

**T.C.  
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PAKLİTAKSEL İLE UYARILAN NÖROTOKSİK  
ETKİLERE KARŞI KROSİNİN KORUYUCU  
ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Öğrencinin Adı SOYADI : Yücel Can MUTLU**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :**

**Enstitü Anabilim Dalı : Biyoloji**

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tamer AKKAN**

**Ortak Danışman : Doç. Dr. Adem GÜNER**

**Ocak 2022**

**GİRESUN**

**T.C.  
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PAKLİTAKSEL İLE UYARILAN NÖROTOKSİK  
ETKİLERE KARŞI KROSİNİN KORUYUCU  
ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Yücel Can MUTLU**

**Enstitü Anabilim Dalı**

**:**

**Biyoloji**

**Bu tez 20/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.**

**Prof. Dr.  
Selçuk TAKIR  
Jüri Başkanı**

**Doç. Dr.  
Tamer AKKAN  
Üye**

**Doç. Dr.  
Adem GÜNER  
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi  
Özlem GÜNER  
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi  
Aşkın TEKİN  
Üye**

**Doç. Dr.  
Bahadır KOZ  
Enstitü Müdürü**

## **BEYAN**

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Yücel Can MUTLU

20/01/2022

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam boyunca yanımda olan, benden desteklerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, deneyimlerini ve bilgilerini paylaşan çok değerli tez danışmanlarım Doç. Dr. Tamer AKKAN ve Doç. Dr. Adem GÜNER'e,

Tezime sunmuş oldukları katkılardan ötürü değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Selçuk TAKIR, Dr. Öğr. Üyesi Aşkın TEKİN ve Dr. Öğr. Üyesi Özlem GÜNER'e,

Her alanda olduğu gibi tez çalışmalarım süresince de maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                        |      |
|------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR.....                                                          | I    |
| İÇİNDEKİLER .....                                                      | II   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....                                  | IV   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                 | V    |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                  | VI   |
| ÖZET .....                                                             | VII  |
| SUMMARY .....                                                          | VIII |
| BÖLÜM 1. GİRİŞ.....                                                    | 1    |
| 1.1. Kanserin Sınıflandırılması .....                                  | 2    |
| 1.2. Risk Faktörleri ve Kanseri Patofizyolojisi .....                  | 3    |
| 1.3. Kanserde Teşhis ve Tedavi .....                                   | 4    |
| 1.4. Kemoterapi İlişkili Toksisiteler ve Nörotoksisite.....            | 7    |
| 1.5. Paklitaksel .....                                                 | 11   |
| 1.6. Krosin.....                                                       | 15   |
| BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI.....                                    | 20   |
| BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                       | 24   |
| 3.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi.....                          | 24   |
| 3.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi.....                   | 24   |
| 3.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi .....                   | 25   |
| 3.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi .....                          | 25   |
| 3.5. Mikroçekirdek (MÇ) ve Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Yöntemi..... | 25   |
| 3.6. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi .....                          | 27   |
| 3.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu .....                                      | 27   |
| 3.8. İstatistiksel Analiz.....                                         | 27   |
| BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                      | 28   |
| 4.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi (MTT Yöntemi).....            | 28   |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| 4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi .....          | 29 |
| 4.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi .....           | 30 |
| 4.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi .....                  | 31 |
| 4.5. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi .....                  | 32 |
| 4.6. Mikroçekirdek (MÇ) ve Kardeş Kromatit Değişimi (KKD)..... | 33 |
| 4.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu .....                              | 34 |
| BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                               | 35 |
| KAYNAKLAR .....                                                | 43 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                 | 61 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

|     |                                                                 |
|-----|-----------------------------------------------------------------|
| LDH | : Laktat dehidrogenaz                                           |
| MTT | : 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide |
| TAK | : Toplam antioksidan kapasite                                   |
| TOD | : Toplam oksidan durumu                                         |
| KKD | : Kardeş Kromatit Değişimi                                      |
| MÇ  | : Mikroçekirdek                                                 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. 1. Paklitakselin kimyasal yapısı (Url-1).....                                                                                                 | 12 |
| Şekil 1. 2. Paklitakselin etki mekanizması (Abu Samaan, 2019) .....                                                                                    | 13 |
| Şekil 1. 3. Paklitakselin tübülönlere etkisi (Gornstein ve Schwarz, 2014).....                                                                         | 14 |
| Şekil 1. 4. Krosin kimyasal yapı (PubChem CID 5281233).....                                                                                            | 16 |
| Şekil 4.1. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonlarının hücre canlılığına etkisi .....                                                           | 28 |
| Şekil 4.2. Mitomisin-C, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan ekstrasellüler LDH'nin aktivitesi .....    | 29 |
| Şekil 4.3. Hücrelerin askorbik asit, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total antioksidan miktarı ..... | 30 |
| Şekil 4.4. Hücrelerin mitomisin-C, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total oksidan durumu .....        | 31 |
| Şekil 4.5. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde DNA fragmentasyon oranı .....                                    | 32 |
| Şekil 4.6. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edildiğinde MÇ ve KKD hücre sayısı .....                                           | 33 |
| Şekil 4.7. Hücrelerin paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle Kaspaz 3/7 ekspresyon değişimi .....                        | 34 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                                                           |   |
|-----------------------------------------------------------|---|
| Tablo 1. 1. Kanserin sınıflandırılması (Üstün, 2021)..... | 3 |
|-----------------------------------------------------------|---|



# PAKLİTAKSEL İLE UYARILAN NÖROTOKSİK ETKİLERE KARŞI KROSİNİN KORUYUCU ETKİLERİ

## ÖZET

Paklitaksel farklı kanser tedavilerinde kullanılan önemli bir kemoterapötik ajan olup, tedavide kullanımının yanı sıra aynı zamanda kas, sinir, karaciğer gibi birçok dokuda ciddi sitotoksik etkilere neden olmaktadır. Krosin doğal bir karotenoid bileşiktir ve safran (*Crocus sativus* L.)'ın altın sarısı-turuncu rengini meydana getirmektedir. Aynı zamanda güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olup, antitümör, antidepresan, hipotensiv gibi bazı tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu çalışmada paklitaksel ile uyarılan sinir hücrelerindeki toksisiteye karşı krosinin koruyucu etkilerinin olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında sitotoksik etkiler, insan nöroblastoma hücre hattında (SH-SY5Y) hücre canlılığı (MTT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) denemeleri ile belirlenmiştir. Oksidan/antioksidan durum, total antioksidan kapasite (TAK) ve total oksidatif durum (TOD) ile ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, uygulamalar sonrası mikroçekirdek (MÇ) ve kardeş kromatit değişimi (KKD), DNA fragmentasyonu ve kaspaz 3/7 aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Sonuçlarımız, paklitaksel ile muamele edilen hücrelerde krosinin ortamdaki hücre canlılığını koruduğu; hücre membran hasarının belirtilerinden olan LDH salınımını önemli derecede ( $p<0,05$ ) azalttığını göstermiştir. Krosin, paklitaksel ile uyarılan TOD seviyelerini önemli derecede ( $p<0,05$ ) azaltırken, TAK kapasitelerini önemli derecede ( $p<0,05$ ) arttırmıştır. Bununla birlikte oksidatif stres ile indüklenen DNA fragmentasyonundaki artışı inhibe etmiştir. Krosinin paklitaksel ile kombinasyon uygulaması, yalnız krosin uygulamalarına kıyasla kaspaz 3/7 ekspresyonu artışları aracılığıyla apoptozu aktive etmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada paklitaksel ile uyarılan nörotoksisiteye karşı krosinin önemli derecede koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Paklitaksel, krosin, sinir hücresi, oksidatif stres, toksisite

## PROTECTIVE EFFECTS OF CROCIN ON PACLITAXEL-INDUCED NEUROTOXIC EFFECTS

### SUMMARY

Paclitaxel is an important chemotherapeutic agent used in different cancer treatments, and its use also causes serious cytotoxic effects on muscle, nervous, liver, and others tissues. Crocin, a natural carotenoid compound, and creates the golden-orange color of saffron (*Crocus sativus* L.). It is also used in some medical applications such as antitumor, antidepressant, hypotensive, and has a strong antioxidant property. The present study aimed to demonstrate the protective effects of crocin against paclitaxel-induced neurotoxicity.

In the present study, cytotoxic effects were determined by cell viability (MTT) and lactate dehydrogenase (LDH) assays in human neuroblastoma cell line (SH-SY5Y). The oxidant/antioxidant status was demonstrated by total antioxidant capacity (TAC) and total oxidative status (TOS). Micronuclei (MN) and Sister Chromatid Exchange (SCE), DNA fragmentation, and caspase 3/7 activities were evaluated.

Our results showed that combination treatment of paclitaxel and crocin significantly ( $p<0.05$ ) ameliorated the cell viability while significantly ( $p<0.05$ ) reducing LDH release which is sign of cell membrane damage. Crocin significantly ( $p<0.05$ ) decreased paclitaxel-induced TOS levels while significantly ( $p<0.05$ ) increasing TAC levels. The increase in DNA fragmentation and the increase in malondialdehyde concentration, the end product of lipid peroxidation, induced by oxidative stress was inhibited. Combination administration of crocin and paclitaxel activated apoptosis via increases in caspase 3/7 expression compared to cisplatin alone. As a result, it was demonstrated that crocin has a significant protective effect against paclitaxel-induced neurotoxicity.

