667, respectively). There was no

significant difference between the antineoplastic agents in the severity of the developing neurotoxicity. Daidzein (10 μ M, 30 μ M and 100 μ M), MnTBAP chloride (60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M), and Mito-TEMPO (30 μ M, 100 μ M and 200 μ M) applied to the wells in the presence of cisplatin (0.01 μ M and 0.1 μ M), paclitaxel (0.01 μ M and 1 μ M), and vincristine (0.01 μ M) failed to significantly prevent cell index reduction caused by antineoplastic agents. Daidzein (10 μ M, 30 μ M, and 100 μ M) applied to the wells in the presence of 1 μ M vincristine was not effective in reducing vincristine-induced cell index reduction. 60 μ M, 100 μ M and 200 μ M doses of MnTBAP chloride and 200 μ M doses of Mito-TEMPO added to the wells after 1 μ M vincristine increased the cell index values in the wells and statistically significantly reduced the cell index decrease caused by vincristine (p :0,01008, p :0.03386, p :0.03115, p :0.0378, respectively). There was no statistically significant difference between the doses in terms of protective efficacy. The 30 μ M and 100 μ M doses of Mito-TEMPO could not prevent vincristine-induced cell index reduction.

Conclusion: In this study, it was observed that cisplatin, paclitaxel and vincristine were associated with the development of neurotoxicity as stated in the literature. Although daidzein, MnTBAP chloride and Mito-TEMPO were shown to have neuroprotective effects in DRG neuron culture studies, it was thought that the lack of similar effects in this study may be due to the severe neurodegenerative effects of antineoplastic agents on neurons. Considering the lack of studies evaluating the effects of these antioxidants on CIPN in the literature, more studies are needed on this subject.

Keywords: Chemotherapy induced peripheral neuropathy, dorsal root ganglion neuron culture, mitochondria targeted antioxidant

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	1
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser.....	3
2.1.1. Risk Faktörleri ve Korunma	5
2.1.2. Tedavi Yaklaşımları.....	7
2.1.3. Kemoterapi Yan Etkileri.....	9
2.2. Kemoterapi ile Tetiklenen Periferik Nöropati.....	11
2.2.1. Patofizyoloji.....	13
2.2.2. Platin Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi	16
2.2.3. Taksan Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi	18
2.2.4. Vinka Alkaloid Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi	19
2.2.5. Semptom ve Tanı.....	19
2.2.6. Tedavi	21
2.3. Kemoterapi ile Tetiklenen Periferik Nöropati Modelleri	22
2.4. xCELLigence Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (RTCA) Sistemi.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Malzemeler.....	27
3.2. Hayvanlar	27

3.3. Hücre Kültürü Hazırlanması	27
3.4. Kimyasalların Hazırlanması	30
3.5. xCELLigence Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (RTCA) Sistemi ile Nörotoksisite Analizi	31
3.6. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	58
7. KAYNAKÇA	60



KISALTMALAR LİSTESİ

KTPN	: Kemoterapi İle Tetiklenen Periferik Nöropati
DKG	: Dorsal Kök Gangliyonu
PSS	: Periferik Sinir Sistemi
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
PN	: Periferik Nöropati
RTCA	: Gerçek Zamanlı Hücre Analizi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HPV	: İnsan Papilloma Virüsü
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
ATP	: Adenozin Trifosfat
ROS	: Reaktif Oksijen Radikali
NaV	: Sodyum Kanalı
KV	: Potasyum Kanalı
TCaV	: T Tipi Kalsiyum Kanalı
TRP	: Geçici Reseptör Potansiyeli
IL-1α	: İnterlökin-1 Alfa
IL-1β	: İnterlökin-1 Beta
IL-6	: İnterlökin-6
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
INF-γ	: İnterferon Gama
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
IL-4	: İnterlökin-4
IL-10	: İnterlökin-10
TG	: Trigeminal Gangliyon
CisTPN	: Sisplatinle Tetiklenen Periferik Nöropati
OTPN	: Oksaliplatinle Tetiklenen Periferik Nöropati

NCI-CTCAE	: Ulusal Kanser Enstitüsü Olumsuz Olaylar İçin Ortak Terminoloji Kriterleri
TNS	: Toplam Nöropati Skoru
CI	: Hücre İndeksi
NGF	: Sinir Büyüme Faktörü
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DMF	: Dimetilformamid
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PDL	: Poli-D-Lizin
NBA	: Nörobazal A

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Kemoterapötik Ajan Sınıflandırması	9
Tablo 2. Sık Kullanılan Kemoterapötiklerin Nöropati Prevalansı	12
Tablo 3. Bazı Antineoplastik Ajanlarla Tetiklenen Periferik Nöropatinin Tipi Ve Mekanizması	13
Tablo 4. Deneyin Tasarımı	32



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. (A) Her İki Cinsiyet, (B) Erkekler ve (C) Kadınlar için 2020 Yılı Kanser Vaka ve Ölümünün Tüm Dünyadaki Dağılımı.....	4
Şekil 2. Türkiye’de Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları	5
Şekil 3. Türkiye’de Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları	5
Şekil 4. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Periferik Nöropati Mekanizması	16
Şekil 5. KTPN’nin Klinik Özellikleri	20
Şekil 6. xCELLigence RTCA cihazı ve E-plate	25
Şekil 7. Biyogüvenlik Kabini.....	28
Şekil 8. Sprague Dawley Sıçanlarının Servikal, Torakal ve Lomber Vertebraları	28
Şekil 9. Sprague Dawley Sıçanların Kolumna Vertebralisten Diseke Edilmiş Dorsal Kök Gangliyonları, (Sağ: Diseksiyon Mikroskobundaki Görünümleri).....	29
Şekil 10. Ayrıştırılmış DKG Nöronlarının Işık Mikroskobundaki Görünümleri (4X, Işık Mikroskobu).....	29
Şekil 11. Hücre Süspansiyonu Eklenmiş 16 Kuyucuklu E-Plate.....	30
Şekil 12. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Antineoplastiklerin Etkileri..	34
Şekil 13. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	35
Şekil 14. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi .	36
Şekil 15. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	37
Şekil 16. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	38
Şekil 17. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi .	39
Şekil 18. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	40
Şekil 19. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	41

Şekil 20. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi .	42
Şekil 21. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	43
Şekil 22. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve Daidzeinin ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	44
Şekil 23. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi .	45
Şekil 24. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	46
Şekil 25. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Vinkristinin (0,01 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi	47

1. GİRİŞ

Periferik sinir sistemi (PSS), merkezi sinir sistemi (MSS) ile vücudun tamamı arasında iki yönlü sinyal/bilgi iletimini sağlar. Periferik nöropati (PN), periferik sinir hasarı sonucu gelişir. PN, PSS'nin bütün kısımlarını etkilemekle birlikte duyuusal nöronlar daha erken ve daha şiddetli düzeyde etkilenirler. Vücudun pek çok yerinde, özellikle el ve ayaklarda güç kaybı, uyuşma ve ağrıya yol açar. Hastalarda; ağrı, parestezi, duyu kaybı ve yürümede dengesizlik gibi semptomlar ayrı ayrı veya kombinasyon halinde ortaya çıkabilirler (1, 2).

KTPN, kanser kemoterapisinin PSS'yi hasara uğratması sonucu gelişen, hastaların hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyen, sıklıkla duyuusal bozukluklara neden olan, doz kısıtlaması gerektiren yaygın bir nörolojik komplikasyondur (1, 3, 4). İlk olarak 1960'ların sonlarında vinkristin alan hastalarda tanımlanan KTPN, kemoterapi alan kanser hastalarında tedavinin gecikmesine ve/veya aksamasına yol açan, hastanın hayat kalitesini önemli ölçüde etkileyen bir yan etkidir (2). Dünya çapında kanser tedavisi alan tüm hastalar düşünüldüğünde büyük bir popülasyonu etkilemektedir (1).

PN; periferik sinirlerde travma, iskemi, metabolik bozukluklar veya aralarında kemoterapötik ilaçların da yer aldığı çeşitli toksinlerin alımı sonucunda gelişebilir (5). Sisplatin, paklitaksel, bevasizumab, gemitabin, oksaliplatin, vinkrisin, etoposid, tenoposid, talidomid ve interferonlar yaygın olarak periferik nöropatiye yol açtığı rapor edilen kansere yönelik tedavilerdir (1). KTPN'nin patofizyolojisi halen tam olarak aydınlatılamamış olup oksidatif hasar, iyon kanalı aktivite değişiklikleri ve mitokondriyal disfonksiyonun nöropati gelişim sürecinde rol aldığı düşünülmektedir (5, 6). Mitokondriyal disfonksiyon, KTPN'ye aracılık eden mekanizmalar arasında kısmen yeni odaklanılan bir yön olup; bu yaklaşım umut vaat etmektedir (6, 7).

KTPN'nin önlenmesi ve tedavi edilmesi konusundaki veriler sınırlıdır. Bu konuda etkinliği kanıtlanmış tek ajan duloksetindir. PN'nin semptomatik tedavisinde kullanılan ajanlardan trisiklik antidepresanlar, gabapentin, pregabalin, amitriptilin, ketamin de KTPN ağrısının tedavisinde kullanılabilir, ancak etkileri sınırlıdır (2, 8).

İnsan PSS, araştırma yapmak için kolay ulaşılabilir yapı ve konuma sahip değildir. PSS'nin gelişimi, nöron tipleri ve hastalıkları hakkında mevcut bilgi birikiminin çok önemli bir kısmı deneysel modeller kullanarak elde edilmiştir (9). KTPN'nin etiyolojisi ve klinik tablosunu taklit eden çeşitli in vivo hayvan modelleri ve in vitro duyuşal nöron modelleri başarı ile geliştirilmiş ve araştırmalarda kullanılmaktadır (10–15). Bununla birlikte, in vivo hayvan deneyleri ve in vitro hücreşel modeller genetik farklılıklar nedeniyle insanda geçerli bilgiler ortaya koymakta yetersizdir. Yine de deneysel prosedürlerin uygulanabilme ve tekrarlanabilme imkânı bu modelleri vazgeçilmez kılmaktadır (9).

DKG kemoterapötiklerin tetiklediğı nörotoksisitenin en önemli hedeflerinden biridir (16). Nöronal hücre kültürleri; periferik nöronların nörobiyolojisi, sinir uzantılarının gelişimi, sinapsların oluşumu, özellikleri ve profilleri, nörotransmitterlerin salıverilmeleri ve etkileri, nörotrofik faktör trafiğı ve duyuşal sinyalleşmenin esasları hakkında bilimsel soruların cevaplanmasına imkan veren güçlü bir araç olarak hizmet etmekte ve aynı zamanda periferik nöropati çalışmaları için hücreşel model olarak kabul edilmektedirler (9). Bütün yönleriyle ideal bir model yakalanmamış olsa da; DKG sinir hücre kültürlerinde nörotoksisite analizi KTPN için deneysel model olarak kabul edilmekte ve bu konudaki bilimsel araştırmalarda kullanılmaktadır (17).

Bu çalışmada mitokondri hedefli, hücre penetrasyonu yüksek, daha önce bu amaçla test edilmemiş antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun KTPN üzerindeki etkilerinin değeriendirilmesi amaçlanmıştır. Erişkin sıçanların DKG duyuşal nöronlarından elde edilen hücre kültürlerine kanser tedavisinde kullanılan sisplatin, paklitaksel, vinkristin ve mitokondri hedefli antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür, Mito-TEMPO farklı doz kombinasyonları halinde ve eş zamanlı uygulanarak nöropati gelişimi (hücre canlılığı üzerinden) incelenmiştir. DKG nöronlarının canlılıkları xCELLigence gerçek zamanlı hücre analizi (RTCA) sistemi ile değeriendirilerek nörotoksisite analizleri yapılmıştır. Çalışmada deneysel model kullanılmış olup, konu hakkında kanıt piramidi hiyerarşisinin alt kısımlarında yer alan bilgiler elde edilmesi hedeflenmiştir, yani elde edilen bilgiler direkt klinik kullanım potansiyeline sahip değildir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

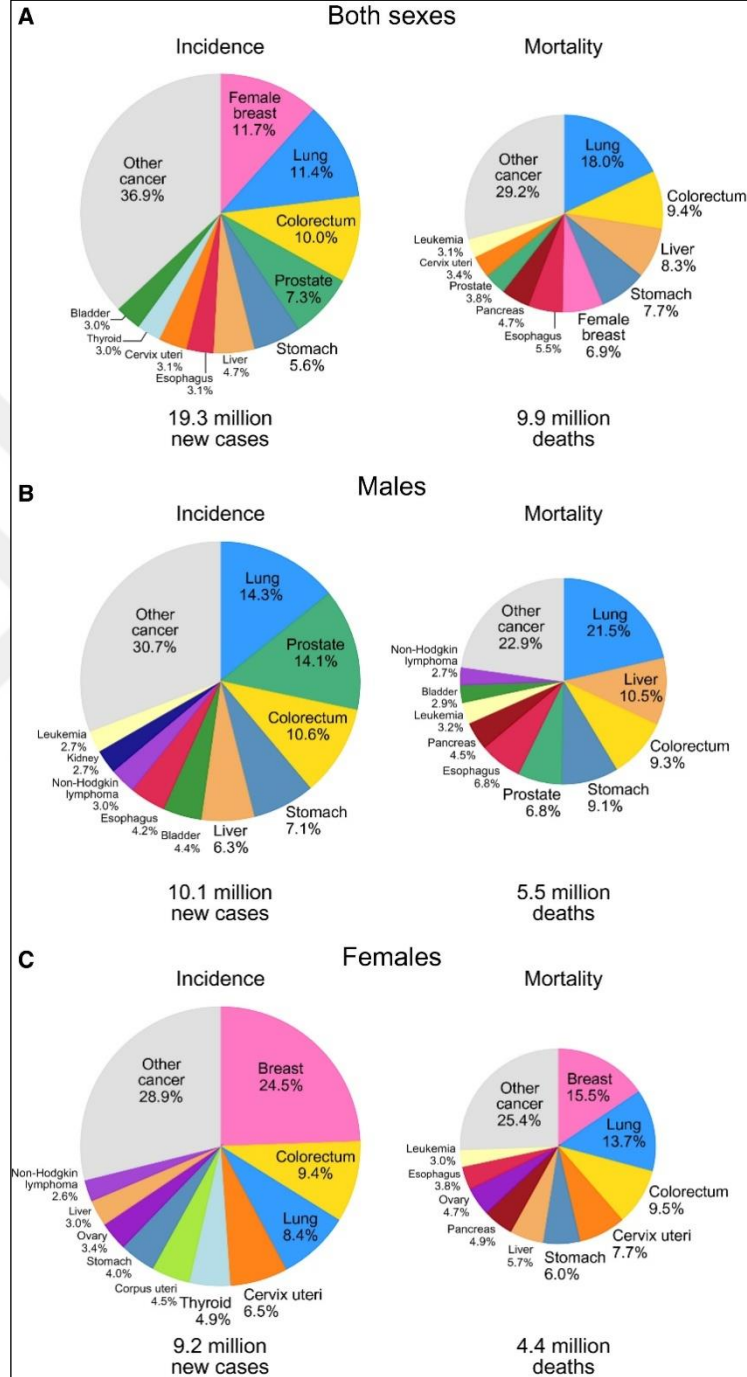
Kanser; gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde her yıl binlerce insanı etkileyen, sayısız genetik bozukluğun eşlik ettiği, komplike, kronik, dejeneratif bir hastalıktır ve ayrıca önemli bir halk sağlığı sorunudur (18). Dünyada ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Dünya genelinde yaklaşık her 6 ölümden, ülkemizde ise her 5 ölümden biri kanser nedeniyle gerçekleşmektedir (19, 20). 2016 yılında yapılan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) değerlendirmesine göre kanser hem erkeklerde hem de kadınlarda morbidite gelişiminde ilk sırada yer almaktadır. İkinci ve üçüncü sırada iskemik kalp hastalığı ve inme bulunmaktadır. Erkeklerde kansere bağlı morbidite oranı kadınlardan fazladır (21).

Küresel Kanser Gözlemevi'nin yayınladığı GLOBOCAN 2020 verilerine göre 2020 yılında 19,3 milyon yeni tanı alan kanser vakası ve yaklaşık 10 milyon kanser nedeni ölüm olduğu gösterilmiştir. Dünya çapında tüm popülasyonlarda kadın meme kanseri en sık tanı koyulan kanserdir (toplam vakaların %11,7'si). Bunu sırasıyla akciğer (%11,4), kolorektal (%10), prostat (%7,3) ve mide (%5,6) kanserleri izlemektedir. Kanser ölümlerinin en önemli nedeni ise akciğer kanseridir (toplam kanser ölümlerinin %18'i). Bunu sırasıyla kolorektal (%9,4), karaciğer (%8,3), mide (%7,7) ve kadın meme (%6,9) kanserleri izlemektedir (22).

Kanser insidansı erkeklerde kadınlardan %19 daha fazladır. Erkeklerde en sık görülen kanserler sırasıyla akciğer (%14,3), prostat (%14,1) ve kolorektal (%10,6) kanserlerdir. Kadınlarda meme kanseri (%24,5) en sık görülen kanserdir. Kanser mortalitesi erkeklerde kadınlara göre %43 daha yüksektir (sırasıyla 100.000'de 120,8 ve 84,2). Erkeklerde akciğer kanseri ve kadınlarda meme kanseri kanser ölümlerinin önde gelen nedenleridir (Şekil 1) (22).

Ülkemizde 2017 yılı kanser istatistiklerine bakıldığında yaklaşık 180.288 yeni kanser vakası, 81.527 kanser nedeni ölüm olduğu görülmektedir. En sık görülen ilk 5 kanser türü dünya geneli ile benzerlik göstermektedir. Erkeklerde sırasıyla akciğer, prostat, kolorektal, mesane ve mide kanserleri en sık görülen kanserler olup erkeklerdeki tüm kanserlerin %58,2'sini oluşturmaktadır. Kadınlarda ise sırasıyla

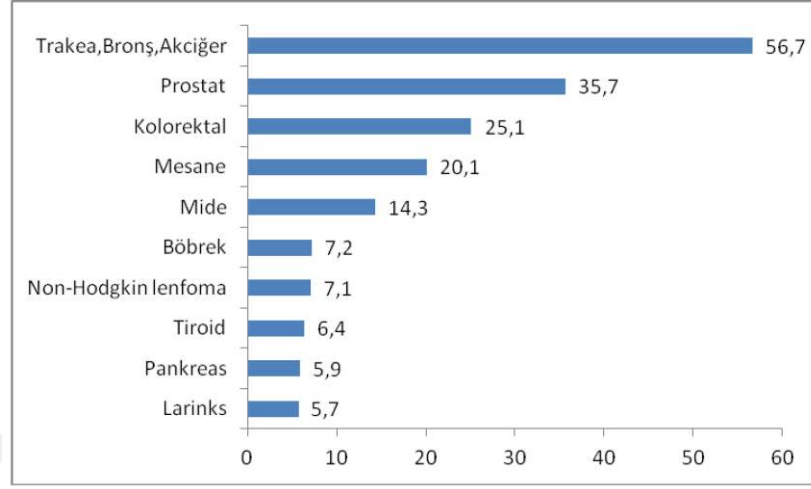
meme, tiroid, kolorektal, akciğer, uterin korpus kanseri en sık görülen kanserler olup tüm kadın kanserlerinin %57,1'ini oluşturduğu tahmin edilmektedir (Şekil 2, Şekil 3) (20).



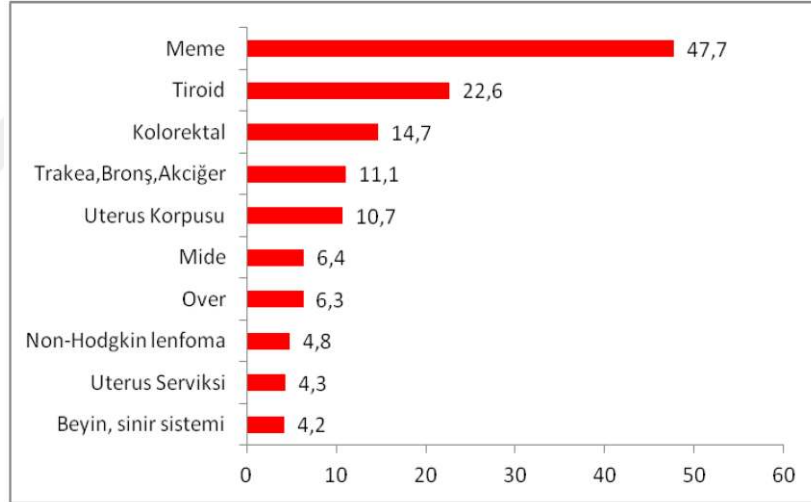
Şekil 1. (A) Her İki Cinsiyet, (B) Erkekler ve (C) Kadınlar için 2020 Yılı Kanser Vaka ve Ölümünün Tüm Dünyadaki Dağılımı (22)

GLOBOCAN 2020 verileri dikkate alındığında, kanser vakalarında %47'lik bir artışla 2040 yılında dünya genelinde 28,4 milyon yeni kanser vakası olacağı tahmin

edilmektedir. Vakaların büyük kısmının düşük ve orta gelirli ülkelerde olması beklenmektedir (22).