**Keywords:** Paclitaxel, crocin, neuron, oxidative stress, toxicity

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Günümüzde kanser, insidansının yüksek olmasının yanı sıra tedavisinde görülen problemlerle de ön plana çıkmaktadır. Hücrelerin art arda kontrolsüz bölünmesi sonucunda kötü huylu büyümenin sonucu olarak kanser hastalığı ortaya çıkmaktadır (Bekisz ve Geris, 2020). Sitolojik olarak ele alındığında kanser gelişimi çeşitli mutasyonları kapsayan kompleks bir süreç sonunda çoğalma, canlı kalma, invazyon ve metastaz yetenekleri artan bu hücrelerin seçilmesi şeklinde meydana gelmektedir. Meydana gelen mutasyonlar sonucunda ise hücre zarlarını parçalayarak metastaza (yayılma) sebep olan malign (kötü huylu) tümörlere evrilir (Korgaonkar ve Yadav, 2019).

Malign tip tümörler ise kanser olarak adlandırılır. Hücrelerin yapısında meydana gelen aşırı değişiklik nedeniyle orijinleri belirlenemez, lenf ve kan yoluyla uzak organlara yayılır. Malign tümörlerin yanında bening (iyi huylu) tümörlerin metastaz özellikleri bulunmamakla birlikte, belirli sınırlara sahip ve orijinlerini tahmin etmek mümkündür. Kanser hücresinin gelişimi temel olarak üç aşamada ifade edilmektedir. İlk aşamada karşımıza tümör başlangıcı çıkmaktadır. Sağlıklı hücrelerin yapısının geri dönüşümsüz bir şekilde kanserojen etkiye sahip kimyasal, fiziksel veya kalıtsal etkenlerin bozulmasıyla oluşur. Başlangıç aşamasındaki bu ilk hücre her bölünme sırasında kanser hücresinde meydana gelen yeni değişiklikler nedeniyle kanserli hücrenin tüm özelliklerini yansıtmamaktadır. İkinci aşamada kanser oluşumu için hücrede meydana gelen sekonder değişiklikler ile ifade edilen tümör tetiklenmesidir. Bu aşamada sağlıklı hücreler ile çevrili tek bir kanser hücresi, kendini daha fazla oranda replike etmek suretiyle sayısını arttırarak ilk olarak küçük tümör kütlesi halini alır. Tümör ilerlemesi olarak ifade edilen son aşamada ise artık tümörün büyüme hızı artar, tümör gelişir ve yayılır (Ruddon, 2007). Bu aşamada sağlıklı hücreler artık tümör kitlesi ile besin için mücadele edemez bir hal alır. Tümör hücresi besin yetersizliğini dikkate almaksızın büyümesini devam ettirerek yetersiz besin varlığına ve sonuç olarak

sağlıklı birçok hücrenin kaybına neden olur. İlerleyen aşamada artık tümörün besini sağlayacak yeni kan damarlarını toplamasına diğer bir ifadeyle anjiyogenez olarak ifade edilen yeni damar oluşumuna ihtiyaç duyulmaktadır (Peppas ve Blanchette, 2004). Malign özellik kazanan hücreler; apoptozu indükleyen sinyalleri bloke edebilir, immün sistemden kaçabilir, hatta immün yanıtı engelleyen bazı immün sistem hücreleri sayesinde canlı kalarak büyümesini devam ettirebilir (Vinay ve ark., 2015).

Tedavideki amaç hastanın sağlıklı hücrelerine zarar vermeksizin, tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak ve mümkünse onları yok etmektir. Ancak bu durum uygulamada ciddi sıkıntılara yol açmaktadır. Özellikle kanser hücrelerinin de insanın kendi hücresi olması ve normal hücrelerden kantitatif açıdan farklarının bulunması nedeniyle, antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı selektiviteleri düşük olup, bu durum tedaviyi güçleştiren bir husus olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu gibi durumlarda etkilenen normal hücrelerin konumlandığı organların çalışması bozulmakta ve bunun sonucunda tedavi esnasında hastalar ilaçların istenmeyen yan etkilerine tolerans gösteremeyerek, enfeksiyonlar gibi ölümle sonuçlanacak hastalıklarla mücadele etmek zorunda kalılabilmektedir. Dolayısıyla kanser hastalığı için radikal tedavisi henüz bulunamamış progresif bir hastalık tanımı yapılabilmektedir. Kontrolsüz hücre bölünmesi ve bu anormal hücrelerin yayılması ile karakterize edilen bu hastalık, genetik değişkenlik ve birden çok moleküler değişikliğin birleşmesi sonucu oluşan kompleks bir hastalıktır.

### **1.1. Kanser Sınıflandırılması**

Kanser birçok sınıflandırmaya tabi tutulmakla birlikte çoğunlukla; kökenine, histotipine, derecesine ve tümör evreleme sistemine göre değerlendirilmektedir (UICC, 2017). Bu sınıflandırmasında epidemiyolojik, morfolojik, fenotipik ve biyolojik veriler esas alınmaktadır (Carbone, 2020). Kötü huylu tümörlerin sınıflandırılmasında ise organ/sistem spesifik tip, dokudan oluşan tip, derece ve TNM sistemine (Tümör Evreleme Sistemi) gözetilmektedir.

Derece belirlemede esas olarak hücrelerin kendilerini çevreleyen dokuya nazaran ne kadar değiştiği sayısal olarak ifade edilirken, evre durumunda Uluslararası Kansere Savaş Örgütü, TNM sisteminden faydalanılmaktadır. Bu sisteme göre; T (tümör) ilk oluşum yerindeki genişleme derecesini, N (nodüller) bölgesel lenf nodüllerindeki klinik bulguları, M (metastazlar) yayılmanın varlığını ifade eder. Örneğin T0, N0 ve M0 bu bulgulara rastlanmadığına karşılık gelirken; 1’den 4’e kadar yapılan numaralandırmalar bulguların arttığını ifade etmektedir. X ise bu bulgunun değerlendirilemeyecek nitelikte olduğunu göstermektedir (Üstün, 2020).

Tablo 1. 1. Kanserin sınıflandırılması (Üstün, 2021)

| Spesifik tip      | Histotip    | Derece    | Evre         |
|-------------------|-------------|-----------|--------------|
| Meme kanseri      | Karsinom    | 1.Derece: | Evre 0       |
| Akciğer kanseri   | Sarkom      |           |              |
| Prostat kanseri   | Miyelom     | 2. Derece | Evre 1, 2, 3 |
| Karaciğer kanseri | Lösemi      |           |              |
| Böbrek kanseri    | Lenfoma     | 3. Derece |              |
| Ağız kanseri      |             |           | Evre 4       |
| Beyin kanseri vb. | Karışık tip | 4. Derece |              |

## 1.2. Risk Faktörleri ve Kansere Patofizyolojisi

Sağlıklı organizmada kanser oluşumuna neden olan faktörler; kanser risk faktörleri olarak ifade edilmekte olup, kanserin genetik faktörlerden çok, çevresel faktörlerden kaynaklandığı Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından ifade edilmiştir (HRCF, 1996). Bu çevresel faktörlerin %90-%95’ini çevre şartları ve yaşam tarzı kaynaklı genetik mutasyonlar oluştururken, geriye kalan %5-%10’u kalıtsal faktörlere karşılık gelmektedir. Sigara, diyet, obezite ve alkol, mesleki ve çevresel karsinojenler, patojenler, radyasyon, hormonlar ve immün koşullar en önemli risk faktörleri olarak gösterilebilir (Anand ve ark., 2008).

Patofizyolojide bir hücrenin kanserleşmesi için geçirdiği süreç karsinogenez olarak adlandırılır. Bu süreçler genetik, epigenetik veya hücresel seviyelerde gerçekleşebilir (Korgaonkar ve Yadav, 2019).

Genetik süreçte sağlıklı bir hücrenin kanser hücresine dönüşebilmesi için bu süreçleri düzenleyen genlerin değişikliğe uğraması gerekmektedir (Croce, 2008). Tek başına bir genetik değişiklik bile kötü huylu bir tümörün oluşması için yeterlidir. Hücrede bölünme aşamasında meydana gelen komplikasyonlardan ya da çeşitli karsinojen etkene maruz kalma sonucunda kansere neden olan genetik değişikliklerden meydana gelmektedir. Hücrelerdeki bu değişiklikler çoğunlukla somatik hücrelerde gerçekleşmekle birlikte germ hücrelerinde de meydana gelebilmektedir. Bu değişime neden olan genler onkogenler ve tümör baskılayıcı genler olarak adlandırılır. Onkogenler tümör gelişimine sebebiyet verirken, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre döngüsünün inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olarak sağlıklı bir hücrenin kanser hücresine dönmesini sağlarlar (Luo ve ark., 2009).

Bir genotipin ekspresyonunu belirli bir fenotipe dönüştüren süreç epigenetik olarak ifade edilmektedir. Gen aktivitesini ve ifadesini etkileyen değişiklikleri içeren bu terim, nükleik asit dizisinde değişiklikler içermeyen bir kalıtsal fenotipik değişiklikleri de ifade etmek için kullanılır (Jones ve Laird, 1999; Baylin ve Ohm, 2006; Dupont ve ark., 2009). Bölünme sürecini tamamlayan hücrelerde epigenetik değişiklikler korunarak bir sonraki nesle aktarılabilir. Epigenetik değişikliklerde belirli genlerin aktivasyonu değişebilirken, DNA'nın genetik kod dizisini değişmez. Ancak bu süreçte DNA'nın mikro yapısında ya da kromatin proteinlerinde aktivasyona ve gen ekspresyonunun önlenmesini sağlayacak şekilde değişiklikler oluşabilir. Epigenetik değişiklikler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlamayan RNA (non-coding RNA-ncRNA) regülasyonu mekanizmalarıyla meydana gelmektedir (Cuozzo ve ark., 2007).

### **1.3. Kanserde Teşhis ve Tedavi**

Teşhis aşaması kanserde tedavi başarısını etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Etkili tedavi süreci ise adil ve sürdürülebilir bir şekilde sağlanan; erken, doğru teşhis ve evreleme ile bağlantılı kanıta dayalı bakım standartlarına bağlı olanlardır (Üstün, 2021). Kanser genellikle semptomların saptanması ya da kanser tarama testleriyle teşhis edilmektedir. Kanser ilk ortaya çıktığında herhangi bir semptom görülmemekte,

ancak hastalık ilerledikçe: geçmeyen öksürük, kilo alımı/kaybı (sebebi olmadan), hazımsızlık, yutmada problemler, kusma, bağırsak veya mesane alışkanlıklarında değişiklikler, olağandışı kanama/morluklar, ciltte iyileşmeyen yaralar ve şişlikler, yumrular, sinirsel problemler (depresyon, anksiyete, baş ağrısı vs.), yorgunluk, halsizlik, ateş gibi semptomlar yaygın olarak görülebilmektedir.

Kanser taraması herhangi bir belirti veya semptom ortaya çıkmadan kanserin tespitine dayanmaktadır. Kanserın erken aşamalarının tespiti, kanser ölüm oranındaki düşüşe önemli ölçüde katkı sunmaktadır (Berry ve ark., 2005; Edwards ve ark., 2010). Tarama testlerinde fiziksel muayene ve hastalık geçmişı, laboratuvar testleri, radyolojik görüntüleme prosedürleri ve genetik testler kullanılmaktadır.

Çoğu kanser türü belirti veya semptomların ortaya çıkması ya da tarama yoluyla fark edilebilir fakat bu iki uygulama kesin bir teşhis sağlayamamaktadır. Bu aşamada teşhisin kesinleştirilmesi amacıyla patolojik incelemeye gereksinim duyulur. Yapılan biyopsi işlemi sonucunda ilgili kanserin türü, istilacı olup olmadığı ve vücudun diğer bölgelerine yayılıp yayılmadığı ayrıntılı bir şekilde tespit edilir. Ayrıca, kanserin histotipi, mitotik indeksi, lenf nodül durumu ve evresi hakkında bilgi de sağlanır.

Tedavide amaç kanseri tamamen yok ederek hastayı iyileştirmek veya önemli ölçüde yaşam süresini uzatmak ve kanser hastalığından kurtulanlar için mümkün olan en iyi yaşam kalitesinin devamlılığını sağlamaktır. Kanser tedavisi birincil, yardımcı veya hafifletici tedavi olarak uygulanabilir. Birincil tedavide kanserin vücuttan tamamen uzaklaştırılması veya kanserli hücrelerin öldürülmesi esas alınmaktadır. Yardımcı tedavide ise birincil tedavi uygulanmasından sonra vücutta kalan kanser hücrelerinin elemine edilerek kanserin tekrar etmemesini sağlamak amaçlanmaktadır. Hafifletici tedavi ise kanserin sebep olduğu semptomların ya da tedavide ortaya çıkan yan etkilerin hafifletilmesi için uygulanmaktadır. Günümüzde uygulamada olan pek çok kanser tedavisi türü olmakla birlikte, uygulanacak tedavi türü, kanserin türüne ve hastalığın seyrine bağlıdır (Siegel ve ark., 2019). Bazı kanser hastalarında tek bir tedavi türü uygulanmakta iken, çoğu hasta için iki veya daha fazla tedavi bir arada uygulanır. Günümüzde kullanılan kanser tedavi türlerine; kemoterapi, cerrahi

operasyon, radyasyon tedavisi, immünoterapi, hedeflenmiş tedavi, hormon tedavisi, kök hücre nakli, hassas tip örnek verilebilir.

Kemoterapi; kanser hücrelerini yok etmek veya hızla büyüyen, bölünen kanser hücrelerinin büyümesini durdurmak veya yavaşlatmak amacıyla uygulanan ilaç tedavisidir. Bu amaçla kullanılan antikanser ilaçlar kan dolaşımı aracılığıyla vücutta dolaşır, kanserin görüldüğü yerden uzak kısımlara yayılmış kanser hücreleriyle etkileşime girebilir (Blagosklonny, 2005). Kemoterapi kullanılan bu tür ilaçlara örnek olarak; antimetabolitler, bitki alkaloidleri, antitümör antibiyotikleri, topoizomeras inhibitörleri gibi DNA hasarı oluşturmada inhibe ederek sitotoksik etki gösteren ajanlar, tedavi ve tedavi sonucu oluşan yan etkilerden koruma amaçlı kullanılan hormonal ajanlar ve alkilleyici ajanlar verilebilir (Huang ve ark., 2017). DNA moleküllerinde yapı taşları olarak doğal maddelerin yerini alan antimetabolitler, enzimlerin işlevlerini değiştirebilirler. Diğer bir ifadeyle, hücrelerin yaşamsal faaliyetleri için ihtiyaç duydukları besinleri taklit ederek hücrelerin onları tüketmesi için kandırırlar ve kanser hücrelerinin açlıktan ölmesini sağlarlar (Avendaño ve Menéndez, 2015).

Bitki alkaloidleri bitkilerden türevlenen antitümör ajanlar olarak bilinir. Başlıca etki mekanizması, kanser hücresinin bölünme yeteneğini bloke etmesi, bir diğer ifadeyle hücre döngüsüne spesifik etki şeklindedir (Himes, 1991). Tedavi amaçlı kullanılan bitki alkaloidlerine örnek olarak; aktinomisin D, doksorubisin ve mitomisin verilebilir. Antitümör antibiyotikler ise hücre döngüsüne spesifik olmayıp, DNA ile bağlanarak hücrenin hayatta kalması için gerekli olan proteinlerin oluşturulmasına esas teşkil eden RNA sentezini önleyerek çalışırlar (Greifzu, 1996). Rutin tedavide bakteriyel enfeksiyonlar ile mücadelede kullanılan antibiyotiklerle aynı değildirler. Aksine, bu ilaçlar DNA'yı oluşturan genetik materyal ipliklerinin çözülmesini sağlayarak (Nelson ve ark., 1984) hücrenin çoğalmasını engeller. Antitümör antibiyotiklere örnek olarak; doksorubisin, mitoksantron ve bleomisin verilebilir.

Kanserle mücadelede ilk ilaçlar arasında yer alan ve günümüzde tedavide sık başvuru alan alkilleyici ajanlar, doğrudan DNA üzerinde etki ederek DNA zincirlerinin

çapraz bağlanmasına, anormal baz eşleşmesine ve DNA ipliği kırılmalarına neden olarak hücrenin bölünmesini bloke ederler (Goodman ve ark., 1975). Hücre döngüsünün çeşitli ve çoklu fazlarında hücreyi öldürdükleri için hücre döngüsü spesifik olmayan ajanlar olarak kabul edilir (Wheeler ve Simpson-Herren, 1973). Hızlı çoğalan hücrelere etkisi yeterince olmadığından, lösemi gibi genellikle yavaş büyüyen kanserler türlerinin tedavisinde tercih edilirler (Ralhan ve Kaur, 2007).

Alkilleyici ajanlara örnek olarak; klorambusil, siklofosfamid, tiotepa ve busulfan verilebilir. Platin içeren antikanser ajanlar (karboplatin, sisplatin ve oksaliplatin) sıklıkla alkilleyici ajanlar olarak ifade edilmiş olsa bile bir alkil grubu olmadığı, ancak yine de DNA'ya farklı mekanizmalarla kovalent etki yaparak zarar verebileceği bilinmektedir (Cruet-Hennequart ve ark., 2008).

#### **1.4. Kemoterapi İlintili Toksisiteler ve Nörotoksisite**

Tedavi amacıyla kullanılan kemoterapötiklerde karşılaşılan en önemli sorun ilaç toksisiteleridir. Kemoterapi ile ilişkili bu toksisitelere örnek olarak cilt, gastrointestinal sistem, kalp, akciğer, böbrekler, vasküler, göz, gonadlar ve sinir sistemiyle ilişkili toksisiteler verilebilir (Saklı ve Zencirci Demir, 2013).