Şekil 2. Türkiye’de Erkeklerde En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (20)



Şekil 3. Türkiye’de Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanserin Yaşa Göre Standardize Edilmiş Hızları (20)

2.1.1. Risk Faktörleri ve Korunma

Kanser, hücre içinde genetik değişikliğe yol açan moleküler ve kromozomal bozuklukların birikmesiyle oluşan hücre fonksiyon bozukluğunun sonucudur. Gelişiminde genetik yatkınlık, çevresel faktörler ve bireye özgü faktörler rol oynamaktadır (23). Hücrelerin bölünmesi ve aktivitelerinin düzenlenmesi genlerin kontrolü altında olduğundan kanser temel olarak genlerle ilişkili bir hastalıktır (24). Hücre canlılığı ve çoğalmasında görevli genlerde meydana gelen birikici hasarlar ve

hücre onarım mekanizmalarındaki bozulmalar kanser oluşumuna yol açar (25). Gen hasarı meydana gelen hücreler anormal ve hızlı büyüme, çevre dokulara ve vücuttaki diğer organlara yayılım davranışı gösterirler (19).

Dünyada meydana gelen sosyoekonomik gelişmelerin etkisiyle risk faktörlerinin dağılımı ve yaygınlığının değişmesi, nüfusun yaşlanması ve artışı ile kanser insidansı ve mortalite yükü hızla artmaktadır (22, 26). Tütün kullanımı, obezite, sağlıksız beslenme, yetersiz fiziksel aktivite ve alkol tüketimi kanser ölümlerinin üçte birinde risk faktörüdür (26).

Kanser gelişiminde %5-10 kalıtsal, %90-95 çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır (23, 26). Çevresel faktörler; fiziksel kanserojenler (ultraviyole ve iyonize radyasyon gibi), kimyasal kanserojenler (tütün dumanı, asbest, arsenik, silika, aflatoksin gibi) ve biyolojik kanserojenler (virüs/bakteri enfeksiyonları veya parazit enfestasyonları gibi) olarak üç gruba ayrılabilir. Tütün kullanımı tüm dünyada kanser etiolojisinde rol oynayan en önemli risk faktörüdür ve kanser ölümlerinin %22'sinden sorumludur (19, 26). Akciğer, burun boşluğu, larinks, ağız boşluğu, farinks, özefagus, mide, karaciğer, pankreas, kolorektal, over, endometrium, serviks, böbrek ve mesane kanserleri ile miyeloid lösemi etiolojisinde tütün kullanımı bulunmaktadır. Fazla miktarda alkol kullanımı da kanser gelişiminde önemli bir risk faktörüdür (26).

Beslenmenin kanser gelişimindeki kesin rolü bilinmemekle birlikte işlenmiş et ürünlerinin ve fazla miktarda kırmızı et tüketiminin kolorektal kanser gelişimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (27). Obezitenin özefagus (adenokarsinom), pankreas, kolorektum, postmenopozal meme kanseri, endometriyum ve böbrek kanseri gelişiminde rolü olduğu düşünülmektedir (26).

Dünyada 2018 yılında kanser tanısı konulan vakaların %13'ünün gelişiminde biyolojik kanserojenler rol oynamıştır. Biyolojik kanserojenler daha çok düşük ve orta gelirli ülkelerde risk faktörüdür (19). Helikobakter pylori, insan immün yetmezlik virüsü (HIV), T-hücre lenfotropik virüsü, insan papilloma virüsü (HPV), Hepatit B virüsü, Hepatit C virüsü, Epstein-Barr virüsü, Schistosoma Haematobium, Opisthorchis Viverrin biyolojik kanserojen olarak kabul edilmiş başlıca enfeksiyöz etkenlerdir (26). Hepatit B ve C virüsleri hepatosellüler kanser, bazı HPV türleri ve HIV enfeksiyonu serviks kanseri gelişme riskini artırır (19, 22).

Günümüzde kanser önleme programları ve risk faktörlerinin kontrolü ile kanser gelişimi %30-50 oranında engellenebilmektedir. Obezitenin önlenmesi, meyve ve sebze ağırlıklı sağlıklı diyet, düzenli fiziksel aktivite, tütün ve alkol kullanımının önlenmesi, iyonize ve non-iyonize radyasyondan kaçınılması, hava kirliliğine maruziyetin azaltılması, vitamin ve mineral desteği sağlanması, kırmızı et ve fast food tüketiminin sınırlandırılması, stres kontrolü, HPV ve Hepatit B için risk gruplarının aşılması ile kanser riski azaltılabilir (19). Ayrıca meme, serviks, prostat ve kolorektal kanserlerinde olduğu gibi uygun tarama programları ile kanserlerin erken teşhis ve tedavisi mümkündür (24, 26).

2.1.2. Tedavi Yaklaşımları

Kanserlerde tedavi stratejisi kanserin türüne, evresine, hastaların komorbiditelerine göre değişmektedir. Doğru teşhis, uygun ve etkili tedavi için şarttır. Kanseri tedavi etmek ve beklenen yaşam süresini uzatmak tedavide temel amaçtır. Hastalığın son evresinde, tedavinin mümkün olmadığı hastalarda yaşam kalitesinin iyileştirilmesi hedeflenmektedir (19). Tedavide kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi en sık başvurulan yöntemler olmakla birlikte immünoterapi, hormonoterapi, hedefe yönelik tedavi ve gen tedavisi gibi yöntemler tek başına veya birlikte kullanılabilmektedir (24).

Radyoterapi: Tüm vücudu veya vücudun belli bir bölgesini hedef alan, iyonize ışınlarla kanserli hücrelerde deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı oluşturularak hücrenin ölmesi amaçlanan tedavi yöntemidir. İyonize radyasyon doğrudan sitotoksik etkinin yanında sistemik etkiyle bağışıklık sisteminin kansere karşı aktivitesini artırır. Tümörlü bölgenin küçülmesi ve kanserli hücrelerin öldürülmesi, sağlıklı hücrelere minimum hasar verilmesi amaçlanır. Kusma, saç dökülmesi, halsizlik, iştahsızlık sık görülen yan etkileridir (24, 28).

Cerrahi Tedavi: Kanser oluşumunun önlenmesinde, biyopsi ile tanı konulmasında, metastazı olmayan tümörlerin çıkarılmasında, metastazı olanlarda ise kitlenin küçültülmesi ya da metastazın çıkarılmasında kullanılabilir. Kemoterapi ve/veya radyoterapi ile birlikte kullanılabildiği gibi tek başına da tercih edilebilir (24).

Hormonoterapi: Hormonlar endokrin sinyaller yoluyla vücutta çeşitli görevlerde rol oynayan protein yapıda maddelerdir. Seks hormonları; prostat, meme ve endometrium kanserlerinin tedavisinde ilaç olarak kullanılabilirler. Kemoterapi ilaçlarından en önemli farkları vücudun doğal yollardan ürettiği hormonun hücreye bağlanmasını ve kanser hücrelerinin büyümesini engellemeleridir (24).

İmmünoterapi: Bağışıklık sisteminin iç ve dış uyaranlara cevabını kullanarak sitokinler, antikorlar ve hücreler aracılığıyla tümörü ortadan kaldırmayı hedefleyen tedavi şeklidir (24). Bağışıklık sistemi, transforme olmuş hücrelerin büyümesini engeller ve çoğalıp zararlı hale gelmeden yok eder. Tümör tarafından eksprese edilen antijenlerin çeşitli bağışıklık sistemi yollarını uyarak T hücrelerini aktive etmesiyle perforin ve granzimler gibi güçlü moleküllerin salınımı gerçekleşir ve tümörün yok edilmesi sağlanır (29).

Palyatif Bakım: Özellikle sistemik ve cerrahi tedavi uygulanamayan ileri evre hastalarda ihtiyaç duyulan bir tedavi olmakla birlikte hastalığın her aşamasında verilebilir (19). Hastalar ile ailelerinin tedavi sürecinde yaşadıkları sorunların giderilmesi ve yaşam kalitelerinin artırılmasına yönelik sunulan sağlık hizmetleridir. Hastaların ağrı ve diğer semptomlarının giderilmesi, beslenme desteği, psikolojik ve sosyal destek, hasta ve ailesinin eğitimi ve hastanın fonksiyonel durumunun artırılması hedeflenmektedir (26).

Kemoterapi: Tümörü küçültmek ve/veya kanserin büyümesini ve yayılmasını durdurmak amacıyla uygulanan tedavidir. Bazı kemoterapötik ajanlar hücre döngüsünün belirli aşamalarına etkili olmakla birlikte döngü üzerinde non-spesifik etkili ajanlar da bulunmaktadır. Etki mekanizması farklı olan ajanlar tek başına ya da kombinasyonlar halinde uygulanabilirler. Vücuttaki tüm hücrelerde hücre döngüsü aynı aşamaları takip ettiği için sağlıklı hücrelerde de hasar oluşabilir. Ancak kemoterapötik ajanlar hızlı bölünen hücrelere karşı daha etkili olduğundan sağlıklı hücrelerden çok hızla bölünen tümör hücrelerini etkilerler (18, 30). Kemoterapi hem tümör dokusunda hem uzak bölgedeki metastatik hücrelerde hasar oluşturduğundan sistemik tedavi olarak kabul edilir (31).

Kemoterapötikler diğer tedavi yöntemleriyle birlikte ya da tek başına kullanılabilirler. İlaçların büyük çoğunluğu dar bir toksisite aralığına sahiptir. İlacı

yüksek dozda almak ciddi yan etkilerin gelişmesine, düşük dozda almak tedavi yetersizliğine neden olur. Kemoterapi uygulamaları esnasında verilen ilaçlar; alkilleyici ajanlar, kortikosteroidler, antimetabolitler, antitümör antibiyotikler, mitotik inhibitörler ve topoizomeras inhibitörleridir (Tablo 1) (24). Etkin tedaviyi sağlamak, toksisiteyi azalmak ve ilaç direncini önlemek için hücre döngüsünün farklı aşamalarına etkili kemoterapötikler kombine olarak kullanılabilirler (30).

Tablo 1. Kemoterapötik Ajan Sınıflandırması (32)

Sınıf		Etki Mekanizması
Alkilleyici Ajanlar		DNA alkilasyonu, DNA çapraz bağlarının ve sentezinin inhibisyonu
Antimetabolitler	Metotreksat	Dihidrofolat redüktazın inhibisyonu; pürin sentezinin inhibisyonu
	Pürin/pirimidin Analogları	DNA sentezinin inhibisyonu
Antimitotikler	Taksanlar	Mikrotübül stabilizasyonu; mikrotübül polimerizasyonunun ve depolimerizasyonunun bozulması
	Vinka alkaloidleri	Mikrotübül polimerizasyonunun inhibisyonu; mikrotübül destabilizasyonu
Antibiyotikler		DNA ve protein sentezinin farklı aşamalarının inhibisyonu
Monoklonal Antikorlar		Hücre yüzeyi belirteçlerine özgü monoklonal antikorlar
Protein Kinaz İnhibitörleri		Protein kinaz inhibisyonu
Topoizomeras İnhibitörleri	Kamptotesinler	Topoizomeras I inhibisyonu
	Epipodofilotoksin	Topoizomeras II inhibisyonu

2.1.3. Kemoterapi Yan Etkileri

Kemoterapötik ajanlar akut ve kronik toksisiteye bağlı olarak çok sayıda yan etkiye neden olurlar. DSÖ, yan etkileri 1’den 4’e kadar derecelendirmiştir; hafif (derece 1), orta (derece 2), şiddetli (derece 3), hayatı tehdit edici veya engelleyici (derece 4) (33). Ortaya çıkan yan etkilerin şiddeti kemoterapinin tipine, dozuna, verilış

yoluna, ilaçların kombinasyonuna ve bireysel faktörlere bağlı olarak değişir (34). Yan etki şiddetine göre kemoterapi dozunun azaltılmasına hatta tedavinin kesilmesine karar verilmesi gerekebilir (1, 34). Hastalarda tedaviyle kür sağlanabilse de yan etkiler nedeniyle hayat kaliteleri ciddi şekilde etkilenebilir. En yaygın görülen yan etkiler; mide bulantısı ve kusma, nötropeni, mukozit, yorgunluk, ishal, cilt bulguları ve nörotoksisitedir (18).

Kemoterapi alan hastaların yaklaşık %40'ında mukozit tablosu görülür (35). Sitotoksik etkiyle üretilen reaktif oksijen radikallerinin mukozal bariyeri hasara uğratması mukozit tablosuna neden olur. Mukozit; ağrı, beslenememe, oral ülserasyonlar, ülser alanlarda enfeksiyon gelişimi, disfaji ve odinofaji, gastrit, diyare, malabsorpsiyon ve hayat kalitesinde bozulmaya neden olabilir. Sıklıkla metotreksat, daktinomisin, florourasil, vinkristin ve vinblastin kullanımı sonucu görülen bir yan etkidir (32).

Bulantı ve kusma kemoterapi alan hastaların %80'inde karşımıza çıkar. Hastalarda dehidratasyona, yetersiz beslenmeye ve tedavi uyumsuzluğuna yol açar. Serotonerjik ve dopaminerjik reseptörlerin aktivasyonu ve kusma merkezinin uyarılması kemoterapi ilişkili bulantı ve kusmanın temel mekanizmasını oluşturur. Özellikle, karmustin, sisplatin, siklofosamid ($>1500 \text{ mg/m}^2$), dakarbazin içeren kemoterapi rejimleri %90'dan fazla oranda bulantı ve kusma gelişimine neden olur (32).

Florourasil ve irinotekan ciddi morbidite ve mortaliteye neden olabilen, bağırsaktan bakteriyel translokasyon ve enterik sepsis gelişimine kadar uzanan ishale yol açabilirler (32).

Kemoterapi sonrası alopesi, tırnak değişiklikleri, mukozal ve epidermal lezyonlar gibi hafif yan etkilerden eritema multiforme, Stevens-Johnson Sendromu, toksik epidermal nekroliz gibi şiddetli/yaşamı tehdit edici yan etkilere kadar geniş spektrumlu kutanöz yan etkiler meydana gelebilir (32).

Nötropeni dolaşımdaki nötrofil sayısının azalması olarak tanımlanır. Yoğun sitotoksik kemoterapi, şiddetli ve bazen uzun süreli nötropeniye neden olabilir. Mutlak

nötrofil sayısı 500/ μ L'nin altında olan şiddetli nötropeni bakteri veya mantar enfeksiyonu riskini arttırır (36).

Yorgunluk kemoterapi alan hastalarda en yaygın, rahatsız edici ve hayat kalitesini olumsuz yönde etkileyen yan etkilerden biridir. Hastaların %95'inde tedavi sırasında görülmekte, %30'unda ise tedavi sonrası birkaç yıl daha devam etmektedir (37).

2.2. Kemoterapi ile Tetiklenen Periferik Nöropati

Beyin ve spinal kord MSS'yi, sinir sisteminin geriye kalan bölümleri ise PSS'yi oluşturur. PSS iç ve dış ortamdaki gelen uyarı ve bilgilerin afferent nöronlar (duyu) aracılığı ile MSS'ye ve bu uyarılara MSS'de oluşan cevabın efferent nöronlar (motor) aracılığı ile periferik iletiminde görevlidir. PSS; ağrı, ısı, dokunma, titreşim, propriyosepsiyon duyusunu algılayan duyu nöronları, kas tonusu ve istemli hareketlerden sorumlu somatik nöronları ve bağırsak hareketleri, kan basıncı, sfinkter fonksiyonu gibi iç organ çalışmasını kontrol eden otonom nöronları bulundurmaktadır. Bu nöronlar kalın ve ince sinir liflerinden oluşur. Kalın sinir lifleri miyelinlidir ve nörofilamentlerden oluşur; motor hareketler, titreşim ve propriyosepsiyon duyusundan sorumludur. İnce sinir lifleri ise miyelinlidir ve mikrotübülleri bulunur; ağrı ve sıcaklık duyusundan sorumludur (38, 39).

PN, periferik sinir sisteminde meydana gelen yapısal hasar ve işlevsel bozuklukları ifade eden terimdir. Sık karşılaşılan, çok sayıda etiyolojik faktör bulunduran, farklı şekillerde prezentasyon gösterebilen nörolojik bir bozukluktur. Genel popülasyonda prevalansı %2,4'tür, 55 yaş üstü kişilerde bu oran %8'e çıkmaktadır. Diyabetes mellitus, nörotoksik kemoterapi, HIV, antiretroviral ilaçlar, alkolizm, besin eksiklikleri, ağır metal toksisitesi gibi etiyolojik faktörler PN gelişiminde rol oynarlar. Diyabetes mellitus en yaygın PN nedenidir ve vakaların %50'sini oluşturur. PN yaşam kalitesini etkileyen önemli bir morbidite nedenidir (5).

Son yıllarda tıptaki ve teknolojiye gelişmelerle dünyada kanser sağ kalım oranı artmıştır. Hayatta kalan hastaların birçoğu yaşam kalitesini düşüren ve tedavi sonrası uzun yıllar devam eden yan etkilerle karşılaşmaktadır (1). Kemoterapinin yaygın bir komplikasyonu, kendini sıklıkla periferik nöropati olarak gösteren

nörotoksisitedir (10). KTPN sık karşılaşılan, doz sınırlayıcı, bazen geri dönüşümsüz olan bir yan etkidir. İlk olarak 1960'ların sonlarında vinkristin alan hastalarda tanımlanmıştır (40). Prevalansı kullanılan rejime, hastaların klinik ve demografik özelliklerine, genetik faktörlere bağlı olarak değişmekte, %19-85 gibi geniş bir aralıkta gözlenmektedir. Farklı kemoterapötiklerle gelişen PN prevalansı farklılık göstermektedir (Tablo 2) (1, 3). Artan sağ kalım oranları ve kanser insidansı KTPN prevalansının artmasına katkıda bulunmaktadır (2). KTPN prevalansı tedavi sonrası ilk ayda en yüksek seviyededir (%68). Tedaviden 6 ay ve daha uzun süre sonra semptom bildiren vakalar da mevcuttur (%30). Platin bazlı antineoplastikler, vinka alkaloidleri, epotilonlar(ixabepilone), taksanlar, proteazom inhibitörleri (bortezomib) ve immünomodülatör ilaçlar (talidomid) KTPN gelişiminde rol oynayan temel ajanlardır. Bu ajanlar en sık karşılaşılan kanser türlerinde kullanılan ilaçlardır. Bunların içinde nörotoksisitesi en yüksek olanlar ise platin bazlı antineoplastikler, taksanlar ve talidomidir (1, 3).

Tablo 2. Sık Kullanılan Kemoterapötiklerin Nöropati Prevalansı (2)

Kemoterapi	KTPN'nin Yaklaşık Prevalansı (%)
Oksaliplatin	40-93
Sisplatin	12-85
Paklitaksel	61-92
Bortezomib	47
Vinkristin	20
Kombine sisplatin ve paklitaksel	69-76

Tedavi sırasında veya hemen sonrasında ortaya çıkan nöropati akut KTPN olarak tanımlanır (2). Özellikle oksaliplatin ve paklitaksel akut KTPN gelişimine neden olurlar. Tedavi bitiminden haftalar veya aylar sonra ortaya çıkan, şiddeti kümülatif doz bağımlı geç semptomlar kronik KTPN olarak tanımlanır. Tüm ajanlar kronik KTPN gelişimine neden olabilirler (1).

Kemoterapötik ajanlar hem kalın hem de ince sinir liflerinde hasar oluşturabilirler. Yapılan çalışmalarda her ajanın farklı bir sinir lifi türünde daha şiddetli hasar oluşturduğu gösterilmiştir. Sisplatin kalın sinir liflerini; paklitaksel ince, miyelinsiz sinir liflerini daha çok etkiler. KTPN çoğunlukla duyuşal nöropati olarak

karşımıza çıkmakla birlikte, ince motor fonksiyon ve otonom fonksiyonlar da etkilenebilir. Hasar sıklıkla nöronun ve ekstremitelerin distal kısmından başlar. Uzun aksonlar öncelikle etkilendiğinden semptomların ilk görüldüğü yer genellikle ayaklardır, sonrasında ellerde de görülür. Tek bir yüksek doz veya düşük dozların kümülatif kullanımı doza bağımlı olarak periferik sinir hasarı oluşturabilir (1, 2, 41).

2.2.1. Patofizyoloji

Sık karşılaşılmamasına ve klinik önemine rağmen KTPN'nin kesin patofizyolojik mekanizması hala bilinmemektedir (6). Altta yatan mekanizmaların aydınlatılması ve semptomların kronikleşmesine neden olan faktörlerin anlaşılması KTPN'nin etkin tedavisinin sağlanmasına katkıda bulunabilir. Farklı kemoterapötik ajanların farklı mekanizmalar üzerinden PN'ye neden olduğu bilinmektedir (Tablo 3) (2). Nörotoksisitenin hedefleri DKG, akson ve akson bileşenleri (miyelin, mikrotübüller, mitokondri, vasküler yapılar), distal sinirlerin terminal kısımlarıdır (8). DKG hücre gövdelerinin etkilenmesiyle nöropati, akson dejenerasyonu sonucu aksonopati gelişir (3, 4).