Kardiyak toksisitesi oldukça nadir görülmesine rağmen, tedavinin önemli komplikasyonlarından biridir (Şenuzun, 2007). Özellikle; doksorubisin, daunorubisin, epirubisin, idarubisin gibi antrasiklin grubu kemoterapötiklerin kullanımı akabinde doza bağlı olarak meydana gelen miyokardiyal toksisite, en bilinen ve en sık karşılaşılan yan etkidir. Bu tip toksisite kapsamında hayatı tehdit eden aritmi, iskemi ve kalp yetmezliği gibi belirtiler gelişmektedir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş, 2011; Sünger, 2013).

Uzun dönemde gelişen toksisitelerden biri olarak karşımıza çıkan pulmoner toksisite; radyoterapi veya bleomisine bağlı olarak gelişen pulmoner fibrozis, radyoterapi, gemitabine bağlı olarak gelişen pnömonit, radyoterapi ve kombinasyon kemoterapilere bağlı olarak gelişen asemptomatik akciğer fonksiyon testlerinde

bozukluklar veya özellikle radyoterapi sonrası olmak üzere kemoterapi sonrasına bağlı olarak gelişen akciğer kanseri şeklinde ortaya çıkar. En belirgin pulmoner toksisite göstergesi dispne olup, paklitaksel ve dosetaksel gibi kemoterapötik ilaçların kullanımıyla ilişkili göğüs ağrıları da ortaya çıkabilir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş, 2011).

Kemoterapötik ilaçların doz sınırlayıcı yan etkisi nefrotoksisite olup, glomerüllerde böbrek arterleri, ven veya arteriollerinde nefronun farklı bölgelerinde doğrudan hücre hasarı sonucu gelişen klinik tablodur. Nefrotoksisite genetik değişkenlikler, önceden var olan karaciğer hastalığı, sepsis, immünsüpresyon ve karaciğerde metabolize edilen ilave ilaçlar gibi faktörler sayesinde karaciğer toksisitesinin gelişimini de etkilemektedir (Dilek, 2010).

Ender olarak gelişen toksisitelerden biri olan göz toksisitesi karşımıza steroidlere bağlı geç başlangıçlı katarakt olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle sitarabin tedavisinin yüksek dozla başlatılmasına müteakip birkaç gün içinde konjunktivit, bulanık görme, fotofobi ve gözde ağrı oluşabileceği bilinmektedir (Dilek, 2010).

Bir diğer önemli toksisite olan hematolojik toksisite, tedavide kullanılan kemoterapötik ilaçların kemik iliğini baskılaması sonucu eritrosit (anemi), lökosit (nötropeni) ve trombosit (trombositopeni) sayısının düşmesi şeklinde karşımıza çıkar (Can, 2005). Tedavi seyrine bağlı olarak oldukça sık ortaya çıkan doz sınırlayıcı yan etki miyelosupresyondur. Kemoterapi için doz sınırlayıcı olmayan anemi genellikle yavaş ortaya çıkar. Ayrıca, nötrofil ve trombosit sayıları kemoterapi etkisiyle belirgin şekilde düşebilir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş, 2011).

Kanser tedavisinde en yaygın görülen toksisite tipi gastrointestinal toksisite olup, diyare şeklinde gözlenmektedir. Gastrointestinal sistem epitel hücrelerin mitotik olarak aktif olduğu ve sitotoksik atığa karşı savunmasız olduğu bilinmektedir. Kemoterapi ile ilintili bulantı, kusma, anoreksi, mukozit ve konstipasyon gibi komplikasyonlarla da karşılaşmaktadır (Sabuncuoğlu ve Özgüneş, 2011).

Cilt toksisitesinin temel gelişim nedeni deri ve mukozal hücrelerin hızlı bölünmeleri nedeniyle kemoterapiye karşı oldukça hassas olmalarıdır (Dilek, 2010). Yüksek doz kemoterapi sonrasında deride enfeksiyonlar, kutanöz malignite, metastatik yayılma ve graft-host reaksiyonu gibi durumlar ortaya çıkabilmektedir (Sabuncuoğlu ve Özgüneş, 2011). İlaveten, ürtiker, anjiyoödem, kontakt dermatit yine cilt toksisitesine bağlı sık görülen diğer yan etkidir. Diğer yandan en sık rastlanan toksisitelerden biri de alopesi ve sitomatitdir. Tedavi başlamasına müteakip 2-4 hafta içerisinde dökülmeye başlayan saçlar, tedavi sonrasında 3-6 ay içinde tekrar çıkmaya başlar (Dilek, 2010).

Kanser tedavisi kaynaklı nörotoksisite iyi şekilde bilinmektedir. Kemoterapi veya radyoterapi, merkezi veya periferik sinir sistemleri üzerinde tedavinin seyrini sınırlayabilecek önemli etkilere sahip olabilir. Kanseri tedavi etmek için biyolojik ve immünoterapötik ajanların geliştirilmesiyle birlikte, az bilinen yeni nörotoksisite modelleri ortaya çıkmıştır (Stone ve De Angelis, 2016).

### ***Nörotoksisite***

Nörotoksisite doğal veya yapay maddelerin sinir sisteminin normal aktivitesini olumsuz yönde değiştirmesi şeklinde tanımlanabilir. Herhangi bir sebepten ötürü meydana gelen bu süreç nöron ölümüne kadar gidebilir. Nörotoksisiteye neden olan nörotoksik maddeler eksojen veya endojen kaynaklı olabilir. Endojen kökenli nörotoksik ajanlara glutamat, histamin, kinolik asit ve bilirübin örnek olarak verilebilir. Nörotoksisiteye neden olan eksojen kaynaklara örnek olarak kemoterapi, radyoterapi, ağır metaller (civa, kurşun gibi), karbon monoksit gibi zararlı gazlar, pestisitler, solventler, kozmetikler, kontamine yiyecekler ve bazı doğal maddeler verilebilir (Güven, 2009).

Nörotoksisitede birçok tip mevcut olup, nöron hücrelerin ölümü söz konusu ise bu durum nöronpati olarak ifade edilir. Akson dejenerasyonun gözlemlendiği, geri dönüşümlü ceryan eden disfonksiyon aksonopati olarak adlandırılır. Hekzan, akrilamid gibi maddeler bu tip nörotoksisiteye neden olurlar. Myelinopati myelin yapıda hasar olarak isimlendirilmekte olup, kurşun ve heksaklorofen bu tip hasara neden olan ajanlara örnek gösterilebilirler. İletim toksisitesi ise organofosfat

zehirlenmesinde olduğu gibi nörotransmisyonun bloke olmasıyla meydana gelmektedir (Güven, 2009).

Kemoterapite tedaviye bağlı olarak gelişebilen önemli toksisitelerden biri olan nörotoksitede, nöropati türleri içerisinde en sık bildirilen türü kemoterapi ilişkili periferik nöropatidir (KİPN). Bu süreçte nöropati gelişme nedenleri; ameliyat, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi prosedürleri, primer veya metastatik tümörlerin infiltrasyonu veya sinirler üzerinde oluşturduğu doğrudan kompresyon, beslenme yetersizlikleri, metabolik rahatsızlıklar, fırsatçı enfeksiyonlar ve paraneoplastik nörolojik sorunlara bağlı gelişen sinir disfonksiyonu olarak sıralanabilir. KİPN ile ilişkili periferik sinir liflerinde meydana gelen enflamasyon veya dejenerasyon sonucunda duysal, motor ve otonom sinirlerde kısa süreli veya geri dönüşümsüz hasarlar oluşabilmektedir. Meydana gelen hasar ve kayıplar sonucunda bireylerin günlük yaşam aktivitelerinin yerine getirilmesi ve öz bakımın karşılanması konusunda güçlükler, uyku kalitesinde bozulma, yorgunluk ve travma riskiyle karşı karşıya kalınmaktadır (Stubblefield ve ark., 2009; Saklı ve Zencirci Demir, 2013).

KİPN ile ilişkili bir şekilde ortaya çıkan nöropatik ağrı, hissizlik, karıncalanma ve fonksiyon kayıplarının hastaların psikolojik durumunu da etkilediği bilinmektedir. Dolayısıyla, KİPN gelişimi kemoterapi protokolünün değişmesine, uygulanan tedavi dozunun sınırlandırılmasına ya da tedavinin erken dönemde sonlandırılmasına yol açmaktadır (Saklı ve Zencirci Demir, 2013; ACS, 2015; Majithia ve ark., 2016). Sonuç olarak tedavi başarısı ve sağ kalım oranları ile yaşam kalitesi olumsuz yönde etkilenmekte ve tedavi harcamaların arttığı bilinmektedir (Hong ve ark., 2014; Majithia ve ark., 2016).

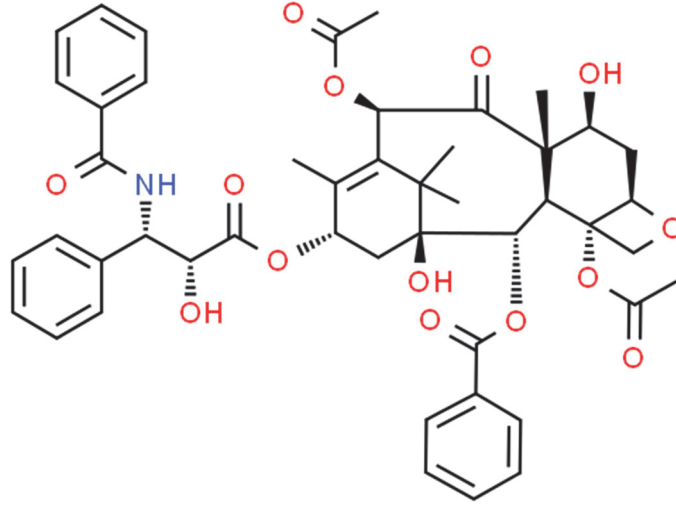
Duysal sinirlerin tutulum gösterdiği KİPN tablosu akut veya kronik, kalıcı veya geçici, hafif şiddette veya yoğun şiddette nörolojik bozukluklar şeklinde ortaya çıkmaktadır (Majithia ve ark., 2016). Kemoterapi ilişkili periferik nöropatide uygulanan sitotoksik ilacın türü, infüzyon süresi, kemoterapi süresi, kümülatif doz ve kombine kemoterapi olarak bilinen birden fazla nörotoksik ajanın bir arada verilmesi, kemoterapötik ajanların uygulama hızı, eş zamanlı kraniyal radyoterapi ve intrakarotid

veya intratekal kemoterapi önem arz etmektedir (Beijers ve ark., 2012; ACS, 2015; Brewer ve ark., 2016).

Burada tedavi protokolü önemli bir husus olup, kemoterapi ile ilişkili periferik nöropati açısından çok önemli bir risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. KİPN hastalarda kümülatif doza bağlı olarak ortaya çıkmasında platin bileşikler, taksanlar, vinka alkaloidleri, proteozom inhibitörleri ve bazı biyoterapi ajanlarının tek başına veya bir arada kullanımı etken olup, bunlara ait tedavi protokollerinde nörotoksisite daha sık gelişmektedir (Argyriou ve ark., 2014).

### 1.5. Paklitaksel

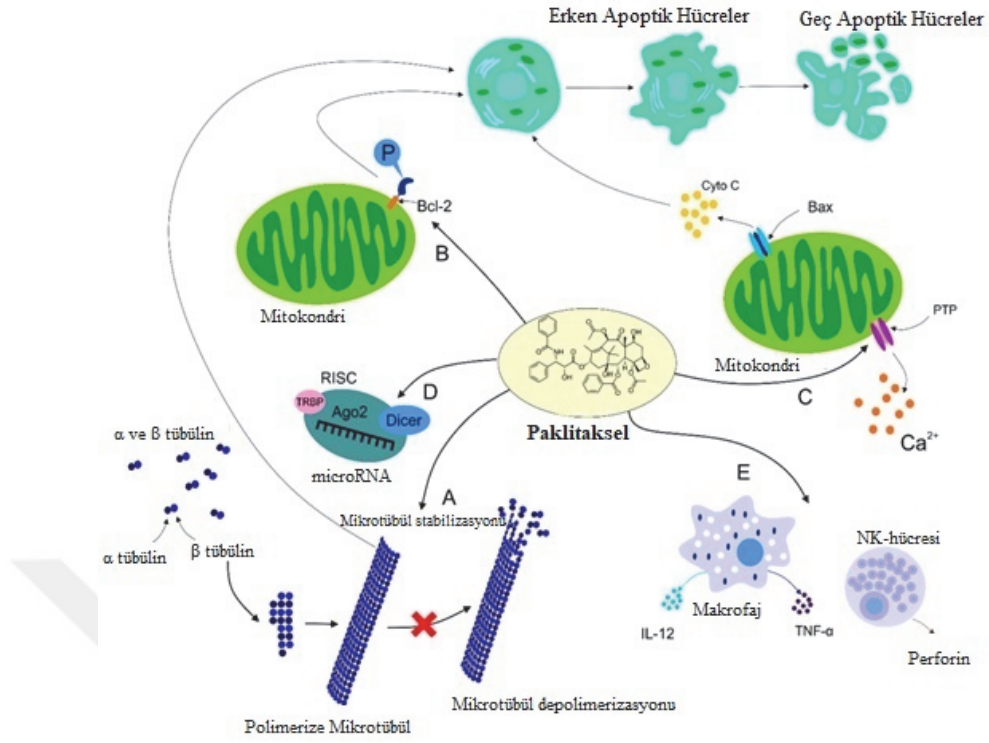
Ulusal Kanser Enstitüsü'nün yürüttüğü bir programda keşfedilen paklitaksel günümüzde kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan taksoid grubu antineoplastik ilaç olup, ilk defa 1963 yılında *Taxus brevifolia*'dan izole edilmiş ve kimyasal yapısı 1971 yılında tanımlanarak yayımlanmıştır (Wani ve ark., 1971). Beyaz renkte kristal toz yapıda olan paklitaksel, lipofilik özellik taşımaktadır. Açık adı 5 $\beta$ , 20-epoksi-1,2 $\alpha$ , 4, 7 $\beta$ , 10 $\beta$ , 13 $\alpha$ -hekzahidroksitaks-11-en-9 on 4, 10- diasetat 2-benzoat-13 ester (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilzoserin olup, molekül formülü C<sub>47</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>14</sub>, moleküler ağırlığı ise 853,9 dalton'dur (Panchagnula, 1998) (Şekil 1.1). Paklitakselin sudaki çözünürlüğü 0,3  $\mu$ g/ml, erime sıcaklığı ise 216-217°C'dir.



Şekil 1. 1. Paklitakselin kimyasal yapısı (Url-1)

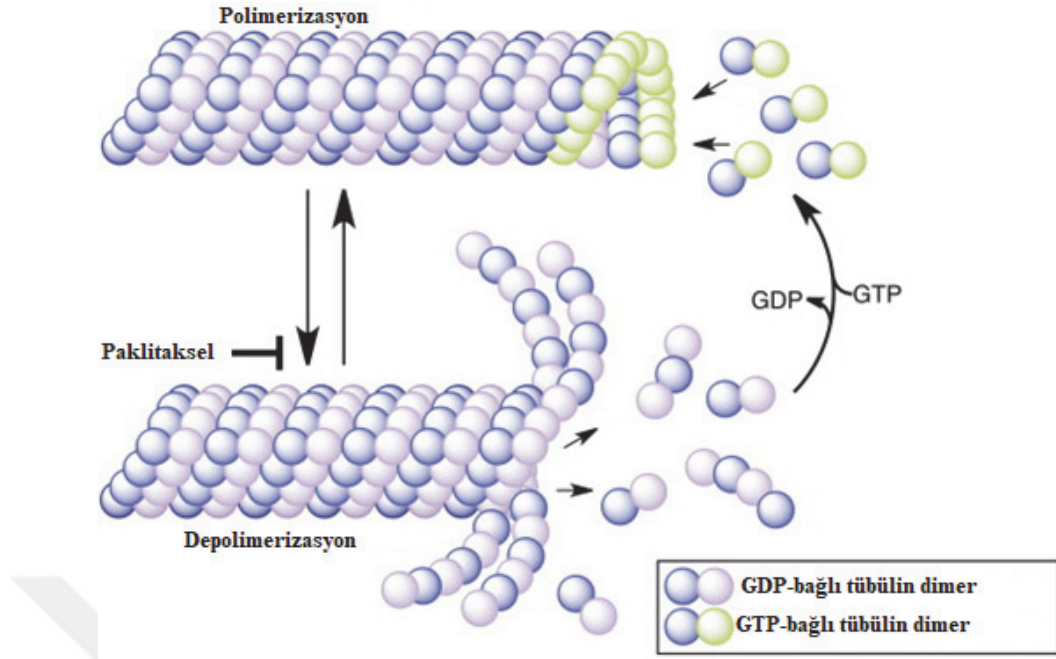
### ***Etki Mekanizması***

Hücre döngüsünü bloke etme ve apoptozis yoluyla etkisini gösteren paklitakselin bu özellikleri onu klinik uygulamalar için önemli hale getirmiştir (Singla ve ark., 2002; Lee ve ark., 2012). Mikrotübüller üzerinde etki gösteren vinca alkaloidleri olarak bilinen vinkristin ve vinblastin'den farklı olarak tubulin proteinlerine bağlanarak mikrotübül yapılanmasını engellemek yerine stabilize ederek hücre bölünmesini durduran paklitaksel,  $\beta$  tubulinde N-terminal 31 amino asite bağlanarak hücrelerin G2/M evresinde kalmasına neden olmaktadır. Hücre siklus sırasında mitotik faza geçemeyen hücreler bölünememekte ve G1 kontrol noktası tarafından apoptozise yönlendirilmektedir. Paklitakselin programlanmış hücre ölümü olarak ifade edilen apoptozise, etki mekanizması ise ilk defa 1993 yılında insan lenfoit lösemi hücrelerinde gösterilmiştir. Hücrelerin mitotik evreye geçmelerini engellemesiyle bölünemeyen hücreler, mitotik evrede kalan hücre sayısındaki artışla o hücrelerin apoptozise yönlendirici sinyaller oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca, paklitaksel bcl-2 adı verilen ve apoptozisi bloke eden proteine bağlanarak onu inhibe etmektedir. Bu durum apoptozisin sürekliliğini sağlamaktadır (Horwitz, 1994; Belotti ve ark., 1996; Mastropaolo ve ark., 1995; Soy, 2006; Blagosklonny ve Fojo, 1999) (Şekil 1.2).