Tablo 3. Bazı Antineoplastik Ajanlarla Tetiklenen Periferik Nöropatinin Tipi Ve Mekanizması (6)

Antineoplastik	Nöropati Tipi	Nöropati Gelişim Mekanizması
Paklitaksel	Duyusal	Mikrotübül Bozukluğu
Sisplatin	Duyusal Propriyoseptif	DNA Etkileşimi
Oksaliplatin	Duyusal Propriyoseptif	DNA Etkileşimi
Vinkristin	Duyusal Motor Ağırlı	Mikrotübül Bozukluğu
Bortezomib	Duyusal Ağırlı	Proteozom İnhibisyonu

KTPN; mikrotübül yıkımını, oksidatif stresi ve mitokondriyal hasarı, değişmiş iyon kanalı aktivitesini, miyelin kılıf hasarını, DNA hasarını, immünolojik süreçleri ve nöroinflamasyonu da içine alan çok faktörlü patofizyolojik mekanizmalar sonucu gelişir. Hücre içi organellerde (özellikle mitokondri), membran reseptörlerinde ve iyon kanallarında çeşitli değişiklikler indüklenir. Ardından hücre içi hemostaz, sinyalleşme

ve nörotransmisyon değişiklikleriyle nöroinflamasyon, DNA hasarı ve aksonal dejenerasyon meydana gelir (1).

Nöronlar yüksek enerji ihtiyacına sahip olduğundan mitokondriyal işlevin bozulmasına neden olan kemoterapotik ajanlara duyarlıdırlar (2). Yapılan prelinik çalışmalarda kemoterapötiklerin mitokondriyal matrikste şişme ve vakuolizasyona neden oldukları gösterilmiştir. Antineoplastikler nöronlarda nükleer ve mitokondriyal DNA (mtDNA) hasarı oluşturarak da KTPN gelişim sürecini kolaylaştırır. Nükleer DNA'daki hasarlar, DNA tamir sistemi sayesinde onarılabilir. Mitokondride DNA tamir sistemi olmadığından hatalı DNA mitokondriyal disfonksiyona neden olur (6). Paklitaksel, DKG nöronlarında endoplazmik retikulum ve mitokondri membranı depolarizasyonuna neden olarak kalsiyum metabolizmasında bozukluğa yol açar. Tüm bunların sonucunda mitokondride oksidatif stres artışı ve enerji üretiminde işlev bozukluğu olur. Adenozin trifosfat (ATP) üretiminde azalma, reaktif oksijen radikali (ROS)'nde artış görülür. Hücrenin apoptozisi indüklenir (2, 6).

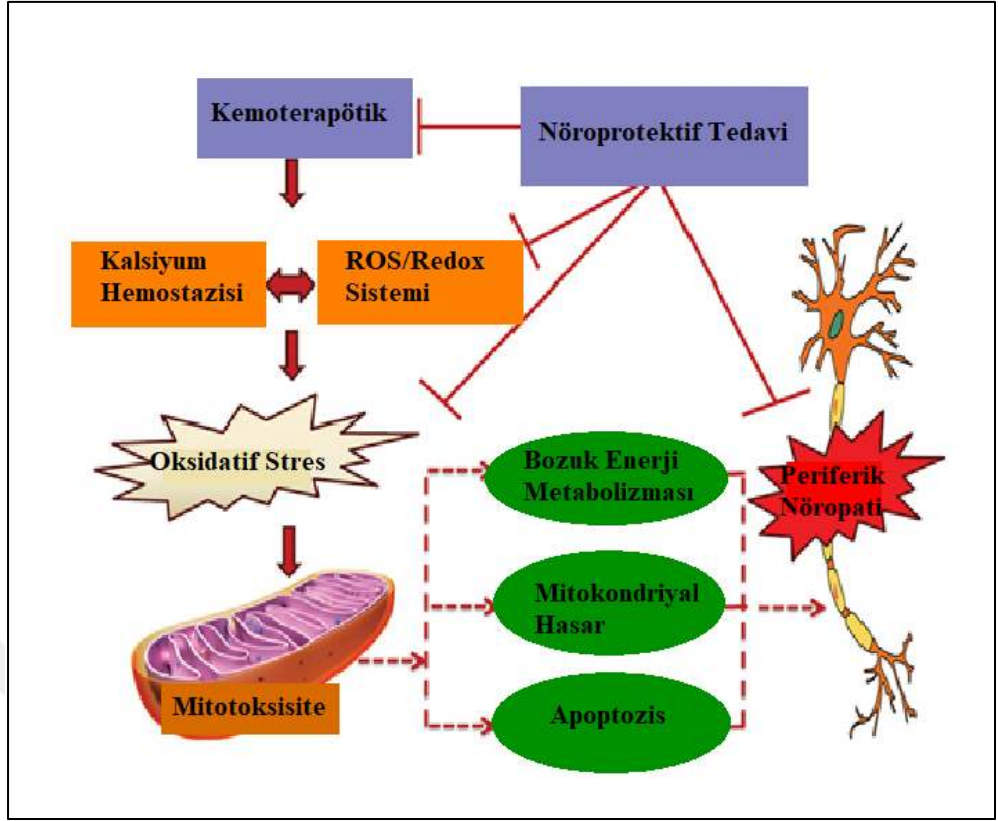
Sodyum kanallarının tipi ve aktivitesindeki değişiklikler KTPN gelişimine katkıda bulunabilir. Yapılan prelinik KTPN modellerinde ince lifli duyu nöronlarında sodyum kanalı (NaV) ekspresyonunun ve spontan nöral aktivitenin arttığı, potasyum kanalı (KV) ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş. KTPN'den etkilenen insan dorsal kök gangliyonlarında da benzer bulgulara rastlanmıştır. Artan NaV ve azalan KV aktivitesi nöronlarda aşırı uyarılabilirliğe yatkınlık oluşturur. Uygulanan kemoterapinin tipi iyon kanalı aktivitesindeki değişikliklerle ilişkilidir. Bortezomibin fare dorsal kök gangliyonlarında T tipi kalsiyum kanalı (TCaV) ekspresyonunu azalttığı, paklitakselin sıçan dorsal kök gangliyonlarında TCaV ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (1, 2).

Geçici reseptör potansiyeli (TRP) kanalları ağrının işlenmesi ve termal duyumda rol oynarlar ve C liflerinde bulunurlar. Bazı kemirgen modellerinde termal hiperaljezi varlığında TRP kanalı Vanilloid 1 ekspresyonu ve aktivitesinde artış olduğu gösterilmiştir (2).

Santral glial ve periferik immün hücrelerde gelişen inflamatuvar süreçler de KTPN gelişimine katkıda bulunur (2). Bir çalışmada paklitakselin interlökin-1 alfa (IL-1 α), interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-

α), interferon gama (INF- γ) ve monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) reseptör sayısını arttırdığı gösterilmiştir (42). Vinkriskinle yapılan KTPN modelinde interlökin-4 (IL-4) düzeyinde azalma, IL-1 β ve TNF- α düzeyinde artış saptamıştır (43). Preklinik çalışmalarda interlökin-10 (IL-10)'un hem platin bazlı ajanlar hem de taksanlarla gelişen KTPN'nin düzelmesinde önemli olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu mekanizmaları anlamak ve hedefleyici tedaviler geliştirmek önleyici bir stratejidir (2, 6).

Oksidatif Stres ve Mitokondriyal Disfonksiyon: Oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon KTPN gelişiminde kritik öneme sahiptir. Antioksidan savunma mekanizmalarındaki bozulmalar oksidatif streste artış ve nörodejenerasyonla sonuçlanır (44). Memeli sinirleri; uzun aksonları, yüksek fosfolipid içerikleri ve nispeten zayıf hücresel antioksidan savunma mekanizmaları ile ROS'lara karşı savunmasızdırlar. Aynı zamanda aksoplazma mitokondri ile doludur ve çok sayıda çalışma aksonal mitotoksisitenin KTPN'ye katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (45). Platin bileşikleri nükleer DNA'ya bağlandıkları gibi mtDNA'ya da doğrudan bağlanırlar. Nükleer DNA'nın baz eksizyon tamiri ile onarımı yapılırken platin-mtDNA eklentileri onarılamaz (46). Platin eklentilerinin varlığı mtDNA transkripsiyonunu ve replikasyonunu inhibe eder. Mitokondride morfolojik değişikliklere neden olur. Örneğin, kemoterapi ile tedavi edilen hayvanlarda periferik sinirlerin mitokondrilerinin şişmiş ve vakuollü olduğu bulunmuştur (47). Hasarlı mitokondride elektron taşıma sistemi ve ATP üretimi bozulur. Bu durum enerji metabolizmasında bozulmaya ve aşırı ROS üretimine neden olur. Tüm bu olaylar redoks dengesinde bozulmaya, mitokondriyal membran depolarizasyonuna, kalsiyum homeostazının regülasyonunun bozulmasına, sitokrom c salınımına ve apoptozun başlamasına neden olur. Bunların sonucunda hücresel metabolizmalarda bozulma, ROS üretiminde artış ve periferik sinirlerde yapısal hasar meydana gelir (Şekil 4) (6, 47).



Şekil 4. Mitokondriyal Disfonksiyon ve Periferik Nöropati Mekanizması (6)

2.2.2. Platin Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi

Platin bazlı antineoplastikler; oksaliplatin, sisplatin ve karboplatinden oluşur ve uzun yıllardır kemoterapi rejimlerinde kullanılmaktadır. Antineoplastik etkilerini nükleer/mitokondriyal DNA replikasyon ve transkripsiyon inhibisyonu, mitokondriyal ROS üretiminin artışı ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımı yoluyla apoptozisin indüklenmesi ile gösterirler (1, 10). Oksaliplatin; kolorektal, özefagus, mide, karaciğer ve pankreas kanserlerinin tedavisinde; sisplatin ve karboplatin ise küçük hücreli akciğer kanseri, testis, over, beyin, endometrium, mesane kanserleri gibi kanserlerin tedavisinde endikedir (1).

Platin bazlı ajanlar kan beyin bariyerini geçemediklerinden MSS nöronları üzerinde doğrudan toksik etki oluşturmazlar. DKG ve trigeminal gangliyon (TG) nöronlarında birikerek gangliyonopati ve akson dejenerasyonu gelişimini tetiklerler. Nörotoksisitenin kesin mekanizması ise hala tartışılmaktadır. Bu ajanlar mtDNA'ya bağlanarak eklentiler oluştururlar ve mtDNA'nın onarım sistemi olmadığı için

replikasyon ve transkripsiyonu bozulur. Sentezlenen patolojik proteinler solunum zincirinin bozulmasına neden olur. Hücresel metabolizma yavaşlar, reaktif oksijen radikali üretimi ve oksidatif stres artar; enzimler, proteinler ve lipidlerde oluşan patolojik değişikliklerle periferik sinirlerde yapısal bozukluklar ortaya çıkar (1, 2, 6).

Kalsiyumun hücre içi depoları mitokondri ve endoplazmik retikulumdur. Mitokondri disfonksiyonu hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu arttırarak akson dejenerasyonunu tetikler. NaV, KV ve TRP kanalı aktivitesindeki değişikliklerle membran uyarılabilirliği artar. Nörotransmitter salınımı bozulur. Nöronal ve glial hücrelerde spontan nöral aktivitede artış olur. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artışla periferik sinir hasarı indüklenir (1, 2, 6).

Platin bazlı ajanların kullanımı sonucu akut ve kronik nörotoksisite meydana gelebilir. Bu durum tedavi gecikmesine, doz azaltılmasına, infüzyon süresinin uzatılmasına hatta tedavinin kesilmesine neden olabilir. Karboplatinin nörotoksitesisi diğer platin bazlı ajanlara göre daha azdır. Sisplatinle tetiklenen periferik nöropati (CisTPN) zamana ve kümülatif doza bağlıdır. 300-450 mg/m² kümülatif doz CisTPN gelişimi için risk faktörüdür. 400 mg/m²'den fazla sisplatin dozu yüksek doz olarak kabul edilir ve her zaman nörotoksiktir. Yapılan çalışmalarda DKG nöronlarında biriken sisplatin dozunun zamanla azalmadığı gösterilmiştir. Semptomlar tedavinin ilk dozunda ortaya çıkabileceği gibi ilerleyen dozlarda da gelişebilir. Genellikle tedavinin birinci ayından sonra semptomlar başlar. Parestezi, titreşim duyusunda azalma, derin tendon reflekslerinin kaybı sık görülen semptomlardır. Daha yüksek kümülatif dozlara ve daha uzun süre sisplatine maruz kalındığında semptomların şiddeti ve kronikleşme olasılığı artar (1, 6).

Oksaliplatinle tetiklenen periferik nöropati (OTPN)'de akut ve kronik nöropati olarak iki farklı tabloda ortaya çıkabilir. Akut nöropati oksaliplatin tedavisi sonrası saatler, günler içerisinde gelişir. El ve ayaklarda soğuğa bağlı parestezi, faringolaringeal dizestezi, çene spazmı, fasikülasyonlar ve kas krampları gibi semptomlar görülebilir. Tipik klinik prezentasyon şekli soğuğa karşı aşırı duyarlılıktır. Kümülatif oksaliplatin dozu (750-850 mg/m²), infüzyon süresi, düşük vücut ağırlığı,

erken yaş, vücut yüzey alanının 2 m^2 'den fazla olması OTPN gelişiminde önemli risk faktörleridir (1, 2, 6) .

2.2.3. Taksan Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi

Taksan grubu antineoplastikler *Taxus Brevifolia* ağacının kabuğundan elde edilen kemoterapötik ilaçlardır. Kabazitaksel, dosetaksel ve paklitaksel taksanların örnekleridir. Taksanlar mikrotübül depolimerizasyonunu ve repolimerizasyonunu bozarak hücre bölünmesinin inhibisyonuna ve apoptozise neden olur. Over, meme, prostat, küçük hücreli dışı akciğer kanserleri başta olmak üzere birçok kanser türünün tedavisinde endikedir (1, 10).

Taksanların antineoplastik etkilerinden sorumlu olan mikrotübül bozukluğu aynı zamanda KTPN gelişimiyle de ilişkilidir. Mikrotübül yapısındaki bozukluk hücrenin şekil ve stabilitesinde bozukluğun yanı sıra sinaptik veziküllerin aksonal taşınmasının da bozulmasına neden olur. Mitokondriye verilen hasar ROS üretiminde ve oksidatif strese artışa neden olur. Artan ROS seviyeleri; apoptotik süreçlerin aktivasyonuna, hücre yapısının bozulmasına ve demiyelinizasyona yol açar. Bu olaylar, sinyal iletiminin bozulmasına ve proinflamatuvar sitokin üretiminin artmasına neden olur. Mikrotübüllerin bozulması ve bunun sonucunda temel hücresel bileşenlerin aksonal taşınımının bozulması, distal sinir segmentlerinin dejenerasyonuna ve aksonal membranın yeniden şekillenmesine neden olur (1, 6).

Paklitaksel mitokondriden kalsiyum salınımına neden olabilir, bu da hızlı mitokondri depolarizasyonuna yol açar. Proinflamatuvar sitokinlerin ($\text{IL-1}\beta$ ve $\text{TNF-}\alpha$) üretiminde artışa ve antiinflamatuvar sitokinlerin (IL-4 ve IL-10) üretiminde azalmaya neden olur (1, 6).

Taksanlara bağlı nörotoksisite genellikle ince sinir liflerinin etkilendiği duyuşal nöropati olarak ortaya çıkar. Motor ve otonom tutulum daha az sıklıkta görülür. Paklitakselle oluşun nöropati doza ve infüzyon süresine bağılıdır. Semptomlar tedavi bırakıldıktan sonra düzelir ancak tedavinin tamamlanmasından 1-3 yıl sonrasında kadar veya hayat boyu devam eden semptom bildiren vakalarda vardır. Semptomlar paklitaksel için daha şiddetli, dosetaksel içinse nispeten daha hafiftir (1, 6, 8).

2.2.4. Vinka Alkaloid Grubu İlaçlarla Tetiklenen Periferik Nöropati ve Patofizyolojisi

Vinka alkaloidleri Catharanthus Roseus bitkisinden üretilirler. Vinkristin, vinblastin, vinorelbin ve vindesin bu grubun üyeleridir. Mikrotübül oluşumunu inhibe eder ve yıkımını uyarırlar, böylece aksonal taşınmayı bozarlar. Lenfoma, testis ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri tedavisinde endikedirler (1, 10).

Vinkristin, mikrotübül oluşumunu engelleyerek hücre bölünmesini bloke eder, mikrotübüler bozukluk aksonal taşıma sistemini bozarak aksonal nöropatiyi indükler. Hücre içi tübülün proteinini bağlayarak ve hücrel mikrotübüler yapıları değiştirerek distal aksonopatiye neden olur. Kalın, miyelinli aksonların hücre iskeletinde ultrastrüktürel değişikliklere ve DKG nöronlarında nörofilament birikimine yol açar (1, 6).

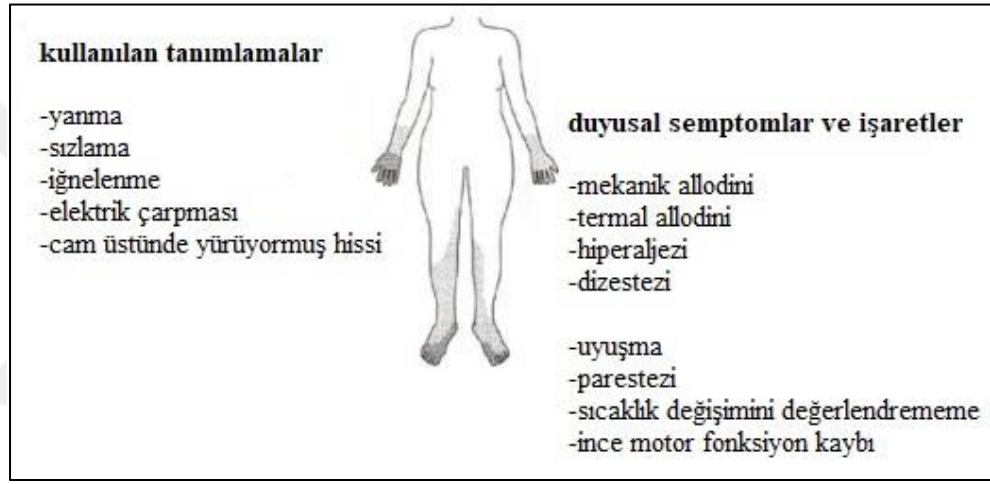
Vinka alkaloidleri özellikle ince sinir liflerini etkileyen, doz bağımlı, sensorimotor nöropatiye neden olurlar. Genellikle eldiven çorap tarzı ağrı ilk belirtidir. Semptomlar tedavinin ilk 3 ayında ortaya çıkar. Nörotoksitesitesi en şiddetli olan vinkristindir (1, 8).

2.2.5. Semptom ve Tanı

KTPN çoğunlukla duysal semptomlarla karşımıza çıkmakla birlikte otonom disfonksiyon, motor güçsüzlük, kraniyal sinir tutulumuna ait bulgular da görülebilir (4). Elektrofizyolojik çalışmalarda distal ekstremitelerde aksonal sensorimotor nöropati olarak tespit edilmiştir (1). Hastalarda tipik olarak eldiven çorap tarzı nöropati görülür (2). Semptomlar akut, geçici duysal bozukluklardan kronik ağrı ve periferik sinirlerde kalıcı hasarın eşlik ettiği patolojilere kadar değişkenlik gösterebilir (1). Duysal semptomlar motor ve otonom semptomlardan önce ortaya çıkar. KTPN uyuşma, karıncalanma veya yanma hissi, dokunma ve titreşim duysunda bozukluk, sıcak veya soğuğa karşı artan hassasiyet gibi duysal semptomlar ile karşımıza gelebilir. Ayrıca hiperaleji, mekanik veya termal alodini gibi ağrılı duysalarda gelişebilir (Şekil 5) . Semptomların bazıları belirli kemoterapi türlerinde daha sık karşımıza çıkar; örneğin, platin grubu antineoplastiklerle soğuğa aşırı duyarlılık daha sık görülür (1–3). Motor semptomlar duysal semptomlardan daha az görülür; hareketlerde bozulma, yürüme ve denge bozukluğu şeklindedir. KTPN, ağrı nedeniyle

azalan yaşam kalitesi ve artan düşme riski ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda kanser hastalarında KTPN gelişmesi durumunda düşme ve kırık oranının üç kat arttığı gösterilmiştir. Hastalar daha nadir olarak idrar inkontinansı, cinsel aktivite bozukluğu, kabızlık, ortostatik hipotansiyon gibi otonom semptomlarda tarifleyebilirler (1). Kullanılan ajana ve hastanın bireysel risk faktörlerine bağlı olarak semptomlarda değişkenlik olabilir (8).