Şekil 1. 2. Paklitakselin etki mekanizması (Abu Samaan, 2019)

Özellikle katı tümörlerin tedavisinde başarılı bir antikanser ajan olan paklitaksel (Şekil 1.3), anti tümör etkisini hücrede mikrotübüllerin toplanmasını artırarak ve depolimerizasyonunu önleyerek göstermektedir. Metastatik over, meme ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserlerinde kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır. Sudaki düşük çözünürlüğüne ilaveten intestinal permeabilitesi de düşük olduğundan biyofarmasötik sınıflandırma sistemine göre Sınıf 4 ilaç olarak adlandırılır. Metabolize edici enzimlere karşı yüksek afinite gösteren ve glikoprotein substratı olan paklitaksel, yüksek molekül ağırlığına sahiptir (Singla ve ark., 2002; Bhardwaj ve ark., 2009; Kollipara ve ark., 2010; Yerlikaya, 2013). Yan zincir taksan halkasına antitümör aktivite için gerekli olan karbon 13'ten bağlanmıştır. Paklitaksel, çeşitli kültürlerde alınmış kanser hücrelerinde antiproliferatif ve kanserli hastalarda antineoplastik etkiler gösteren, çekirdeğinde kompleks taksan halkaları içeren bir diterpenoid bileşiktir. Bu etkiler taksolün tübülün polimerizasyonunu artırma yeteneği ve tübülün depolimerizasyonunu engellemesi ile ilişkili görünmektedir. Ayrıca taksolün gen ekspresyonunu da değiştirdiği rapor edilmiştir (Toillon ve ark., 2000; Hawkins ve ark., 1996).



Şekil 1. 3. Paklitakselin tübülünlere etkisi (Gornstein ve Schwarz, 2014)

Klinik kullanımının onaylanmasına müteakip, sisplatine dirençli over kanserlerinin tedavisi için onaylanmış (Rowinsky ve Donehower, 1995), meme, akciğer, özofagus ve baş-boyun kanserlerine karşı umut verici nitelikte görülerek tek başına veya diğer kemoterapötiklerle kombinasyon halinde kullanılmış önemli bir kemoterapötiktir. Günümüzde paklitaksel başlangıç tedavisi olarak kullanılmaktadır. Ancak, tedavi sağlamış olduğu bu avantajlarının yanında mukoza iltihabı, dispne, ürtiker, hipotansiyon, miyalji, alopesi, pulmoner yağ embolisi, atriyal aritmi, iskemi, ventriküler taşikardi, miyelosupresyon, nötropeni ve periferik nöropati gibi ciddi yan etkilerle birlikte nöron hasarına neden olduğu rapor edilmiştir (Letourneau ve Ressler, 1984; Scuteri ve ark., 2006; Işık, 2013). Yaratmış olduğu bu nörotoksisitenin glutamata bağlı eksitotoksik özellikler barındırdığı bilinmektedir. Ayrıca, paklitakselin kan beyin bariyerini geçemeyip, bundan dolayı çoğunlukla periferik sinir sistemini etkileyip duyuşal aksonal nöropatiye neden olduğu bilinmektedir (Park ve ark., 2011). Kanser tedavisi ile ilintili olarak kullanılan paklitakselin, agresif doz protokolü paklitaksel kaynaklı ağırlı periferik nöropati semptomlarına sebebiyet vermektedir. Semptomların yaş, cinsiyet, teşhis edilen kanserin tipi ve aşamasına ayırt edilmeksizin, tedavi protokolüne bağlı olarak paklitaksel uygulanan hastaların %3-

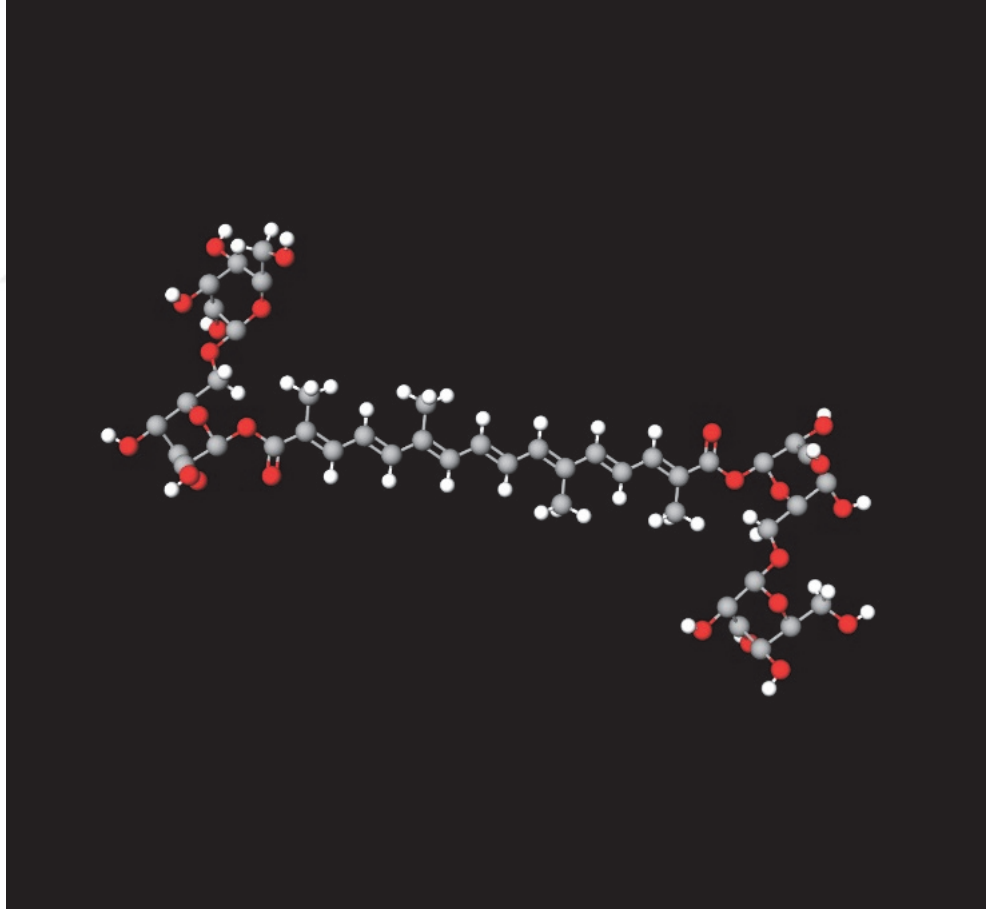
95’inde görülebildiği rapor edilmiştir (Chaudhry, 1994; Cavaletti ve ark., 2004; Cata ve ark., 2006). Paklitaksel kaynaklı nöropatinin şiddeti ve insidansı yüksek tek doz ve kümülatif doz ile birlikte artmaktadır. Ayrıca, aksonalardaki mitokondrilere bağlanan paklitaksel, mitokondriyal permeabilite transisyon porların geçirgenliği ile birlikte hücre içi kalsiyumunun da artışına sebebiyet vermektedir. Bu durum hücre içi kalsiyumdaki artışın, ağrı davranışı ile sonuçlanan nöronal hipereksitabiliteyi arttırmasıyla açıklanmaktadır (Flatters ve Bennet 2006).

Taksol ile kültürlenmiş nöronların kültür substratı üzerinde uzamayan kısa ve geniş uzantıları barındıran yoğun şekilde paketlenmiş mikrotübül dizileri içerdiği bilinmektedir. Ayrıca, taksol muamelesi akabinde meganöritlerdeki ortalama mikrotübüller arası mesafenin, kontrol nöritlerindeki mikrotübüller arasındaki ortalama mesafeden ( $32,5 \pm 31,7$  nm,  $n= 155$ ) önemli ölçüde daha az ( $12,0 \pm 10,6$  nm,  $n= 200$ ) olduğu, sinir hücrelerindeki mikrotübüllerin dar keseler veya düz endoplazmik retikulum tüpleri ile yakın ilişkisiyle neredeyse paralel mikrotübüller arasındaki dar boşluklara sıkıştırılmış şeklindeki görünümü rapor edilmiştir (Letourneau ve Ressler, 1984). Yine, preklinik çalışmalar ile paklitakselin siyatik sinir Schwann hücrelerinin ve aksonlarının mikrotübüllerinde biriktiği rapor edilmiştir (Roytta ve ark., 1984; Caveletti ve ark., 1997).