KTPN'li hastalarda diğer periferik nöropatilerle karşılaştırıldığında ağrının baskın olduğu, elleri ve ayakları etkileyen daha şiddetli semptomlar olduğu görülür. Semptomlar diğer nöropatilerden daha hızlı ilerler (1).



Şekil 5. KTPN'nin Klinik Özellikleri (2)

Bir kemoterapi küründe verilen kemoterapötik ajanın dozu, kümülatif doz, tercih edilen kemoterapi protokolü, infüzyon süresi, daha önce periferik nöropati varlığı, hastanın yaşı, mevcut komorbiditeleri, kullandığı ilaçlar KTPN gelişiminde rol oynayan risk faktörleridir (4). Yaşla birlikte KTPN gelişme riski artmaktadır. Özellikle beta bloker kullanan hastalarda kemoterapiye başlamadan önce mümkünse ilacın kesilmesi veya değiştirilmesi KTPN gelişme riskini azaltır. Diyabet, hipotiroidizm, kreatinin klirensinde azalma, HIV, sigara, alkol kullanımı, obezite, düşük serum albümin düzeyi de KTPN gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca KTPN gelişme riski ile ilişkili çok sayıda genetik bozukluk da tanımlanmıştır (1, 2).

KTPN'yi etkili bir şekilde önlemek için semptomların erken tespiti ve değerlendirilmesi önemlidir (8). Tanısı klinik değerlendirme (hasta tarafından bildirilen şikayetlerin toksisite ölçekleriyle derecelendirilmesi ve nörolojik muayene)

ve gereklilik halinde elektrofizyolojik yöntemler (sinir iletim çalışmaları ve elektromiyografi) kullanılarak koyulur. Toksisite ölçekleriyle yapılan derecelendirmede; derece I: reflekslerde azalma ve hafif parestezi; derece II: duyarlılıkta azalma ve orta derecede parestezi; derece III: duyarlılıkta yoğun azalma ve dayanılmaz parestezi ve derece IV: refleks ve hassasiyet yokluğu olarak tanımlanır (1, 18). Sıklıkla kullanılan ölçekler Ulusal Kansere Enstitüsü Olumsuz Olaylar İçin Ortak Terminoloji Kriterleri (NCI-CTCAE) ve Toplam Nöropati Skoru (TNS)'dur. Ancak her iki ölçek de ağrıyı değerlendirmede yetersizdir ve değerlendiren kişiye göre sonuçlar değişkenlik gösterir. Bu nedenle doğru tanı konulabilmesi için daha güvenilir yöntemlere ihtiyaç vardır (2, 4). Elektrofizyolojik yöntemlerin tanıda etkinliği sınırlıdır. Sisplatin kullanan hastalarda yapılan araştırmada elektrofizyolojik yöntemler ve sinir iletim çalışmalarının klinik değerlendirme ile karşılaştırıldığında tanı koymada duyarlılığının düşük olduğu gösterilmiştir (4).

2.2.6. Tedavi

Şimdiye kadar KTPN'yi farmakolojik olarak etkili bir şekilde önleyecek tedavi stratejisi geliştirilememiştir. Altta yatan mekanizmalar üzerinde etkili olduğu düşünülerek klinik çalışmalarda incelenen ajanlar; asetil-L-karnitin, amifostin, n-asetilsistein, amitriptilin, nimodipin, glutatyon, karbamazepin, E Vitamini, omega-3 yağ asitleri ve oksikarbazepindir. Ancak yapılan klinik çalışmalarda bu ajanların KTPN'yi önlemede etkili olduğuna dair yeterli kanıt elde edilememiştir (2).

KTPN'nin önlenmesinde nonfarmakolojik yöntemlerle ilgili kanıtlar sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda donmuş çoraplar veya eldivenlerle soğutma tedavisinin ve bir beden küçük cerrahi eldivenlerle kompresyon tedavisinin etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca orta-düşük şiddetli egzersizin kasları güçlendirerek dengeyi korumada faydalı olduğu gösterilmiştir. Akupunktur ile ilgili yapılan çalışmalarda ise sonuçlar yetersiz bulunmuştur (8).

Nöropatik ağrı tedavisine yönelik yapılan birçok klinik çalışma olmakla birlikte KTPN ağrısına spesifik kaliteli klinik çalışma bulunmamaktadır (2, 48, 49). Akut dönemde gerekirse kemoterapi dozunun azaltılması veya kemoterapinin kesilmesi denenebilir. Bu da kanser tedavisinin etkinliğini azaltabilir. Semptomların

şiddeti artar veya işlevsel kısıtlamalar meydana gelirse hastaların daha ayrıntılı değerlendirilmesi gerekir (8).

KTPN’li hastalar için terapötik seçenekler hala sınırlıdır. Uyuşukluk, parestezi veya motor zayıflığı azaltmak için herhangi bir farmakolojik müdahale olmadığından tedavi öncelikle nöropatik ağrının azaltılmasına veya hafifletilmesine odaklanır (8). KTPN ağrısının tedavisinde kullanılmak için yeterli kanıta sahip tek ajan duloksetindir. Amerikan Klinik Onkoloji Derneği de KTPN ağrısının tedavisinde duloksetin kullanımını önermektedir (3). Duloksetinin başarısız olduğu veya kullanımının kontrendike olduğu hastalarda trisiklik antidepresanlar, gabapentin, pregabalin, amitriptilin, ketamin gibi nöropatik ağrı tedavisinde kullanılan ajanlar diğer nöropatik ağrı formlarındaki kullanımlarına benzer şekilde kullanılabilirler. Ancak etkileri sınırlıdır (2, 50, 51).

Egzersiz, akupunktur, masaj ve beslenme tedavisi gibi nonfarmakolojik tedaviler KTPN ağrısının tedavisinde denenmekle birlikte etkili olduğuna dair yeterli kanıt bulunmamaktadır. Bazı histolojik çalışmalarda akupunkturun nöronları besleyen kılcal damarlarda kan akımını arttırdığı, miyelin kılıf ve aksonun iyileşmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ancak bu konuda yeterli kanıt yoktur (2, 52, 53).

2.3. Kemoterapi ile Tetiklenen Periferik Nöropati Modelleri

Hücre kültürü, toksik bileşiklere maruz kalma dahil olmak üzere çevresel değişikliklerin hücresel ve moleküler etkilerini incelemek amacıyla kullanılan en temel yöntemdir. PSS hücrelerine karşı çeşitli maddelerin toksik etkilerini değerlendirmek için sıklıkla kullanılır. Sıcaklık, pH, ışık miktarı ve besiyeri gibi fizyokimyasal faktörlerin kontrol edilmesini sağlar. Aynı koşulda bir deneyin hızlı bir şekilde tekrarlanmasına ve tekrarlanabilirliğin değerlendirilmesine izin verir (40).

En büyük dezavantajı sadece ilgili hücrelerin incelenmesi, farklı hücre tipleri arasındaki karmaşık etkileşimin ihmal edilmesidir. Ayrıca organ ve sistemlerin farmakokinetiğini yeterince modelleyemez. Hücre kültürü çalışmalarında genellikle kemirgenler kullanılır ve bu modeller insanlardaki durumu yeterince taklit edemeyebilirler. Sıçan ve insan DKG’larını karşılaştıran çalışmalarda; protein miktarı, işlevi ve hücre dinamiklerinde büyük ölçüde farklılıklar olduğu bulunmuştur. Bu

nedenle in vitro gözlemler başlangıç niteliğindedir, canlı organizmada doğrulanması gerekir (40).

DKG, kan-sinir bariyeri tarafından zayıf korunduğundan kemoterapötiklerin tetiklediği nörotoksisitenin en önemli hedeflerindendir. Bu nedenle DKG nöronları, KTPN'yi modellemede en sık kullanılan hücrelerdir (16). DKG nöronal hücre kültürü; periferik nöronların nörobiyolojisi, sinir uzantılarının gelişimi, sinapsların oluşumu, özellikleri ve profilleri, nörotransmitterlerin salıverilmeleri ve etkileri, duyuşal sinyalleşmenin esasları hakkında bilimsel soruların cevaplanmasına imkan sağlar. PN çalışmaları için hücresel model olarak kullanılmaktadır (9). Bütün yönleriyle ideal bir model yakalanmamış olsa da; DKG nöronal hücre kültürü nörotoksisite analizi, KTPN için deneysel model olarak kabul edilmekte ve bu konudaki bilimsel araştırmalarda kullanılmaktadır (9, 17, 54). Her yıl taksanların, vinka alkaloidlerinin, proteazom inhibitörlerinin ve platin türevlerinin nörotoksisite mekanizmalarını incelemek ve nöroprotektif stratejiler geliştirmek amacıyla yapılmış birçok in vitro çalışma yayınlanmaktadır (40, 44, 47).

KTPN'yi incelemek için kullanılan model sistemleri, çoğunlukla hayvan ve hücre kültürü modellerine dayanmaktadır. İnsan hastalığını taklit eden kemirgen modelleri, kemoterapinin neden olduğu patolojik değişiklikleri incelemek ve potansiyel nöroprotektif tedavileri araştırmak için kullanılmıştır (55). Nöronların yaşı, hücre kültürü deneyleri için önemli bir parametredir. Yetişkin sıçan DKG nöronları, olgunlaşmasını tamamladığından KTPN'yi modellemede embriyonik veya yavru sıçan DKG nöronlarına göre daha çok tercih edilir (40).

KTPN'yi modellemek için hücre kültürü sisteminin tercih edilmesinin sebebi, duyuşal nöronların in vitro kullanımının patomekanizmaların moleküler düzeyde incelenmesine izin vermesidir. DKG nöronları kemoterapötikler tarafından hedeflenen hücre tipini temsil ettiğinden KTPN'yi in vitro olarak daha doğru bir şekilde yansıtır. Ayrıca, DKG nöronları ile in vitro mekanik deneyler yapmak in vivo hayvan deneylerine kıyasla zaman ve maliyet açısından daha verimlidir (40).

İn vitro hücre kültürü deneylerinin sonuçlarının değerlendirilmesinde hücre canlılığı, akson morfolojisi ve biyokimyasal tahliller kullanılır. Hücre canlılığı sıklıkla kullanılan bir son noktadır. Önemli bir avantajı kolay uyarlanabilmesidir. İn vitro

Çalışılan hücre popülasyonları genellikle hücre döngülerinin aynı aşamasında değildir. Bu nedenle hücreler sitotoksinlere farklı tepkiler verebilirler. Bazı hücrelerde hücre ölümü gerçekleşirken, bölünmeyen hücreler hayatta kalabilirler. Bu durumu ortadan kaldırmak için daha uzun inkübasyon sürelerine ve çok ölçümlü zaman noktalarına sahip deneysel paradigmlar önerilir. Akson uzunluğu da, akson yaralanmasını değerlendirmede önemli bir yol olarak kabul edilir. Akson uzunluğunun ölçümü, in vitro akson dejenerasyonunu araştırmada en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (40, 55).

Nöronlarda intraepidermal sinir lifi uçlarının kaybı, duyuusal nöron aksonlarının dejenerasyonu ve demiyelinizasyonun yanı sıra vakuolizasyon yoluyla mitokondriyal yapının bozulması sonucu KTPN gelişir (55). İnsandaki PN'yi en iyi şekilde taklit eden modellerin ve tedavi sonuçlarını ölçmeye en uygun yaklaşımların geliştirilmesine yönelik çalışmalar devam etmektedir (10). DKG nöron kültürleriyle yapılan alışmalar KTPN'nin altında yatan olası moleküler mekanizmaların değerlendirilmesinde önerilmektedir. Bu modeller, potansiyel nöroprotektif bileşiklerin test edilmesi ve etki mekanizmalarının analizi içinde uygundur (55).

2.4. xCELLigence Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (RTCA) Sistemi

xCELLigence RTCA sistemi, gerçek zamanlı hücre analizine izin veren yeni bir teknolojik yaklaşımdır. xCELLigence RTCA sistemi; RTCA empedans analizörü, sistem çalışmasını kontrol eden RTCA yazılımına sahip bir bilgisayar, 3 adet 16 kuyucuklu elektronik mikrotitre E-plate, E-plate barındıran ve inkübatörün içine yerleştirilen RTCA istasyonundan oluşur (şekil 6). E-plate tabanında her bir kuyucuğun %80'ini kaplayacak şekilde tasarlanmış altın mikro elektrotlar bulunur. Mikro elektrotlar, elektrik devresi içindeki empedans farklılıklarını ölçen bir bilgisayara bağlıdır. Hücre kültürü süspansiyonu varlığı ve düşük voltaj uygulanması, elektrotlar arasında hücre varlığı tarafından engellenebilen bir elektrik alanı oluşturur. Hücre-mikro elektrot empedansının elektriksel ölçümü; hücre sayısı, boyutu, bağlanması, yayılması ve/veya çoğalması, hücre-substrat veya hücre-hücre eki gibi çeşitli parametrelerden doğrudan etkilenen bir değer olan hücre indeksi (CI)'ne dönüştürülür. Elektrotlara daha fazla hücre bağlanırsa CI değeri artar ve daha büyük

bir empedans değeri algılanır. Dolayısıyla CI, sensörlere bağlı hücre sayısının nicel bir ölçüsüdür (56, 57).

xCELLigence sistemi, hücre büyümesi ve ölümünün gerçek zamanlı izlenmesi için empedans ölçümlerini kullanır ve CI olarak gerçek zamanlı görüntülenmesine izin verir (56).



Şekil 6. xCELLigence RTCA cihazı ve E-plate

KTPN tedavisindeki seçenekler sınırlıdır ve uygulamadaki ajanlar sadece semptomatik tedavi sağlamaktadır (2, 8). Dolayısı ile KTPN tedavisinde daha etkin ve güvenli tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır. KTPN patogeneğinde oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonun önemli rol oynadığı dikkate alındığında ‘KTPN’ye karşı hücreye permeabilitesi yüksek ve mitokondri hedefli antioksidanlar etkin bir koruma sağlayabilir mi?’ sorusu akla gelmektedir.

Daidzein, izoflavonda bulunan soya kökenli bir fitoöstrojendir. Nörotrofik ve nöroprotektif etkileri vardır. Yapılan çalışmalarda mitokondriyal süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerini artırdığı, mitokondriyal malondialdehit düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca kemopreventif aktivite de göstermektedir (58–60).

MnTBAP klorür, ROS ile indüklenen redoks sinyal yollarını düzenleyen, süperoksit dismutaz ve katalaz benzeri aktiviteye sahip, hücre permeabilitesi yüksek katalitik antioksidandır (61). Akciğer üzerinde koruyucu etkileri vardır (62). Ayrıca oksijen kaynaklı retinopatide oksidatif stresin önlenmesinde de etkilidir (63).

Mito-TEMPO, mitokondri hedefli bir antioksidan olup mitokondriyi oksidatif hasara karşı korur. Süperoksit ve alkil radikallerini temizler, mitokondriden

proapoptotik proteinlerin salıverilmesini sağlar ve apoptozu baskılar (64, 65). Kronik konstriktif yaralanmayla tetiklenen periferel nöropatiye karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir (66). Ancak literatürde KTPN'ye karşı etkisine yönelik bilgi yoktur.

Bu tez çalışmasında; KTPN'nin patofizyolojisi dikkate alındığında daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun etki mekanizması ve potansiyeli bakımından KTPN'ye karşı etkili olabileceği düşünölmüştür. Kemoterapötik ajanlardan sisplatin, vinkristin ve paklitakselle tetiklenen nöropati/nörotoksisiteye karşı mitokondri hedefli antioksidanlar olarak daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun önleyici potansiyelleri DKG nöronal hücre kültürü modelinde test edilmiştir. Nörotoksisite analizinde xCELLigence RTCA sistemi kullanılmıştır. Daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO bu deneysel tasarımda daha önce test edilmediğinden bu çalışma ile KTPN tedavisinde yeni yaklaşım getirebilecek deneysel veri elde edilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Malzemeler

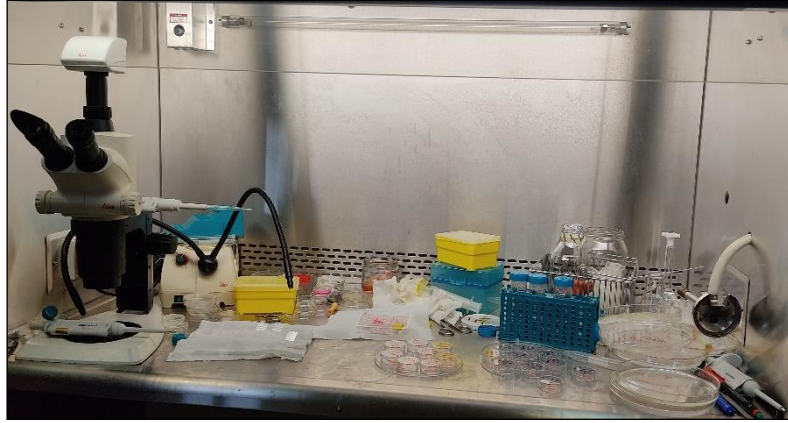
Bu tez çalışmasında kullanılan Daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO araştırma saflık kalitesinde üreticiden (Cayman Chemical Company, ABD) ticari olarak temin edilmiştir. Sisplatin, paklitaksel ve vinkristin Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi Kemoterapi Ünitesi'nden klinik kullanım fomülasyonunda temin edilmiştir. Sinir büyüme faktörü (NGF, Sigma), Dimetil sülfoksit (DMSO), dimetilformamid (DMF), fosfat tamponlu salin (PBS), kollagenaz (Sigma), tripsin (Sigma), DNAaz, poli-D-lizin (PDL), laminin (Sigma) ve hücre kültürü hazırlanmasında kullanılan bütün kimyasallar araştırma saflığında malzemelerdir.

3.2. Hayvanlar

Bu tez çalışmasında, sinir hücre kültürü hazırlamak üzere 20 adet sağlıklı erişkin Spraque Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2020/2 sayılı izni ile standart koşullarda yetiştirildikleri Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. DKG nöron kültürü için hayvanlara anestezisi uygulanmamıştır. Dekapitasyon ile exitus edilen sıçanların her birinden diseksiyon mikroskobu altında ve aseptik koşullarda yaklaşık 12-13 çift DKG çıkarılmış ve bunlar kültür işlemlerine alınmıştır. Tüm prosedürler Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.3. Hücre Kültürü Hazırlanması

Hücre kültürü çalışmalarında sağlıklı erişkin Spraque Dawley cinsi sıçanların DKG'ları kullanılmıştır. Hücre izolasyon ve kültüre etme protokolü daha önce literatürde tarif edilen protokole göre uygulanmıştır (67, 68). Bütün işlemler asepti ve antisepsiye dikkat edilerek sabit hava akımlı biyogüvenlik kabiniinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 7) .



Şekil 7. Biyogüvenlik Kabini

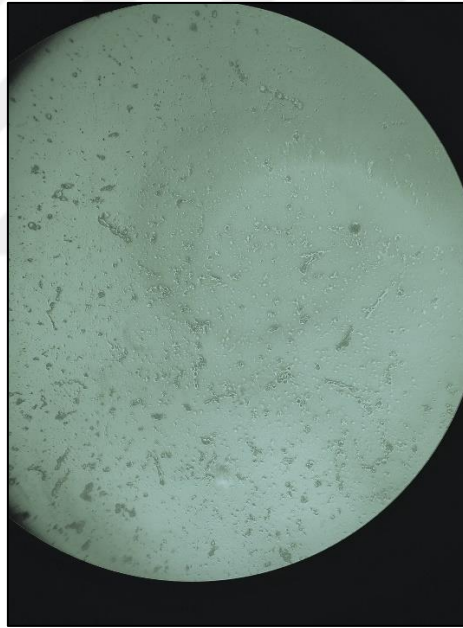
Dekapite edilmiş erişkin Spraque Dawley sıçanlarının servikal, torakal ve lomber vertebralarından DKG'ları diseke edilmiştir (Şekil 8 ve 9). DKG'ları geçici olarak kültür medyumunda (Nörobazal A (NBA), B27, glutamax ve penisilin-streptomisin içeren) toplanmıştır. Daha sonra sırasıyla 13 dakika kollagenaz (kültür ortamında, 1.25 mg/ml, Sigma), 6 dakika tripsin (PBS içinde, 2,5 mg/ml, Sigma) ile enzimatik işleme tabi tutulmuştur. Ardından DNAaz ilave edilerek ucu daraltılmış pastör pipeti aracılığı ile mekanik ayrıştırma yapılmıştır. Böylece DKG'ları enzimatik ve mekanik yöntemlerle tek hücrelere ayrıştırılmıştır (Şekil 10) .



Şekil 8. Spraque Dawley Sıçanlarının Servikal, Torakal ve Lomber Vertebraları



Şekil 9. Sprague Dawley Sıçanların Kolumna Vertebralisten Diseke Edilmiş Dorsal Kök Gangliyonları, (Sağ: Diseksiyon Mikroskobundaki Görünümleri)



Şekil 10. Ayırıştırılmış DKG Nöronlarının Işık Mikroskobundaki Görünümleri (4X, Işık Mikroskobu)

İzole edilen hücreler yüzeyi PDL ve laminin ile önceden kaplanmış 16 kuyucuklu xCELLigence elektronik mikrotitre E-plate içine kuyucuk başına 200 μ L hücre kültür süspansiyonu olacak şekilde ekilmiştir (Şekil 11). Kuyucuklara ekilen hücre kültür süspansiyonu üzerine 200 ng/ml NGF (2,5 S, Sigma) eklenmiştir. 37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ ve %95 O₂ içeren nemli bir inkübatörde (Heraus, Almanya) inkübasyona bırakılmıştır. Yaklaşık 12 saat inkübe edilip hücrelerin E-plate üzerine iyice yapışması sağlandıktan sonra deneylerde kullanılmıştır.



Şekil 11. Hücre Süspansiyonu Eklenmiş 16 Kuyucuklu E-Plate

3.4. Kimyasalların Hazırlanması

Daidzeinin 10 μM , 30 μM ve 100 μM konsantrasyonları test edilmiştir. Daidzeinin bu konsantrasyonları, DKG nöronlarında nöroproteksiyon sağladığına yönelik literatürden esinlenerek seçilmiştir (59). 100 mg Daidzein, 2 ml DMSO içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. Elde edilen stok solüsyonu DMSO ile 100 kat sulandırılarak 10 μM , 30 μM ve 100 μM daidzein konsantrasyonları için sırasıyla 1 μL , 3 μL ve 10 μL kullanılmıştır.

Mito-TEMPO'nun 30 μM , 100 μM ve 200 μM konsantrasyonları test edilmiştir. Mito-TEMPO'nun bu konsantrasyonları, DKG nöronlarında nöroproteksiyon sağladığına yönelik literatürden esinlenerek seçilmiştir (63, 68). 10 mg Mito-TEMPO, 2 ml DMSO içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. Elde edilen stok solüsyonu DMSO ile 10 kat sulandırılarak 30 μM , 100 μM ve 200 μM Mito-TEMPO konsantrasyonları için sırasıyla 6 μL , 20 μL ve 40 μL kullanılmıştır.

MnTBAP klorürün 60 μM , 100 μM ve 200 μM konsantrasyonları test edilmiştir. MnTBAP klorürün bu konsantrasyonları literatürde kortikal nöron hücre kültüründe kullanılan miktarlardan esinlenilerek seçilmiştir (70). 25 mg MnTBAP klorür, 0,5 ml DMF içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. Elde edilen stok solüsyonu NBA ile 10 kat sulandırılarak 60 μM , 100 μM ve 200 μM MnTBAP klorür konsantrasyonları için sırasıyla 2 μL , 3 μL ve 7 μL kullanılmıştır.

Paklitakselin 0,01 μM ve 1 μM konsantrasyonları test edilmiştir. Paklitakselin bu konsantrasyonları post-mitotik DKG hücrelerinde toksisitesinin değerlendirildiği literatürden esinlenilerek seçilmiştir (71). 24 mg paklitaksel, 5 ml DMSO içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. 1 μM paklitaksel konsantrasyonu için stok solüsyonu NBA ile 3 kat sulandırılarak 1 μL kullanılmıştır. 0.01 μM paklitaksel

konsantrasyonu için stok solüsyonu NBA ile 3 kat sonrasında DMSO ile 100 kat sulandırılarak 1 µL kullanılmıştır.

Sisplatinin 0,01 µM ve 0,1 µM konsantrasyonları test edilmiştir. Sisplatinin bu konsantrasyonları antineoplastiklerin klinik kullanımdaki dozlarının, klinik olmayan deneysel çalışmalarda kullanımını değerlendiren literatürden esinlenilerek seçilmiştir (72). 5 µg sisplatin 800 µL DMSO ve 800 µL NBA içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. 0,1 µM sisplatin konsantrasyonu için stok solüsyonundan 2 µL kullanılmıştır. 0,01 µM sisplatin konsantrasyonu için stok solüsyonu NBA ile 10 kat sulandırılarak 2 µL kullanılmıştır.

Vinkristinin 0,01 µM ve 1 µM konsantrasyonları test edilmiştir. Vinkristinin bu konsantrasyonları antineoplastiklerin klinik kullanımdaki dozlarının, klinik olmayan deneysel çalışmalarda kullanımını değerlendiren literatürden esinlenilerek seçilmiştir (72). 100 µg vinkristin, 1200 µL NBA içinde çözülerek stok solüsyonu oluşturulmuştur. 1 µM vinkristin konsantrasyonu için stok solüsyonundan 2 µL kullanılmıştır. 0,01 µM vinkristin konsantrasyonu için stok solüsyonu NBA ile 10 kat sulandırılarak 2 µL kullanılmıştır.

3.5. xCELLigence Gerçek Zamanlı Hücre Analizi (RTCA) Sistemi ile Nörotoksisite Analizi

Hücre kültür solüsyonu, antioksidanlar ve antineoplastikler xCELLigence RTCA testi için yukarıda açıklandığı gibi hazırlanmıştır. Empedans arka plan ölçümü için her bir kuyucuğa 200 µL hücre kültür solüsyonu ilave edilmiştir. Antioksidanlar ve antineoplastikler eklenmeden önce 12 saat boyunca 15 dakika zaman aralıklarında kuyucukların arka plan ölçümleri kaydedilmiştir. 12 saatin sonunda her bir kuyucuğa 10 µL NGF ilave edilmiştir. Sonrasında antineoplastikler (sisplatin, paklitaksel, vinkristin) ve antioksidanlar (daidzein, MnTBAP klorür, Mito-TEMPO) yukarıda belirtilen dozların kombinasyonları halinde ve eş zamanlı olarak kuyucuklara eklenmiştir (Tablo 4). Kuyuculardaki toplam hacim NBA ile 260 µL'ye tamamlanmıştır. E-plate 37°C sıcaklıkta, %5 CO₂ ve %95 O₂ içeren inkübatördeki RTCA istasyonuna koyulmuştur. Empedans değerleri 24 saate kadar 15 dakikalık zaman aralıklarında RTCA sisteminde izlenmiştir.

Tablo 4. Deneyin Tasarımı

		Kontrol	Sisplatin		Paklitaksel		Vinkristin	
			0,01 μ M	0,1 μ M	0,01 μ M	1 μ M	0,01 μ M	1 μ M
Kontrol								
Daidzein	10 μ M							
	30 μ M							
	100 μ M							
MnTBAP Klorür	60 μ M							
	100 μ M							
	200 μ M							
Mito-TEMPO	30 μ M							
	100 μ M							
	200 μ M							

3.6. İstatistiksel Analiz

Her bir deney 3 farklı (birbirinden bağımsız hayvandan izole edilen) kültür içeren E-plate ile tekrarlanmıştır. Verilerin toplanması 24 saatlik süre boyunca RTCA Software 2.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Veriler OriginPro 2022b yazılım programı (Originlab Corporation, Inc., One Roundhouse Plaza, Northhampton, MA 01060) kullanılarak kontrole ve birbirlerine göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı/nöropati, RTCA sisteminde otomatik ölçülerek sayısal veri ve grafik olarak sunulan "hücre indeksi" parametresi üzerinden değerlendirilmiştir. Farklı kimyasalların nöropati üzerine etkisinin değerlendirilmesi, hücre indeksi değeri-zaman eğrisi grafiği çizilerek bu grafikte eğri altında kalan alan hesaplanarak, bunların ortalamalarının karşılaştırılması şeklinde gerçekleştirilmiştir. 24 saatlik hücre indeksi takip döneminde her 15 dakikada bir elde edilen hücre indeksi verileri ölçüm zamanları bağlamında karşılaştırılmamış, bu verilerin toplamı kullanılarak elde edilen eğriyi altında kalan alan (Microgal Origin programı yardımı ile bu alan dijital olarak ölçülmüştür) değerleri kullanılarak karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem benzer protokoller için literatürde daha önce önerilmiş bir yaklaşımdır (73). Eğri altında kalan alan değerlerinin karşılaştırılması tek yönlü ANOVA ve ardından post hoc Tukey testi ile yapılmıştır. Tüm değerler ortalama $\pm$

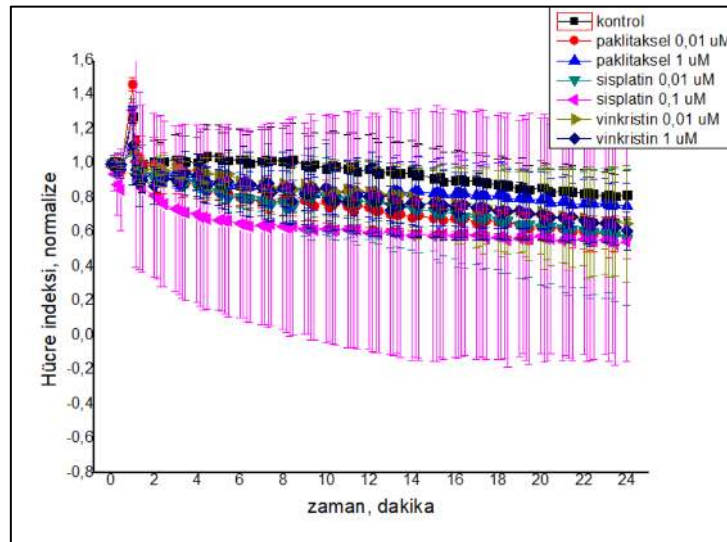
standart sapma olarak ifade edilmiştir. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

Bu çalışmada, hücre kültürlerinin yapımında erişkin Sprague Dawley cinsi sıçanların DKG nöronları kullanılmıştır. Her bir deney birbirinden bağımsız hayvandan elde edilen 3 farklı hücre kültüründe tekrarlanmıştır. E-platelere hazırlanan hücre kültür solüsyonu eklenmiş ve sonrasında 12 saat boyunca 15 dakika zaman aralıklarıyla kuyucukların arka plan ölçümleri xCELLigence RTCA sistemi ile kaydedilmiştir. 12. saatin sonunda antineoplastikler (sisplatin, paklitaksel, vinkristin) ve antioksidanlar (daidzein, MnTBAP klorür, Mito-TEMPO) yukarıda belirtilen dozların kombinasyonları halinde ve eş zamanlı olarak kuyucuklara eklenmiştir. Hücre indeksi değerleri 24 saate kadar 15 dakikalık zaman aralıklarında xCELLigence RTCA sisteminde izlenmiştir.

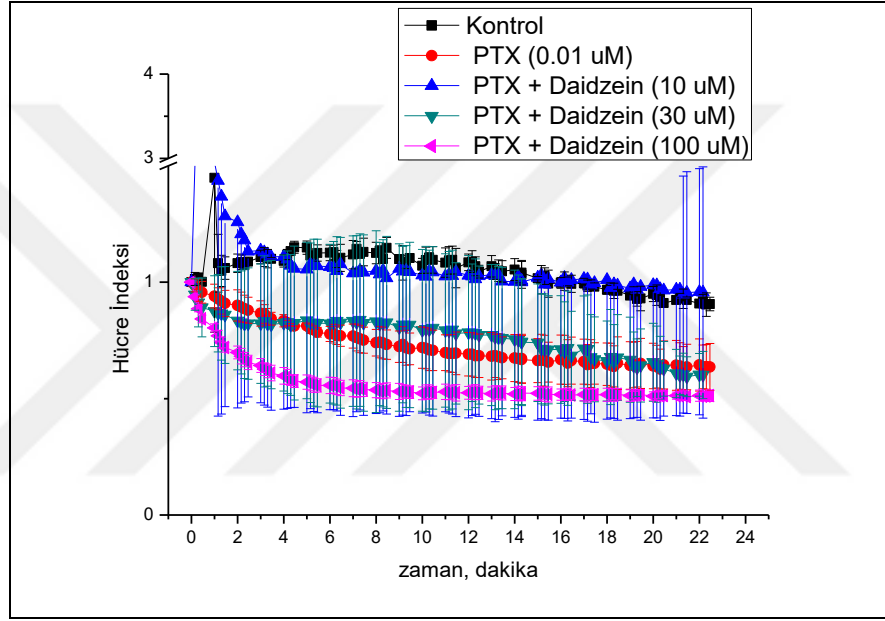
24. saatin sonunda sadece antineoplastik ajan (sisplatin 0,01 μ M, 0,1 μ M; paklitaksel 0,01 μ M, 1 μ M; vinkristin 0,01 μ M, 1 μ M) eklenen kuyucukların tamamında hücre indeksi değerlerinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptanmıştır. Antineoplastiklerin kullanılan dozlarının tamamının istatistiksel olarak anlamlı nörotoksik etki oluşturduğu görülmüştür (sırasıyla $p:0,00501$, $p:0,00161$, $p:0,00514$, $p:0,02605$, $p:0,00644$, $p:0,00667$) (Şekil 12). Gelişen nörotoksisitenin şiddetinde antineoplastik ajanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 12. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Antineoplastiklerin Etkileri

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirilmiştir.

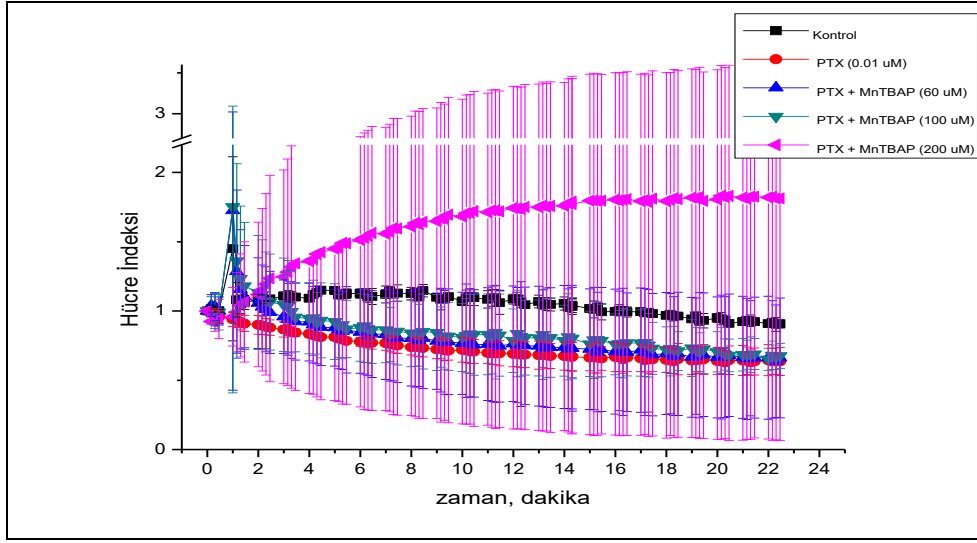
Kuyucuklara 0,01 μM paklitaksel varlığında uygulanan daidzeinin 10 μM , 30 μM ve 100 μM dozları paklitaksel ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Daidzeinin 10 μM ve 30 μM dozları hücre indeksi değerlerinde artışa yol açsa da bu artış sadece 0,01 μM paklitaksel uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μM paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 13).



Şekil 13. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 μM) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirilmiştir ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, Tukey testi).

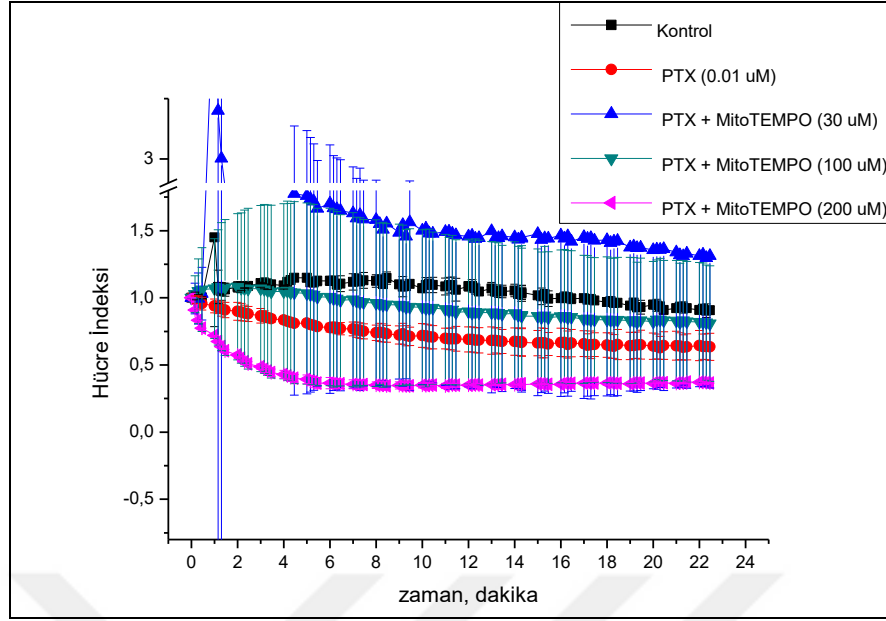
0,01 μM paklitaksel sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μM , 100 μM ve 200 μM dozları paklitakselin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. MnTBAP klorürün uygulanan tüm dozları kuyuculardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamıştır. Ancak bu durum 0,01 μM paklitaksel uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. MnTBAP klorürün kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μM paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 14).



Şekil 14. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 µM) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

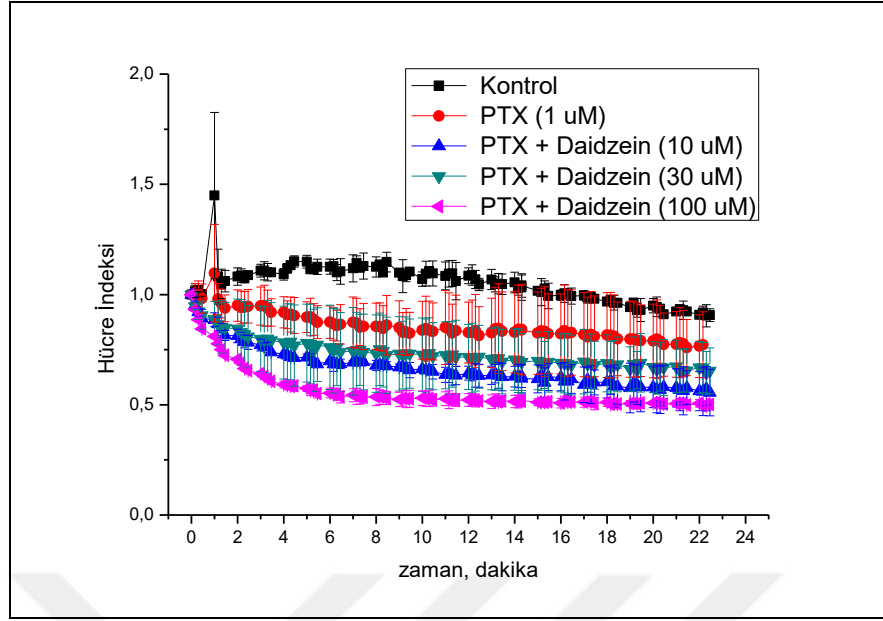
0,01 µM paklitaksel varlığında kuyucuklara uygulanan Mito-TEMPO'nun 30 µM, 100 µM ve 200 µM dozları paklitaksel sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Mito-TEMPO'nun 30 µM ve 100 µM dozları hücre indeksi değerlerinde 0,01 µM paklitaksel uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerlerine göre artış sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Mito-TEMPO'nun kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 µM paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 15).



Şekil 15. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Paklitakselin (0,01 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

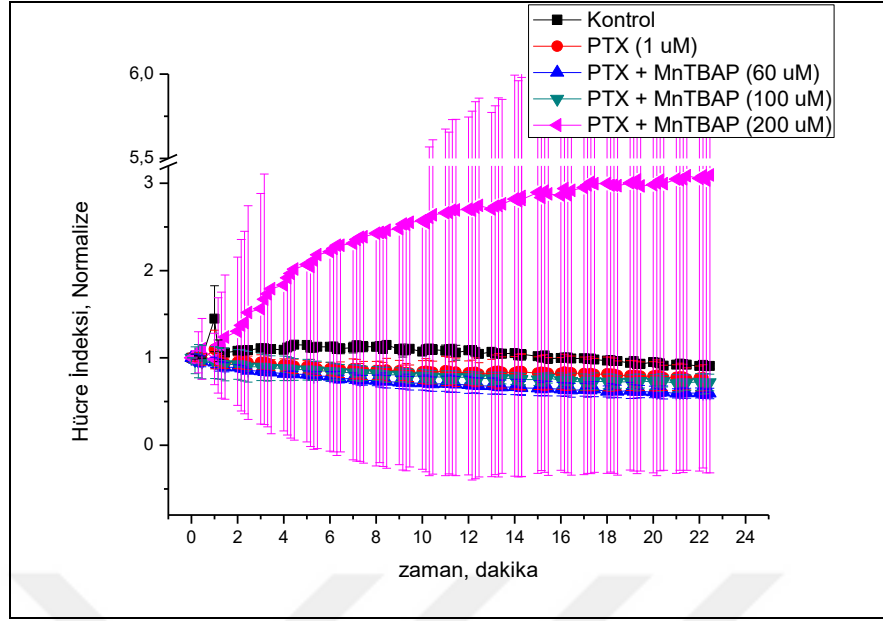
Kuyucuklara 1 μ M paklitaksel varlığında uygulanan daidzeinin 10 μ M, 30 μ M ve 100 μ M dozları paklitaksel ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Uygulanan daidzein dozları hücre indeksi değerlerinde artış sağlamamıştır. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbirisi 1 μ M paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 16).