## 1.6. Krosin

Safran (*Crocus sativus* L.)’ın altın sarısı-turuncu rengi  $\alpha$ -krosin (8,8-diapo-8,8-karotenoik asit) tarafından ileri gelmektedir. Krosin doğal bir karotenoid bileşik olup, gentiobioz adlı disakkarit ile krosetin adlı dikarboksilik asitten meydana gelen bir digentiobioz esteridir. Parlak kırmızı renkli olup suda çözünerek kırmızı-turuncu bir çözelti oluşturmaktadır. Krosetin ile konjuge şekerin alan konfigürasyonuna bağlı olarak, üretilen birçok farklı krosin konfigürasyonu vardır (Koulakiotis ve ark., 2015), ancak krosinler esas olarak trans-formda bulunur (Mir ve ark., 2020). Cis/trans formunun farkı, esas olarak C13 konfigürasyonunun farklılığından kaynaklanmaktadır. Pikrokrosin, safranal, krosin (krosin-1,  $R1 = R2 =$  gentiobiosyl; krosin -2,  $R1 =$  gentiobioz,  $R2 =$  glukosil; krosin-3,  $R1 =$  gentiobioz,  $R2 = H$ ; krosin -4,  $R1 =$  glukosil,  $R2$  gibi aktif bileşikler =  $H$ ) ve krosetin ( $R1 = R2 = H$ ) safranda

bulunur (Alavizadeh, 2014). Krosinin içeriği safran bitkisinin yetiştirildiği yere ve kurutulma usulüne göre değişiklik göstermekle birlikte %13,5–15,0 ila %24-27 arasında değişebilmektedir (Özel ve Erden, 2005; Menia ve ark., 2018). Çok güçlü bir bileşik olan krosin sayesinde yaklaşık 1 ölçü safran, 100.000 katı kadar suyu boyayabilmektedir. Krosinin güçlü bir antioksidan olduğu da bilinmektedir (Abdullaev, 2002). Safranin antioksidan aktivite özelliğinin yapısında bulunan (suda çözünen) krosin ve diğer karotenoidlerden kaynaklandığı kabul edilmektedir (Chobdar-Rahim ve ark., 2021). Krosin antitümör, antidepresan, hipotensiv, hipocampus gibi bazı tıbbi uygulamalarda da kullanılmaktadır (Siracusa ve ark., 2013; Rubert ve ark., 2016; D'Archivio ve Maggi, 2017).



şekil 1. 4. Krosin kimyasal yapı (PubChem CID 5281233)

*C. sativus* yüzyıllardan beri birçok tıbbi özelliği ile çok iyi tanımlanan, dünyanın en pahalı baharatıdır (Schmidt ve ark., 2007). Bunun yanı sıra boya bitkisi, drog ve kozmetikte kullanımıyla çok yönlü bir tarım ürünü olarak karşımıza çıkmaktadır (Şahin, 2021). Safran bitkisi (*C. sativus* L.), Iridaceae/Süsengiller familyasına ait bir tür olup, bu cinse ait ülkemizde 18 tanesi endemik olmak üzere toplam 32 tür, bazı türlerinde de 2 ila 10 arasında alt türü tanımlanmıştır (İpek ve ark., 2009; Sadeghi-Bakhtavari, 2010; Yıldız, 2017). *Crocus* cinsinden en bilinen ve de ekonomik değeri en fazla olan, tür *C. sativus* L. yani safrandır. Bu bitki toprak üstü tek yıllık, toprak altı ise çok yıllıktır. İran–Turan florasına ait bir eleman olan safranın doğal yayılış alanı 10° batı-80° doğu boylamları, 30°–50° kuzey enlemleri arasında yer almaktadır. Dolayısıyla, safranın anavatanı olarak Akdeniz Havzası ile doğuya doğru İran, Pakistan ve Afganistan'ı kapsayan alan olduğu söylenebilir. Uçucu yağlar ve protein bakımından zengin olan Safranda, 150'den fazla uçucu ve uçucu olmayan bileşik yer almaktadır. Yapılan araştırmalarda Safranın uçucu yağ oranının %0,3 ila %1,5 arasında değiştiği, bu bileşenler içerisinde ise en fazla oranın safranal ( $C_{10}H_{14}O$ ) olduğu tespit edilmiştir (İpek ve ark., 2009; Çınar ve Önder, 2019). *C. sativus* stigmalarının önemli bileşenleri, karotenoidler (krosetin, krokinler, a-karoten, likopen, zeaksantin), monoterpen aldehytler, monoterpenoidler (krokusatinler), izoforonlar ve flavonoidlerdir. Kuru safranın 100 gramı ortalama; 11,9 g su, 11,43 g protein, 111 mg kalsiyum, 11,1 mg demir, 148 mg sodyum, 1724 mg potasyum ile C ve B6 vitaminlerini içermektedir (USDA, 2020).

Tıbbi amaçlı kullanımı irdelendiğinde hem halk hekimliğinde hem de modern tıpta sıkça karşımıza çıkan safranın antik Mısır döneminde böbrek hastaları kullanıldığı Ebers Papirüsleri'nde bildirilmektedir (Koyuncu ve Güvenç, 1997; Ferrence ve Bendersky, 2004; Mousavi ve Bathaie, 2011; Başer, 2014). Yine, Hipokrat'ın safranı 200'den fazla ilacın bileşiminde (Ferrence ve Bendersky, 2004), Lokman Hekim'in ise 11 reçetesinde kullandığı bilinmektedir (Paşayeva ve Tekiner, 2014). Safran, birçok ülkede analjezik, yatıştırıcı, ateş düşürücü, balgam söktürücü, antispazmodik, afrodisyak, sindirim ve gaz giderici gibi çeşitli amaçlarla geleneksel tıpta kullanılmaktadır.

Modern tıpta kullanımı irdelendiğinde; safranın özellikle krosin içeriğine bağlı olarak anti-tümör etkisi gösterdiği ve hatta bazı tümörlerin gelişimini durdurduğu ve de geriletği fareler üzerindeki çalışmalarda gösterilmiştir (Tantry, 2017; Yıldız, 2017; Surgun-Acar ve ark., 2017). Yine gerçekleştirilen çalışmalarda özellikle akciğer, meme, mide, prostat, kolon ve rektum kanserlerinde umutvari sonuçlar ortaya koymuştur (Zheng ve ark., 2016). Son yıllarda, safranın çeşitli yararlı etkileri nöronal, kardiyovasküler, solunum ve diğer bozuklukların modellerinde gösterilmiştir (Samarghandian ve ark., 2010; Shafiee ve ark., 2017). Bununla birlikte, safranın genotoksinlerin neden olduğu oksidatif stres üzerinde koruyucu etkiler gösterdiği bilinmektedir (Premkumar ve ark., 2003). Ayrıca sıçanlarda sisplatin kaynaklı nefrotoksisite üzerinde koruyucu etkiye sahiptir (El-Daly, 1998). Son zamanlarda, endojen redoks durumunu zayıflatmak için çeşitli nutrasötiklerin düzenleyici rolü, nöroproteksiyona ulaşmak için etkili bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir (Dumont ve Beal, 2011; Prasad ve Muralidhara, 2012). Safran özlerinin ve biyoaktif bileşenlerinin mükemmel antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Hosseinzadeh ve ark., 2009; Mashmoul ve ark., 2013). Ayrıca, hayvan modellerinde antioksidan etkileriyle hafıza ve öğrenme geliştirici özellikleri kanıtlanmıştır (Papandreou ve ark., 2006; Papandreou ve ark., 2011; Amin ve Hosseinzadeh, 2015). Yine, safranın amiotrofik lateral skleroz (ALS) hastalığı üzerinde de olumlu etkileri olduğu yönünde bulgulardan bahsedilmektedir (UNIDO, 2014). Günümüzde, çeşitli hayvan modelleri kullanarak safranın ve biyoaktif bileşeni olan krosinin nöroprotektif etkilerini ortaya çıkarmak için kapsamlı araştırmalar devam etmektedir (Hosseinzadeh ve ark., 2012; Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh, 2015). Çalışmalar, safranın hayvanlarda ve insanlarda depresyonu azaltabileceğini ve erken dönemde Alzheimer hastalığının belirtilerini azaltabileceğini göstermiştir (Akhondzadeh ve ark., 2010). İlginç bir şekilde, safranın sulu özütünün, beyin dopamin seviyelerini doza bağımlı bir şekilde bir sıçan modelinde arttırdığı gösterilmiştir (Ettehad ve ark., 2013). Ayrıca, farelerin safranla (içme suyu yoluyla) ön işleminin, MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) ile tedavi edilen farelerde nigral ve retinal dopaminerjik nöronlara önemli nöroproteksiyon sağladığı bildirilmiştir (Purushothuman ve ark., 2013).