Şekil 16. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, Tukey testi).

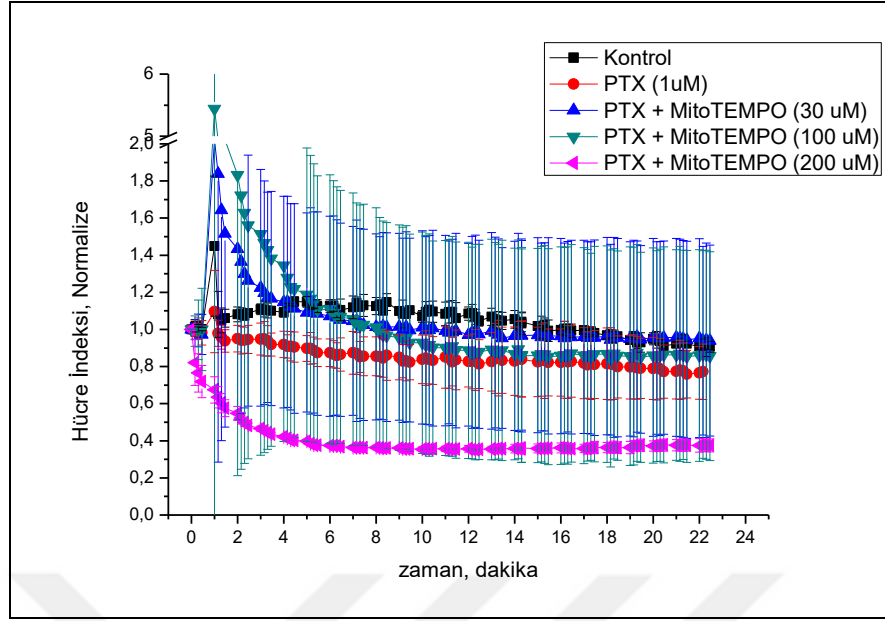
1 uM paklitaksel sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları paklitakselin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. MnTBAP klorürün 200 μ M dozu hücre indeksi değerlerinde artış sağlamıştır. Ancak bu durum 1 μ M paklitaksel uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. MnTBAP klorürün kullanılan dozlarının hiçbirisi 1 μ M paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 17).



Şekil 17. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

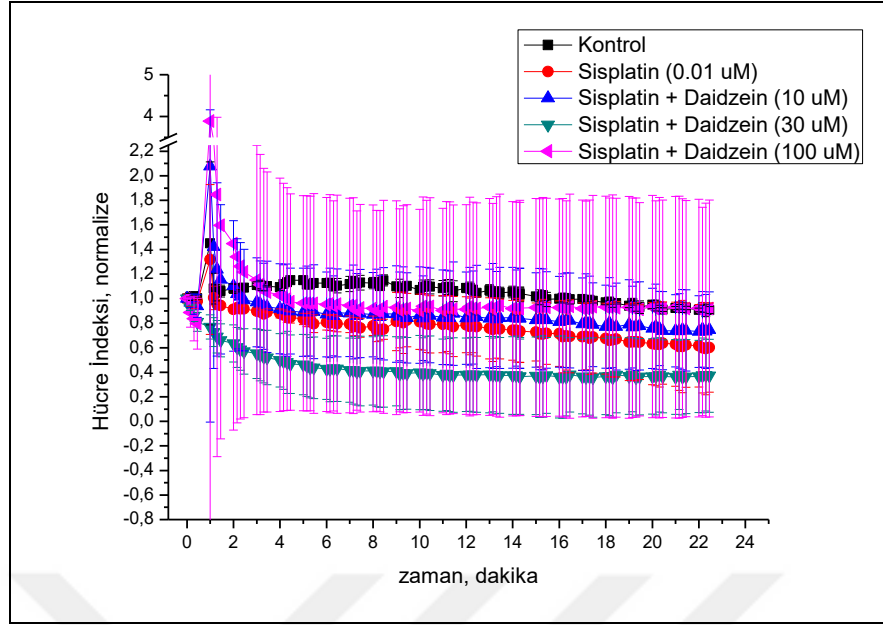
1 μ M paklitaksel varlığında kuyucuklara uygulanan Mito-TEMPO'nun 30 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları paklitaksel sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Mito-TEMPO'nun 30 μ M ve 100 μ M dozları hücre indeksi değerlerinde 1 μ M paklitaksel uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerlerine göre artış sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Mito-TEMPO'nun kullanılan dozlarının hiçbirisi 1 μ M paklitaksel dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 18).



Şekil 18. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Paklitakselin (1 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

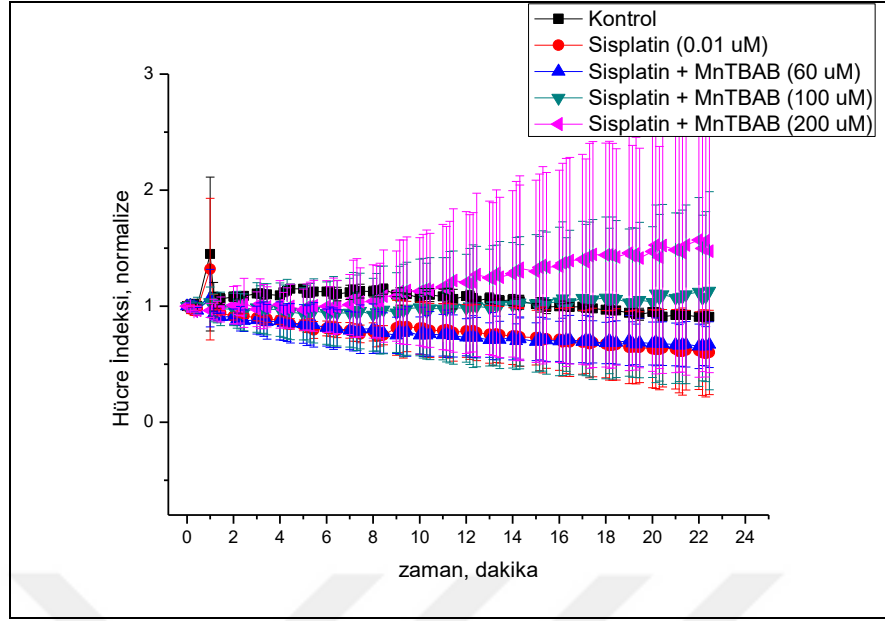
Kuyucuklara 0,01 μ M sisplatin varlığında uygulanan daidzeinin 10 μ M, 30 μ M ve 100 μ M dozları sisplatin ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Daidzeinin 10 μ M ve 100 μ M dozları hücre indeksi değerlerinde artışa yol açsa da bu artış sadece 0,01 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 19).



Şekil 19. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi)

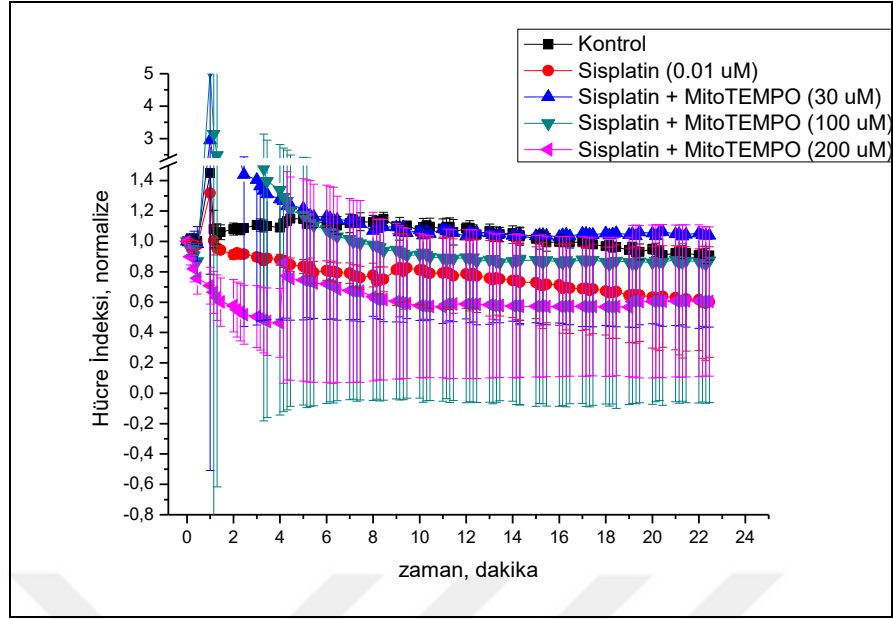
0,01 μ M sisplatin sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları sisplatinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. MnTBAP klorürün 100 μ M ve 200 μ M dozları kuyuculardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamıştır. Ancak bu durum 0,01 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. MnTBAP klorürün kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 20).



Şekil 20. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

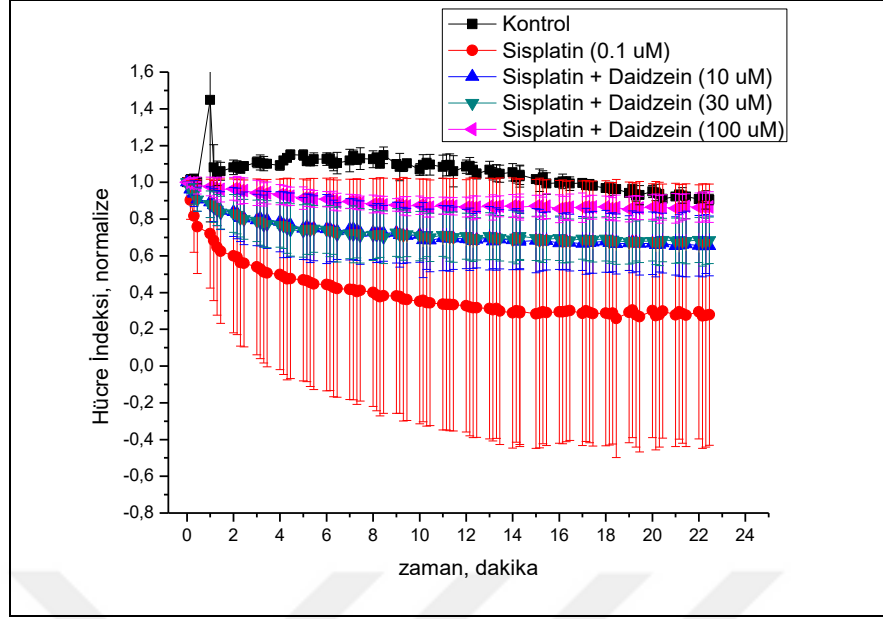
0,01 μ M sisplatin varlığında kuyucuklara uygulanan Mito-TEMPO'nun 30 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları sisplatin sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Mito-TEMPO'nun 30 μ M ve 100 μ M dozları hücre indeksi değerlerinde 0,01 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerlerine göre artış sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Mito-TEMPO'nun kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 21).



Şekil 21. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Sisplatinin (0,01 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

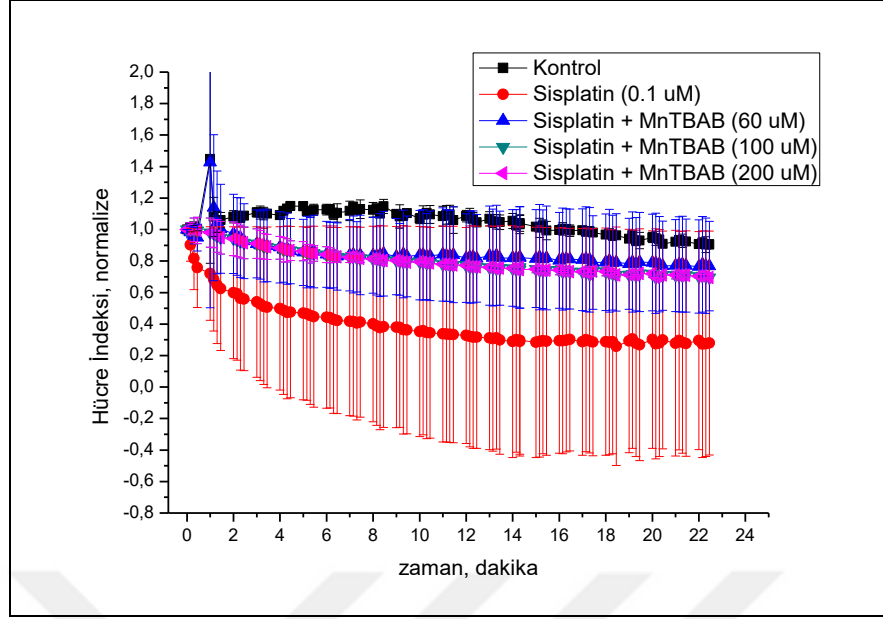
Kuyucuklara 0,1 μ M sisplatin varlığında uygulanan daidzeinin 10 μ M, 30 μ M ve 100 μ M dozları sisplatin ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Daidzeinin kullanılan tüm dozları hücre indeksi değerlerinde artışa yol açsa da bu artış sadece 0,1 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbiri 0,1 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 22).



Şekil 22. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve Daidzeinin ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

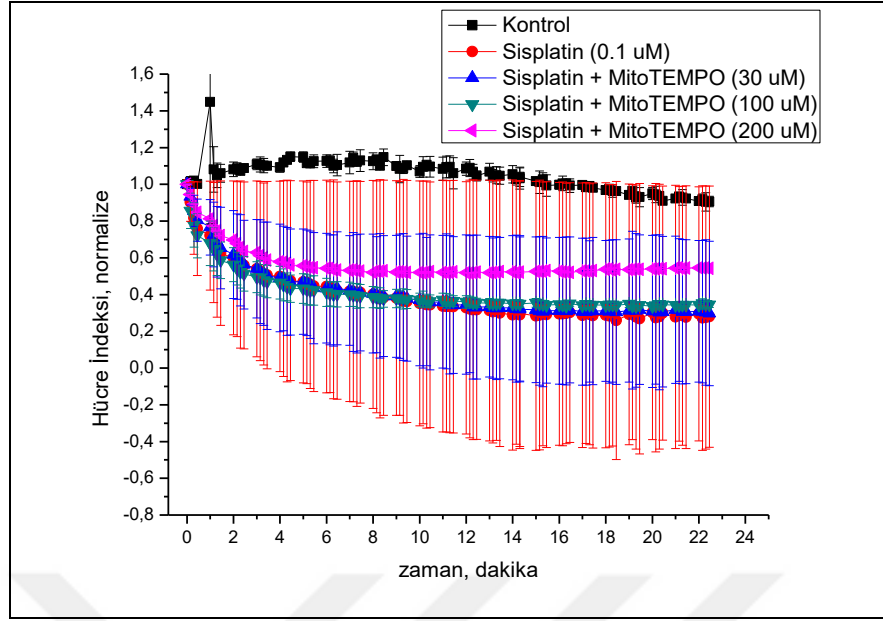
0,1 μ M sisplatin sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları sisplatinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. MnTBAP klorürün tüm dozları kuyuculardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamıştır. Ancak bu durum 0,1 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. MnTBAP klorürün kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,1 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 23).



Şekil 23. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

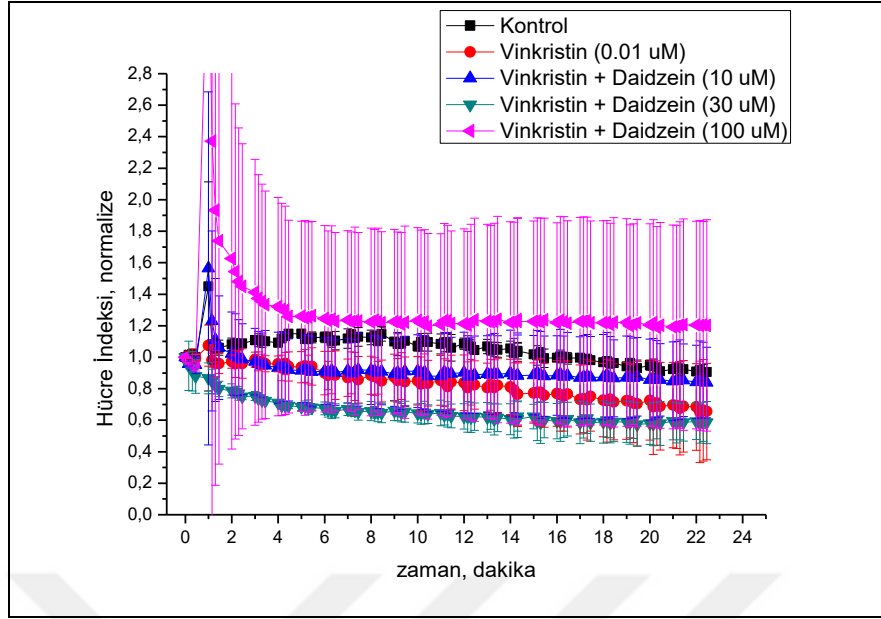
0,1 μ M sisplatin varlığında kuyucuklara uygulanan Mito-TEMPO'nun 30 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları sisplatin sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Mito-TEMPO'nun kullanılan tüm dozları hücre indeksi değerlerinde 0,1 μ M sisplatin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerlerine göre artış sağlasa da istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Mito-TEMPO'nun kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,1 μ M sisplatin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 24).



Şekil 24. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Sisplatinin (0,1 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

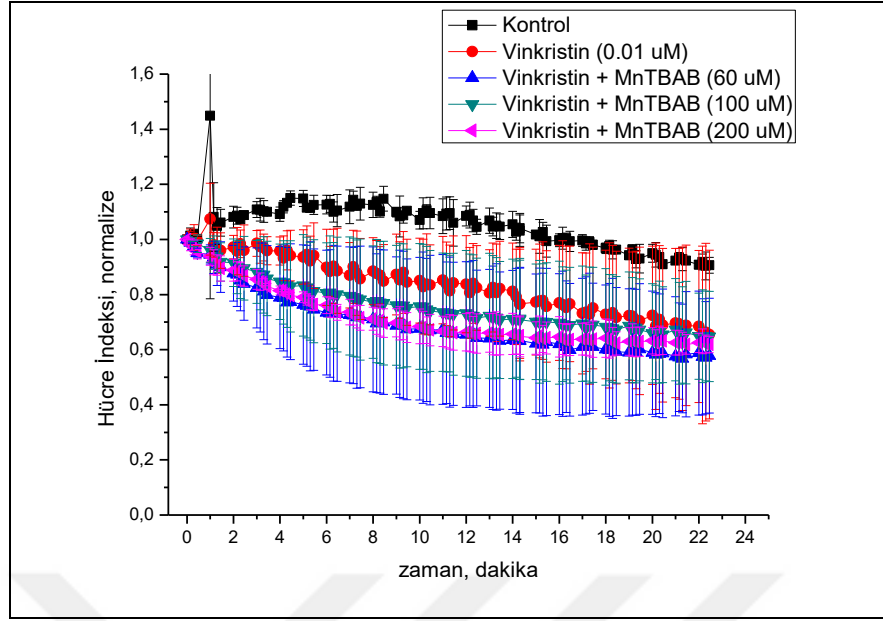
Kuyucuklara 0,01 μ M vinkristin varlığında uygulanan daidzeinin 10 μ M, 30 μ M ve 100 μ M dozları vinkristin ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Daidzeinin 10 μ M ve 100 μ M dozları hücre indeksi değerlerinde artışa yol açsa da bu artış sadece 0,01 μ M vinkristin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M vinkristin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 25).



Şekil 25. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Vinkristinin (0,01 μ M) Etkisi ve Daidzein ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

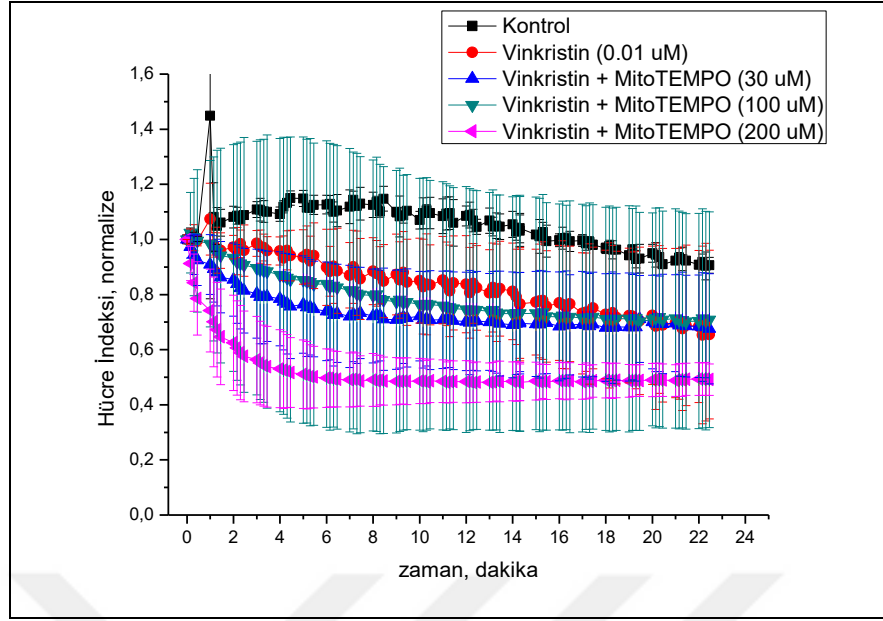
0,01 μ M vinkristin sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları vinkristinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Uygulanan MnTBAP klorür dozları kuyuculardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamamıştır. MnTBAP klorürün kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M vinkristin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 26).



Şekil 26. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Vinkristinin (0,01 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

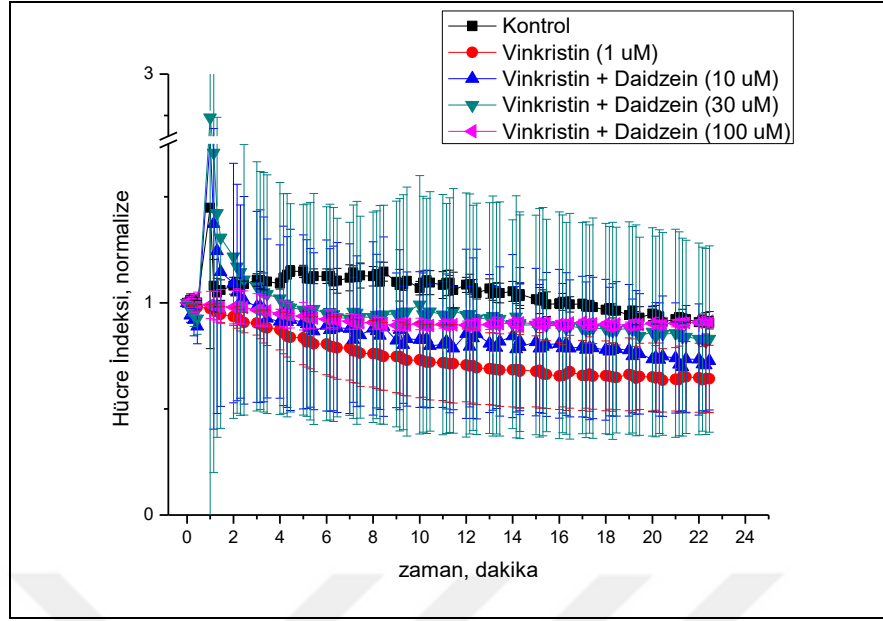
0,01 μ M vinkristin varlığında kuyucuklara uygulanan Mito-TEMPO'nun 30 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları vinkristin sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede önleyememiştir. Uygulanan Mito-TEMPO dozları hücre indeksi değerlerinde artış sağlamamıştır. Mito-TEMPO'nun kullanılan dozlarının hiçbirisi 0,01 μ M vinkristin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 27).



Şekil 27. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Düşük Doz Vinkristinin (0,01 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

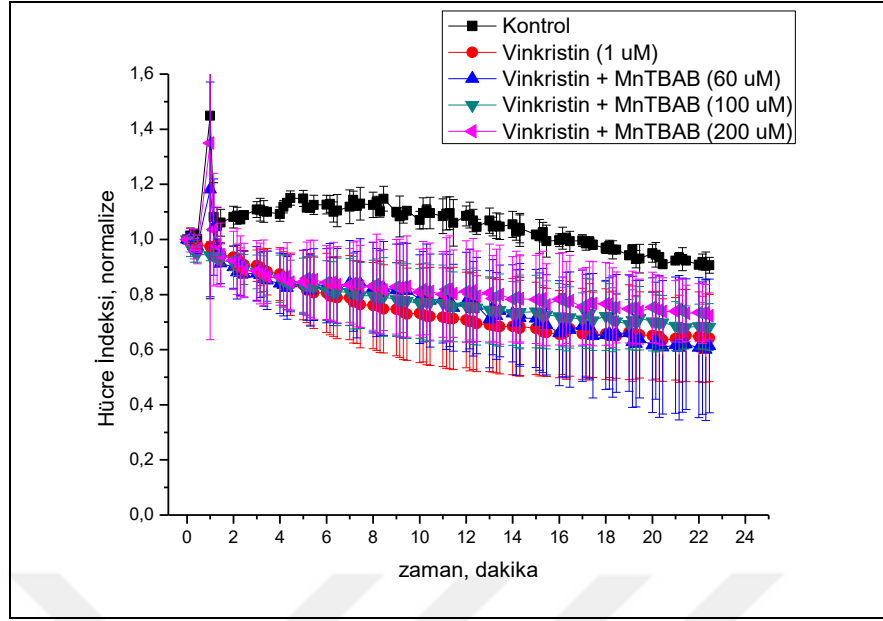
Kuyucuklara 1 μ M vinkristin varlığında uygulanan daidzeinin 10 μ M, 30 μ M ve 100 μ M dozları vinkristin ile tetiklenen hücre indeksi düşüşünü anlamlı derecede önleyememiştir. Uygulanan daidzein dozları hücre indeksi değerlerinde artışa yol açsa da bu artış sadece 1 μ M vinkristin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Daidzeinin kullanılan dozlarının hiçbirisi 1 μ M vinkristin dozuna karşı nöronlarda istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etki oluşturmamıştır (Şekil 28).



Şekil 28. Duyusal Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Vinkristinin (1 μ M) Etkisi ve daidzeinin ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi ($p > 0.05$ her karşılaştırma için, tek yönlü ANOVA, takiben Tukey testi).

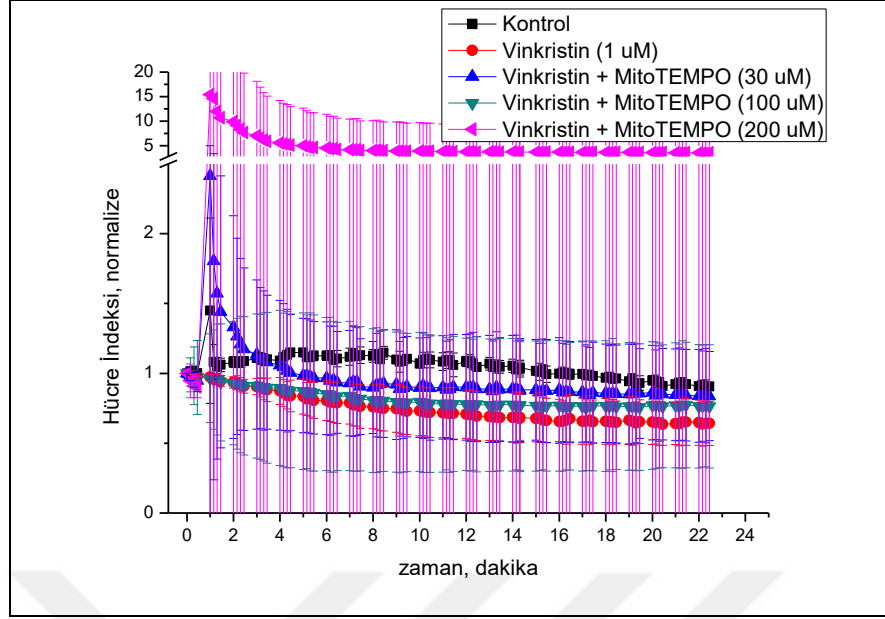
1 μ M vinkristin sonrası kuyucuklara eklenen MnTBAP klorürün 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M dozları kuyuculardaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamış ve vinkristinin neden olduğu hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır (sırasıyla $p:0,01008$, $p:0,03386$, $p:0,03115$). MnTBAP klorürün kullanılan tüm dozları 1 μ M vinkristin dozunun neden olduğu nörotoksisiteyi tamamen önleyemeseler de şiddetinin azalmasında etkili olmuştur. Dozlar arasında koruyucu etkinlik bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil 29).



Şekil 29. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Vinkristinin (1 μ M) Etkisi ve MnTBAP klorür ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi.

1 μ M vinkristin varlığında kuyucuğa uygulanan Mito-TEMPO'nun 200 μ M dozu kuyucuktaki hücre indeksi değerlerinde artış sağlamış ve vinkristin sonrası gelişen hücre indeksi düşüşünü istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır ($p:0,0378$). Mito-TEMPO'nun uygulanan 30 μ M ve 100 μ M dozları hücre indeksi değerlerinde artış sağlasa da 1 μ M vinkristin uygulanan kuyucuğun hücre indeksi değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir ($p>0,05$). Mito-TEMPO'nun sadece 200 μ M dozu 1 μ M vinkristin dozunun neden olduğu nörotoksisiteyi tamamen önleyemese de şiddetinin azalmasında etkili olmuştur (Şekil 30).



Şekil 30. Duyusal Nöronlarda Hücre İndeksi Üzerine Yüksek Doz Vinkristinin (1 μ M) Etkisi ve Mito-TEMPO ile Önlenebilirliğinin Zaman Bağımlı İncelenmesi

Not: Her bir trase 3 farklı deney ortalamasını ($\pm$ standart sapma) göstermektedir. Karşılaştırma, her bir ilaç için grafik eğrisi (hücre indeksi-zaman) altında kalan alanların hesaplanması üzerinden gerçekleştirildi.

5. TARTIŞMA

KTPN, kanser tedavisinde kullanılan birçok antineoplastik ajanın neden olduğu yaygın ve zorlu bir komplikasyondur (1, 2). Artan kanser insidansı, kanser tedavisi verilme oranları ve tedavi sonrası sağ kalım KTPN prevalansının giderek artmasına katkıda bulunmaktadır (2). Tedavi sırasında ortaya çıkabileceği gibi kemoterapi rejimi bittikten aylar sonra da görülebilmektedir. Şiddetli semptomları olan hastalarda kemoterapi dozunun azaltılmasına hatta tedavinin kesilmesine neden olabilen, bu nedenle de tedavinin etkinliğini ve sağ kalımı olumsuz yönde etkileyen, hastanın yaşam kalitesini önemli ölçüde bozan ciddi bir yan etkidir (2). Günümüzde KTPN'nin önlenmesinde ve/veya tedavisinde kullanılan etkili bir yöntem bulunmamaktadır. Tedavi amacıyla kullanımı kanıtlanmış tek ajan duloksetindir (2, 3). Altta yatan mekanizmaları hedefleyerek KTPN gelişimini potansiyel olarak değiştirebilecek ajanları inceleyen bir dizi çalışma olsa da herhangi bir spesifik ajanı önermek için literatürde yeterli kanıt bulunmamaktadır (2, 49, 50, 74). Bu durum KTPN'nin önlenmesi ve tedavisinde yeni stratejiler geliştirmek amacıyla daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında; KTPN'nin patofizyolojisi dikkate alındığında, bu yan etkinin önlenmesinde hücre penetrasyonu yüksek ve mitokondri hedefli antioksidanların etkileri incelenmiştir. Daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun etki mekanizması ve potansiyeli bakımından KTPN'ye karşı etkili olabileceği düşünülmüştür. Antioksidanların önleyici potansiyelleri DKG nöron kültürü modelinde test edilmiştir. KTPN'ye neden olma riskinin yüksek olduğu bilinen sisplatin, vinkristin ve paklitaksel DKG nöron kültüründe nörotoksisite oluşturulması amacıyla kullanılmıştır (1, 3). Nörotoksisite analizinde xCELLigence RTCA sistemi kullanılmıştır.

Daidzein hücre içi östrojen reseptörlerine bağlanarak etki gösteren bir fitoöstrojendir (59). Daidzeinin; hipokampal nöronlar, kortikal nöronlar, DKG nöronları gibi çeşitli hücrelerde önemli nöronal koruma ve nörotrofik etkileri olduğu bilinmektedir (59, 75–77). Ma ve arkadaşlarının inme ve omurilik yaralanmalarında tedavi stratejisi geliştirmek amacıyla DKG nöron kültüründe yaptıkları çalışmalarında daidzeinin 30 μ M ve 40 μ M dozlarının arginaz aktivitesini arttırarak miyelin ilişkili

glikoprotein inhibisyonunu engellediği ve böylece nöron büyümesini ve akson uzamasını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (76). Yang ve arkadaşlarının daidzeinin DKG nöron kültüründeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, daidzeinin DKG nöronları için toksik etkisinin olmadığı; DMSO eklenen gruba kıyasla daidzeinin 10 μ M, 30 μ M, 50 μ M ve 100 μ M dozlarının akson uzunluğu ve nöron başına toplam dendrit sayısını anlamlı derecede arttırdığı gösterilmiştir (59). Daidzeinin nöron hücrelerinde meydana getirdiği etkileri değerlendirmek amacıyla yapılmış birçok çalışma olmasına rağmen KTPN gelişiminin önlenmesi ya da geri döndürülmesine yönelik yapılmış bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu tez çalışmasında daidzeinin DKG nöron kültüründeki etkileri dikkate alınarak KTPN üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

MnTBAP klorür süperoksit dismutaz ve katalaz benzeri aktiviteye sahip, düşük molekül ağırlıklı bir moleküldür (61). Akciğer üzerinde yaygın koruyucu etkileri vardır (62, 78). Oury ve arkadaşlarının bleomisin verilen fareler üzerinde yapıkları çalışmalarında bleomisine bağlı akciğer fibrozisini %30 oranında azalttığı gösterilmiştir (62). Oksijen kaynaklı retinopatide oksidatif stresin önlenmesinde de etkilidir (63). Ayrıca sıçan serebral hemisferlerinden hazırlanan karışık nöronal ve glial hücre kültüründe ROS birikimini engelleyerek nöroprotektif etki yaptığı gösterilmiştir (70). KTPN patofizyolojinde oksidatif stres ve mitokondriyal antioksidan mekanizmaların rolü dikkate alındığında MnTBAP klorürün KTPN gelişimini önleme/geri döndürmede etkili olabileceği düşünülmüş ve bu çalışmada KTPN üzerine etkileri in vitro olarak incelenmiştir. Literatürde DKG nöron kültüründe MnTBAP klorürün KTPN üzerindeki etkilerinin incelendiği benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Mito-TEMPO mitokondriyi hedef alan ve süperoksiti temizleyerek mitokondriyi koruyan, bir trifenilfosforyum kısmı ile konjuge nitroksittir (66). Hipertansiyon gelişimi, ateroskleroz, diyabet, yaşlanma, ani kardiyak ölüm gibi birçok patolojik durumda mitokondriyal kaynaklı süperoksiti temizleyerek oksidatif stres hasarına karşı hücreleri koruduğu göstermiştir (79, 80). Liang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Mito-TEMPO'nun domuz proksimal tübül epitel hücresi kültüründe mitokondriyal bütünlüğü koruduğu, hücrenin nekroz ve apoptozunu azalttığını gösterilmiştir (65). Ayrıca Mito-TEMPO'nun yetişkin erkek Sprague-

Dawley sıçanlarında nöropatik ağrıyı azalttığı da gösterilmiştir (66). Mito-TEMPO'nun oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinden yola çıkarak yapılan birçok çalışma olmasına rağmen KTPN üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Etki mekanizması ve literatürdeki çalışmalar dikkate alındığında Mito-TEMPO'nun KTPN'nin önlenmesi/geri döndürülmesinde etkili olabileceği düşünülmüş ve bu çalışmada kullanılmıştır.

KTPN'ye neden olan antineoplastikler arasında platin bileşikleri en yaygın kullanılan ajanlardır. Sisplatin bu grubun en sık kullanılan üyesidir (14). DKG nöronlarında sisplatinin ROS üretimini arttırarak, mtDNA 'da hasara neden olarak ve DNA'da eklentiler oluşturarak hücre apoptozunu indüklediği ve KTPN gelişimine neden olduğu bilinmektedir (44). Bu çalışmada da 12 saatlik arka plan ölçümü sonrası DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara 0,1 μ M ve 0,01 μ M sisplatin eklendiğinin ve 24 saat boyunca 15 dakika zaman aralıklarıyla hücre indeksi değerleri kaydedilmiştir. Hücre indeksi değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatinin her iki dozunun da literatürde belirtildiği gibi (44, 72) nörotoksisite gelişimine eden olduğu görülmüştür. İki dozun neden olduğu nörotoksisitenin şiddeti arasında bir fark bulunmamıştır.

DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara sisplatin (0,1 μ M, 0,01 μ M) ile eş zamanlı olarak ve farklı kombinasyonlar şeklinde daidzein (10 μ M, 30 μ M, 100 μ M), MnTBAP klorür (60 μ M, 100 μ M, 200 μ M) ve Mito-TEMPO (30 μ M, 100 μ M, 200 μ M) eklenmiştir. Her üç antioksidanında kullanılan tüm dozları sisplatin ile gelişen hücre indeksi değerlerindeki düşüşünü önleyememiştir. Kullanılan antioksidanlar sisplatin sonrası gelişen nörotoksisite şiddetinde herhangi bir azalma sağlamamıştır. Daha önce yapılan birçok çalışmada; daidzeinin DKG nöron kültüründe nöroprotektif etkilerinin olduğu (59, 75–77), MnTBAP klorürün nöronlarda ROS birikimini engelleyerek nöroprotektif etki yaptığı (70), Mito-TEMPO'nun süperoksit radikallerini temizleyerek oksidatif hasara karşı nöronları koruduğu (65, 79, 80) gösterilmiştir. Ancak bu tez çalışmasında sisplatin ile tetiklenen nöropati üzerinde benzer sonuçlar elde edilememiştir. Literatürde bu antioksidanların KTPN üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmaların olmaması da dikkate alındığında bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Taksanlar; akciğer, over ve meme kanserleri gibi birçok solid organ malignitesinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan mikrotübül stabilize edici ajanlardır. Taksanların üyesi olan paklitakselin başlıca yan etkilerinden biri; geri dönüşü olmayan, uzun süreli olabilen, doz sınırlayıcı periferik ve ağırlı nöropatinin gelişmesidir (81, 82). Bu çalışmada DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara 0,01 μ M ve 1 μ M paklitaksel eklendikten sonra 24 saat boyunca 15 dakikalık zaman aralıklarıyla hücre indeksi değerleri ölçülerek paklitakselin nörotoksitesisi değerlendirilmiştir. Paklitaksel 0,01 μ M ve 1 μ M dozu eklenen kuyucukların hücre indeksi değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kullanılan iki dozunda literatürde belirtildiği gibi (71, 72) nörotoksitesite gelişimine neden olduğu görülmüştür. İki dozun neden olduğu nörotoksitesinin şiddeti arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara paklitaksel (0,1 μ M, 0,01 μ M) ile eş zamanlı olarak ve farklı kombinasyonlar şeklinde daidzein (10 μ M, 30 μ M, 100 μ M), MnTBAP klorür (60 μ M, 100 μ M, 200 μ M) ve Mito-TEMPO (30 μ M, 100 μ M, 200 μ M) eklenmiştir. Her üç antioksidanında kullanılan tüm dozları paklitakselin neden olduğu hücre indeksi değerlerindeki düşüşün önlenmesinde etkili olmamıştır. Kullanılan antioksidanlar paklitaksel sonrası gelişen nörotoksitesite şiddetinde herhangi bir azalma sağlamamıştır. Daha önce yapılan DKG nöron kültürü çalışmalarında daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun nöroprotektif etkili olduğu görülmesine rağmen (59, 65, 75-77, 79, 80) çalışmamızda benzer sonuçlar bulunmamıştır. Bu durumun antineoplastik ajanların nöronlarda oluşturduğu şiddetli nörodejeneratif etkiye bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Vinkristin mikrotübül oluşumunu bozarak antineoplastik etki gösteren bir ajandır. Vinka alkaloid grubunun bilinen en nörotoksik üyesidir (83). Bu çalışmada DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara 0,01 μ M ve 1 μ M vinkristin eklendikten sonra 24 saat boyunca 15 dakikalık zaman aralıklarıyla hücre indeksi değerleri ölçülerek vinkristin nörotoksitesisi değerlendirilmiştir. Vinkristin 0,01 μ M ve 1 μ M dozu eklenen kuyucukların hücre indeksi değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kullanılan iki dozunda literatürde belirtildiği gibi (72, 83) nörotoksitesite gelişimine neden olduğu görülmüştür. İki dozun neden olduğu nörotoksitesinin şiddeti arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

DKG nöron kültürü ekili kuyucuklara vinkristin (0,1 μ M, 0,01 μ M) ile eş zamanlı olarak ve farklı kombinasyonlar şeklinde daidzein (10 μ M, 30 μ M, 100 μ M), MnTBAP klorür (60 μ M, 100 μ M, 200 μ M) ve Mito-TEMPO (30 μ M, 100 μ M, 200 μ M) eklenmiştir. Üç antioksidanında kullanılan tüm dozları 0,01 μ M vinkristinin neden olduğu hücre indeksi değerlerindeki düşüşün önlenmesinde etkili olmamıştır. 1 μ M vinkristin ile eş zamanlı olarak kuyucuklara uygulanan 200 μ M Mito-TEMPO hücre indeksi değerlerinde anlamlı derecede artış sağlayarak vinkristin ile oluşan hücre indeksi düşüşünü azaltmıştır. Benzer şekilde 1 μ M vinkristin ile eş zamanlı olarak kuyucuklara uygulanan 60 μ M, 100 μ M ve 200 μ M MnTBAP klorür hücre indeksi değerlerinde anlamlı derecede artış sağlayarak vinkristin ile tetiklenen nörotoksisitenin şiddetinde azalma sağlamıştır. Bu sonucun ortaya çıkmasında MnTBAP klorürün nöronlarda ROS birikimini engelleyici etkisinin ve Mito-TEMPO'nun süperoksit radikalini temizleyerek oksidatif stresi azaltmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Literatürde MnTBAP klorürün antioksidan etkisiyle özellikle akciğer parankim hücreleri ve nöronlarda koruyucu etkisinin olduğunu (62, 63, 70, 78), Mito-TEMPO'nun nöropatik ağrıyı azaltıcı etkisinin olduğunu (65, 66) gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında da MnTBAP klorürün ve Mito-TEMPO'nun 1 μ M vinkristin ile muamele edilmiş DKG nöron kültüründe literatürdekine benzer etkiler gösterdiği bulunmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında mitokondri hedefli, hücre penetrasyonu yüksek, daha önce bu amaçla test edilmemiş antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun KTPN üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Erişkin sıçanların DKG duyusal nöronlarından elde edilen hücre kültürlerine kanser tedavisinde kullanılan sisplatin, paklitaksel, vinkristin ve mitokondri hedefli antioksidanlar olan daidzein, MnTBAP klorür, Mito-TEMPO farklı doz kombinasyonları halinde ve eş zamanlı uygulanarak nöropati gelişimi (hücre canlılığı üzerinden) incelenmiştir.

- Antineoplastiklerin kullanılan dozlarının tamamının nörotoksik etki oluşturduğu görülmüştür. Gelişen nörotoksisitenin şiddetinde antineoplastik ajanlar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.
- Her üç antioksidanın da kullanılan tüm dozları sisplatin ve paklitakselin neden olduğu nörotoksisite şiddetinde azalma sağlamamıştır.
- Her üç antioksidanın da kullanılan tüm dozları 0,01 μM vinkristinin neden olduğu nörotoksisiteyi engelleyememiştir.
- 1 μM vinkristin varlığında kuyucuklara uygulanan daidzein vinkristinin neden olduğu nörotoksisiteyi engellemede etkili olamamıştır.
- MnTBAP klorürün 60 μM , 100 μM ve 200 μM dozları ve Mito-TEMPO'nun 200 μM dozu 1 μM vinkristinin neden olduğu nörotoksisiteyi istatistiksel olarak anlamlı derecede azaltmıştır. Bu sonucun ortaya çıkmasında MnTBAP klorürün nöronlarda ROS birikimini engelleyici etkisinin ve Mito-TEMPO'nun süperoksit radikalini temizleyerek oksidatif stresi azaltmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Dozlar arasında koruyucu etkinlik bakımından anlamlı fark saptanmamıştır.
- DKG nöron kültürü çalışmalarında daidzein, MnTBAP klorür ve Mito-TEMPO'nun nöroprotektif etkili olduğunu gösterilmesine rağmen bu çalışmada benzer etkilerin bulunmamasının antineoplastik ajanların nöronlarda oluşturduğu şiddetli nörodejeneratif etkiye bağlı olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bu antioksidanların KTPN üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmaların olmaması da dikkate alındığında bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

- Artan kanser insidansı ve tedavi sonrası sağ kalım oranları nedeniyle KTPN prevalansı giderek artan bir tedavi komplikasyonudur. Patofizyolojisinin tam olarak aydınlatılamamış olması, tanı metotlarındaki kısıtlamalar, önlenmesinde ve/veya tedavisinde kullanılan etkili bir yöntemin olmaması da bu konuda daha geniş çaplı çalışmalar yapılması gerektiğini düşündürmektedir.



7. KAYNAKÇA

1. Zajaczkowską R, Kocot-Kępska M, Leppert W, Wrzosek A, Mika J, Wordliczek J. Mechanisms of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Int J Mol Sci*. 2019 Mar 2;20(6):1451.
2. Colvin LA. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: where are we now? *Pain*. 2019 May 1;160 Suppl(Suppl 1):S1–10.
3. Dorsey SG, Kleckner IR, Barton D, Mustian K, O'Mara A, St Germain D, et al. The National Cancer Institute Clinical Trials Planning Meeting for Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2019 Jun 1;111(6):531–7.
4. Miltenburg NC, Boogerd W. Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. *Cancer Treat Rev*. 2014 Aug 1;40(7):872–82.
5. Head KA. Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies. *Altern Med Rev*. 2006 Dec;11(4):294–329.
6. Waseem M, Kaushik P, Tabassum H, Parvez S. Role of Mitochondrial Mechanism in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Curr Drug Metab*. 2018 Dec 8;19(1):47–54.
7. Trecarichi A, Flatters SJL. Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Int Rev Neurobiol*. 2019 Jan 1;145:83–126.
8. Jordan B, Jahn F, Sauer S, Jordan K. Prevention and Management of Chemotherapy-Induced Polyneuropathy. *Breast Care (Basel)*. 2019;14(2):79–84.
9. Melli G, Höke A. Dorsal Root Ganglia Sensory Neuronal Cultures: a tool for drug discovery for peripheral neuropathies. *Expert Opin Drug Discov*. 2009 Oct;4(10):1035.
10. Höke A, Ray M. Rodent models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *ILAR J*. 2014 Apr;54(3):273–81.

11. Wainger BJ, Buttermore ED, Oliveira JT, Mellin C, Lee S, Saber WA, et al. Modeling pain in vitro using nociceptor neurons reprogrammed from fibroblasts. *Nat Neurosci*. 2015 Jan 1;18(1):17–24.
12. Ahmad N, Subhan F, Islam NU, Shahid M, Rahman FU, Sewell RDE. Gabapentin and its salicylaldehyde derivative alleviate allodynia and hypoalgesia in a cisplatin-induced neuropathic pain model. *Eur J Pharmacol*. 2017 Nov 5;814:302–12.
13. Eldridge S, Guo L, Hamre J. A Comparative Review of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in In Vivo and In Vitro Models. *Toxicol Pathol*. 2020 Jan 1;48(1):190–201.
14. Bruna J, Alberti P, Calls-Cobos A, Caillaud M, Damaj MI, Navarro X. Methods for in vivo studies in rodents of chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Exp Neurol*. 2020 Mar 1;325.
15. Jones I, Yelhekar TD, Wiberg R, Kingham PJ, Johansson S, Wiberg M, et al. Development and validation of an in vitro model system to study peripheral sensory neuron development and injury. *Sci Rep*. 2018 Dec 1;8(1):15961.
16. Masurovsky EB, Peterson ER, Crain SM, Horwitz SB. Morphological alterations in dorsal root ganglion neurons and supporting cells of organotypic mouse spinal cord-ganglion cultures exposed to taxol. *Neuroscience*. 1983 Oct 1;10(2):491–509.
17. Large D. Unraveling chemotherapy-induced peripheral neuropathy: In vitro and in vivo models of sensory nerve dysfunction. *J Neurosci Res*. 2018 Nov 1;96(11):1739–40.
18. Costa TC, Lopes M, Dos Anjos ACY, Zago MMF. Chemotherapy-induced peripheral neuropathies: an integrative review of the literature. *Rev Esc Enferm USP*. 2015;49(2):335–45.
19. Cancer Key Facts 21 September 2021. WHO. [Internet]. [cited 2021 Dec 9]. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
20. Türkiye Kanser İstatistikleri 2017 [Internet]. [cited 2021 Dec 7]. Available

from:https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/istatistik/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2017

21. Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*. 2019 Dec 1;9(4):217–22.
22. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May 1;71(3):209–49.
23. Lewandowska AM, Rudzki M, Rudzki S, Lewandowski T, Laskowska B. Environmental risk factors for cancer - review paper. *Ann Agric Environ Med*. 2019;26(1):1–7.
24. Baykara O, Üniversitesi İ, Tıp C, Tıbbi F, Abd B, Adresi Y, et al. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balikesir Saglik Bilim Derg*. 2016;5:58–159.
25. Patel J, Baptiste BA, Kim E, Hussain M, Croteau DL, Bohr VA. DNA damage and mitochondria in cancer and aging. *Carcinogenesis*. 2020 Dec 1;41(12):1625–34.
26. Türkiye Kanser Kontrol Programı [Internet]. [cited 2021 Dec 8]. Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/raporlar/2021_Kanser_Kontrol_Programi_/17.Agustos_2021_Kanser_Kontrol_Programi_versiyon-1
27. Tayar M, Bulut DS. Beslenme ve Kanser. *Türkiye Klin Gıda Bilim - Özel Konular*. 2019;5(2):1–7.
28. Zeng J, Harris TJ, Lim M, Drake CG, Tran PT. Immune Modulation and Stereotactic Radiation: Improving Local and Abscopal Responses. *Biomed Res Int*. 2013;2013.
29. Steven A, Fisher SA, Robinson BW. Immunotherapy for lung cancer. *Respirology*. 2016 Jul 1;21(5):821–33.
30. Makin G. Principles of chemotherapy. *Paediatr Child Health (Oxford)*. 2014

Apr 1;24(4):161–5.

31. How Is Chemotherapy Used to Treat Cancer? [Internet]. [cited 2021 Dec 12]. Available from: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/chemotherapy/how-is-chemotherapy-used-to-treat-cancer.html>
32. Livshits Z, Rao RB, Smith SW. An approach to chemotherapy-associated toxicity. *Emerg Med Clin North Am.* 2014;32(1):167–203.
33. Schirrmacher V. From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *Int J Oncol.* 2019 Feb 1;54(2):407.
34. Kasi PM, Grothey A. Chemotherapy-Induced Neutropenia as a Prognostic and Predictive Marker of Outcomes in Solid-Tumor Patients. *Drugs.* 2018 May 1;78(7):737–45.
35. Epstein JB, Thariat J, Bensadoun R-J, Barasch A, Murphy BA, Kolnick L, et al. Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to survivorship. *CA Cancer J Clin.* 2012 Nov;62(6):400–22.
36. Boxer LA. How to approach neutropenia. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr.* 2012;2012:174–82.
37. Bower JE, Bak K, Berger A, Breitbart W, Escalante CP, Ganz PA, et al. Screening, Assessment, and Management of Fatigue in Adult Survivors of Cancer: An American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Adaptation. *J Clin Oncol.* 2014 Jun 10;32(17):1840.
38. Farley A, Johnstone C, Hendry C, McLafferty E. Nervous system: part 1. *Nurs Stand.* 2014;28(31):46–51.
39. Farley A, McLafferty E, Johnstone C, Hendry C. Nervous system: part 3. *Nurs Stand.* 2014;28(33):46–50.
40. Lehmann HC, Staff NP, Hoke A. Modeling chemotherapy induced peripheral neuropathy (CIPN) in vitro: Prospects and limitations. *Exp Neurol.* 2020 Apr

1;326:113140.

41. Weimer LH. Medication-induced peripheral neuropathy. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2003;3(1):86–92.
42. Al-Mazidi S, Alotaibi M, Nedjadi T, Chaudhary A, Alzoghaibi M, Djouhri L. Blocking of cytokines signalling attenuates evoked and spontaneous neuropathic pain behaviours in the paclitaxel rat model of chemotherapy-induced neuropathy. *Eur J Pain.* 2018 Apr 1;22(4):810–21.
43. Shi Q, Cai X, Shi G, Lv X, Yu J, Wang F. Interleukin-4 protects from chemotherapy-induced peripheral neuropathy in mice modal via the stimulation of IL-4/STAT6 signaling. *Acta Cir Bras.* 2018 Jun 1;33(6):491–8.
44. Podratz JL, Knight AM, Ta LE, Staff NP, Gass JM, Genelin K, et al. Cisplatin induced Mitochondrial DNA Damage In Dorsal Root Ganglion Neurons. *Neurobiol Dis.* 2011 Mar;41(3):661.
45. Canta A, Pozzi E, Carozzi VA. Mitochondrial Dysfunction in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN). *Toxics.* 2015 Jun 5;3(2):198.
46. Prakash A, Doublié S. Base Excision Repair in the Mitochondria. *J Cell Biochem.* 2015 Aug 1;116(8):1490.
47. Zheng H, Xiao WH, Bennett GJ. Mitotoxicity and bortezomib-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Exp Neurol.* 2012 Dec;238(2):225–34.
48. Anoushirvani AA, Poorsaadat L, Aghabozorgi R, Kasravi M. Comparison of the Effects of Omega 3 and Vitamin E on Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy. *Open access Maced J Med Sci.* 2018;6(10):1857–61.
49. Albers JW, Chaudhry V, Cavaletti G, Donehower RC. Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *Cochrane database Syst Rev.* 2014 Mar 31;2014(3).
50. Hershman DL, Lacchetti C, Dworkin RH, Lavoie Smith EM, Bleeker J, Cavaletti G, et al. Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: American Society of

- Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol*. 2014 Jun 20;32(18):1941–67.
51. Costa TC, Lopes M, Dos Anjos ACY, Zago MMF. Chemotherapy-induced peripheral neuropathies: an integrative review of the literature. *Rev da Esc Enferm da USP*. 2015;49(2):0335–45.
 52. Hu S, Huang KM, Adams EJ, Loprinzi CL, Lustberg MB. Recent Developments of Novel Pharmacologic Therapeutics for Prevention of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Clin Cancer Res*. 2019;25(21):6295–301.
 53. Kleckner IR, Kamen C, Gewandter JS, Mohile NA, Heckler CE, Culakova E, et al. Effects of exercise during chemotherapy on chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a multicenter, randomized controlled trial. *Support Care Cancer*. 2018 Apr 1;26(4):1019–28.
 54. Materazzi S, Fusi C, Benemei S, Pedretti P, Patacchini R, Nilius B, et al. TRPA1 and TRPV4 mediate paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice via a glutathione-sensitive mechanism. *Pflügers Arch Eur J Physiol*. 2012 Apr 19;463(4):561–9.
 55. Lazic A, Popović J, Paunesku T, Woloschak GE, Stevanović M. Insights into platinum-induced peripheral neuropathy—current perspective. *Neural Regen Res*. 2020 Sep 1;15(9):1623.
 56. Martinez-Serra J, Ggutierrez A, Muñoz-Ccapó S, Nnavarro-Palou M, Rros T, Aamat JC, et al. xCELLcelligence system for real-time label-free monitoring of growth and viability of cell lines from hematological malignancies. *Onco Targets Ther*. 2014 Jun 12;7:985–94.
 57. Hamidi H, Lilja J, Ivaska J. Using xCELLigence RTCA Instrument to Measure Cell Adhesion. *Bio-protocol*. 2017;7(24).
 58. Mishra P, Kar A, Kale RK. Prevention of chemically induced mammary tumorigenesis by daidzein in pre-pubertal rats: The role of peroxidative damage and antioxidative enzymes. *Mol Cell Biochem*. 2009 Feb 13;325(1–2):149–57.

59. Yang SH, Liao CC, Chen Y, Syu JP, Jeng CJ, Wang SM. Daidzein induces neuritogenesis in DRG neuronal cultures. *J Biomed Sci.* 2012;19(1).
60. Yuan W, Chen Q, Zeng J, Xiao H, Huang ZH, Li X, et al. 3'-Daidzein sulfonate sodium improves mitochondrial functions after cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neural Regen Res.* 2017 Feb 1;12(2):235–41.
61. Kiskurno S, Ryan RM, Paturi B, Wang H, Kumar VH. Antioxidant MnTBAP does not protect adult mice from neonatal hyperoxic lung injury. *Respir Physiol Neurobiol.* 2020 Nov 1;282:103545.
62. Oury TD, Thakker K, Menache M, Chang LY, Crapo JD, Day BJ. Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by a catalytic antioxidant metalloporphyrin. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2001;25(2):164–9.
63. Quan M, Cai CL, Valencia GB, Aranda J V, Beharry KD. MnTBAP or Catalase Is More Protective against Oxidative Stress in Human Retinal Endothelial Cells Exposed to Intermittent Hypoxia than Their Co-Administration (EUK-134) HHS Public Access. *React Oxyg Species.* 2017;3(7):47–65.
64. Murphy MP, Smith RAJ. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007;47:629–56.
65. Liang HL, Sedlic F, Bosnjak Z, Nilakantan V. SOD1 and MitoTEMPO partially prevent mitochondrial permeability transition pore opening, necrosis, and mitochondrial apoptosis after ATP depletion recovery. *Free Radic Biol Med.* 2010 Nov 30;49(10):1550–60.
66. Zhan L, Li R, Sun Y, Dou M, Yang W, He S, et al. Effect of mito-TEMPO, a mitochondria-targeted antioxidant, in rats with neuropathic pain. *Neuroreport.* 2018 Oct 17;29(15):1275–81.
67. Ayar A, Scott RH. The actions of ryanodine on Ca²⁺-activated conductances in rat cultured DRG neurones; evidence for Ca²⁺-induced Ca²⁺ release. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1999 Jan 25;359(2):81–91.
68. Ayar A, Ozcan M, Kuzgun KT, Kalkan OF. Spinorphin inhibits membrane

- depolarization- and capsaicin-induced intracellular calcium signals in rat primary nociceptive dorsal root ganglion neurons in culture. *J Recept Signal Transduct Res*. 2015 Nov 2;35(6):550–8.
69. De Francesco EM, Maggiolini M, Tanowitz HB, Sotgia F, Lisanti MP. Targeting hypoxic cancer stem cells (CSCs) with Doxycycline: Implications for optimizing anti-angiogenic therapy. *Oncotarget*. 2017;8(34):56126–42.
 70. Li QY, Pedersen C, Day BJ, Patel M. Dependence of excitotoxic neurodegeneration on mitochondrial aconitase inactivation. *J Neurochem*. 2001 Aug 15;78(4):746–55.
 71. Scuteri A, Nicolini G, Miloso M, Bossi M, Cavaletti G, Windebank AJ et al. Paclitaxel Toxicity in Post-mitotic Dorsal Root Ganglion (DRG) Cells. *Anticancer Res*. 2006;26(2A).
 72. Liston DR, Davis M. Clinically relevant concentrations of anticancer drugs: A guide for nonclinical studies. *Clin Cancer Res*. 2017 Jul 15;23(14):3489–98.
 73. Pan T, Huang B, Zhang W, Gabos S, Huang DY, Devendran V. Cytotoxicity assessment based on the AUC50 using multi-concentration time-dependent cellular response curves. *Anal Chim Acta*. 2013 Feb 18;764:44–52.
 74. Hu L-Y, Mi W-L, Wu G-C, Wang Y-Q, Mao-Ying Q-L. Prevention and Treatment for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Therapies Based on CIPN Mechanisms. *Curr Neuropharmacol*. 2019 Feb 28;17(2):184–96.
 75. Wang P, Jeng CJ, Chien CL, Wang SM. Signaling mechanisms of daidzein-induced axonal outgrowth in hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 Feb 8;366(2):393–400.
 76. Ma TC, Campana A, Lange PS, Lee HH, Banerjee K, Barney Bryson J, et al. A Large-Scale Chemical Screen for Regulators of the Arginase 1 Promoter Identifies the Soy Isoflavone Daidzein as a Clinically Approved Small Molecule That Can Promote Neuronal Protection or Regeneration via a cAMP-Independent Pathway. *J Neurosci*. 2010 Jan 1;30(2):739.
 77. Zhao L, Chen Q, Brinton RD. Neuroprotective and neurotrophic efficacy of

- phytoestrogens in cultured hippocampal neurons. *Exp Biol Med* (Maywood). 2002;227(7):509–19.
78. Cuzzocrea S, Zingarelli B, Costantino G, Caputi AP. Beneficial effects of Mn(III)tetrakis (4-benzoic acid) porphyrin (MnTBAP), a superoxide dismutase mimetic, in carrageenan-induced pleurisy. *Free Radic Biol Med*. 1999 Jan 1;26(1–2):25–33.
 79. Sovari AA, Rutledge CA, Jeong EM, Dolmatova E, Arasu D, Liu H, et al. Mitochondria Oxidative Stress, Connexin43 Remodeling, and Sudden Arrhythmic Death. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013 Jun 6;6(3):623.
 80. Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, Nazarewicz RR, McCann L, Lewis W, et al. Therapeutic Targeting of Mitochondrial Superoxide in Hypertension. *Circ Res*. 2010 Jul 7;107(1):106.
 81. Caillaud M, Patel NH, Toma W, White A, Thompson D, Mann J, et al. A Fenofibrate Diet Prevents Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy in Mice. *Cancers (Basel)*. 2021 Jan 1;13(1):1–21.
 82. Zhang H, Li Y, De Carvalho-Barbosa M, Kavelaars A, Heijnen CJ, Albrecht PJ, et al. Dorsal Root Ganglion Infiltration by Macrophages Contributes to Paclitaxel Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *J pain*. 2016 Jul 1;17(7):775–86.
 83. Li G zhou, Hu Y hui, Li D yi, Zhang Y, Guo H li, Li Y man, et al. Vincristine-induced peripheral neuropathy: A mini-review. *Neurotoxicology*. 2020 Dec 1;81:161–71.