Nörodejeneratif hastalıkların geleneksel tedavilerinin aksine, krosinin doğal bir alternatif olarak makul kullanımını açıklamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Ahmad, 2020). Bu nedenle bu çalışmada, paklitaksel ile uyarılan nörotoksik etkilere karşı krosinin koruyucu etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



## BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

Escibano ve ark. (1996) krosin ile tedavi edilen hücrelerde, geniş sitoplazmik vakuol benzeri alanlar, azaltılmış sitoplazma, hücre büzülmesi ve piknotik çekirdekler gözlemleyerek bu durumun apoptoz indüksiyonunu düşündürdüğünü rapor etmişlerdir.

Mousavi ve ark. (2010) diyabetin en sık görülen komplikasyonlarından biri olan diyabetik nöropatiye karşı safran ve krosinin tedavide potansiyel olarak yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Nam ve ark. (2010) sıçan beyni mikrogliyal hücrelerinde krosin ve krosetinin anti-inflamatuar etkilerini amaçladıkları çalışmada; krosin ve krosetinin, aktive edilmiş mikrogliadan çeşitli nörotoksik moleküllerin üretimini azaltarak nöroproteksiyon sağladığını kayıt etmişlerdir.

Farsid ve Tamaddonfard (2015) sıçanlarda krosin, safran ve insülinin diyabetik periferik nöropati üzerindeki etkilerinin histopatolojik ve davranışsal değerlendirmeleri üzerine yapmış oldukları araştırmada, diyabetik nöropatili bir sıçan modelinde krosin, safran ve insülinin nöroprotektif etkilerini göstermişlerdir. Araştırmacılar ayrıca krosin ve safranalin insülinin nöroprotektif etkisini arttırdığını ifade ederek buna sebep olarak krosin ve safranin anti-hiperglisemik ve antioksidan özellikleri ile ilişkilendirmişlerdir.

Kalyoncu (2015) krosetin'in baş-boyun kanser hücreleri üzerindeki etkisini, krosetinin anti-tümör etkisini gözlemleyerek farklı kanser çeşitleri üzerinde de bu etkilerin incelenmesine temel bir kaynak oluşturmuştur.

Mehri ve ark. (2015) yapmış oldukları araştırmada akrilamide maruz kalan wistar sıçanlarında krosin uygulamasının davranışsal ve histopatolojik hasarları belirgin şekilde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir. Oksidatif stresin azaltılması, krosinin akrilamid kaynaklı toksisiteye karşı nöroprotektif etkilerinin önemli bir mekanizması olarak düşünülebileceğini ifade etmişlerdir.

Talaei ve ark. (2015) depresif bozukluğu olan hasta grupları üzerinde yapmış olduğu araştırmada krosin tableti ve bir seçici serotonin geri alım inhibitörü verdiği grubun plasebo grubuyla mukayese edildiğinde beck depresyon envanteri ve genel sağlık anketinde önemli ölçüde iyileştirilmiş puanlar gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Altınöz ve ark. (2016) STZ ile oluşturulan diyabetik ratların beyin dokularında krosin'in SOD, CAT ve GPX enzimlerinin mRNA ekspresyonlarını ve oksidatif stresi düzenlediğini göstermişlerdir.

Heidari ve ark. (2017) sıçanlarda D-galaktoz (D-gal) ile indüklenen yaşlanma modelinde krosinin beyin fonksiyonu üzerindeki yararlı etkilerini ve moleküler mekanizmalarını araştırmışlar ve sonuç olarak krosinin, Alzheimer gibi yaşa bağlı beyin hastalıklarını önlemek için bir sağlık ürünü olarak değerlendirilebileceğini rapor etmişlerdir.

Gedik ve ark. (2017) akrilamid kaynaklı karaciğer hasarını karşı krosinin güçlü antioksidan özelliklerinden dolayı hepatoprotektif etkisini tespit etmişlerdir.

Baghishani (2018) sık kullanılan bir ağrı kesici ilaç olan ve bilişsel işlev bozukluğu ile ilişkili nörotoksik etkiler gösteren tramadol'un sinir sistemi üzerindeki yan etkilerini azaltmak için krosinin potansiyel olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Shafahi ve ark. (2018) nörotoksisiteye neden olabilen ve nörodejeneratif bozukluk riskini artıran uyarıcı bir ilaç olan metamfetamin (METH)'e karşı krosinin koruma sağlayıp sağlayamayacağını araştırdığı çalışmada; apoptoz ve nöroinflamasyonun

inhibisyonu yoluyla METH nörotoksisitesi üzerine krosinin nöroprotektif etkilerini göstermişlerdir.

Velioğlu (2018) gıda katkı maddesi olarak yaygın kullanıma sahip olan tartrazin bileşiğinin sıçanların karaciğer dokusunda olası toksik etkilerinin gözlenmesi ve bu etkilerin antioksidan bir madde olan krosinin hangi oranda giderdiğinin tespitine yönelik yapmış olduğu araştırmada, hasar gören karaciğer dokularında bu hasarın güçlü bir antioksidan olan krosin tedavisi ile giderildiğini kayıt etmişlerdir.

Zhan ve ark. (2018) krosinin DNA hasarına neden olmamakla beraber DNA hasarını azaltmak için antioksidanik bir biyolojik aktivite göstermesi, T hücrelerinin çoğalmasını ve sitokin salgılanmasını desteklemesi ve bu nedenle yeni bir tür anti-tümör ilacı olabilme potansiyelini dikkate değer bulmuştur.

Krishnaswamy ve ark. (2020) krosinin orta yaşlı ratlara oral takviyesi ile endojen antioksidan sistemi iyileştirdiğini, yaşla ilişkili nöroinflamatuvar ve doku hasarı biyobelirteçlerini önemli oranda azalttığını tespit etmişlerdir.

Liang ve ark. (2020) krosinin arsenik trioksitin neden olduğu kardiyotoksisite üzerine yapmış oldukları çalışmada, arsenik trioksitin orjinal histopatolojik değişiklikler başta olmak üzere diğer biyobelirteçlerde krosin uygulamasının; QTc uzaması, miyokardiyal enzimler ve Troponin T seviyelerini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda histopatolojik sonucu da iyileştirdiğini rapor etmişlerdir.

Mohammadzadeh ve ark. (2020) krosinin anti-apoptotik aktivitesi ve Alzheimer hastalığı patogeneğinde yer alan proteinlerin ekspresyonunu düzenleyerek yüksek nörotoksisiteye sahip bir organofosfat pestisit olan malatyonun nörotoksik etkisini iyileştirdiğini ve sonuç olarak; krosinin, malatyonun kaynaklı nörotoksisite için bir tedavi olarak kullanılma potansiyelini ileri sürmüşlerdir.

Aljumaili (2021) yapmış olduğu çalışmada meme kanseri, lösemi ve sarkom gibi hastalıklarda DNA interkalasyonuna neden olup DNA replikasyonunu inhibe eden ve

çeşitli maligniteleri tedavi etmesi nedeniyle kemoterapötik bir ilaç olarak sıklıkla kullanılan doksorubisin (DOKS) ile indüklenen kardiyotoksisite üzerine krosinin koruyucu etkilerini araştırmıştır. Sonuç olarak, krosinin DOKS ile tedavi edilen kanser hastalarında kardiyoprotektif bir ajan olabileceği ileri sürülmüştür.

Du ve ark. (2021) yapmış oldukları araştırmada dünya çapında en yaygın görülen nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer'a karşı krosinin, etkili tedavide umut verici bir doğal ürün adayı olabileceğini göstermişlerdir.

Eteghadi ve ark. (2021) krosinin, sıçan striatumunda kolestaz kaynaklı nöroinflamasyon üzerinde iyileştirme etkilerine sahip olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Hadipour ve ark. (2021) krosinin amiloid-beta kaynaklı anksiyete benzeri davranışları ve nöronal hasarı azalttığını bununla birlikte hipokampal CA1 nöronlarındaki sinaptik plastisite kaybının, krosinin antiinflamatuvar etkileri ile olabileceğini belirtmişlerdir.

Keelo (2021) pinealektomize edilmiş ve streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ratlarda nefropati üzerine krosinin koruyucu etkilerinin araştırmaya yönelik yapmış olduğu çalışmada, krosinin diyabetik nefropati üzerindeki koruyucu etkileri, güçlü antioksidan özellikleri, doku antioksidan durumunu iyileştirme yeteneği ve inflamatuvar yolları önleme yeteneği ile ilişkili olabileceğini tespit etmiştir.

Taheri-Amlashi ve ark. (2022) yoksunluk sendromu oluşturulan ebeveynlerden doğan fare yavrularda refleksif motor davranışın krosin ile iyileştiğini ve krosinin serum antioksidan aktivitesini de iyileştirdiğini rapor etmişlerdir.

## BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

### 3.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi

Sitotoksik aktivite, SH-SY5Y (insan nöroblastoma hücre hattı) (ATCC® CRL-2266™) hatlarında 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) yöntemi ile belirlendi (Güner ve ark., 2020).  $1 \times 10^5$  hücre/mL konsantrasyondaki hücreler 96 gözlü hücre kültürü kaplarına 100'er  $\mu\text{L}$ 'lik hacimlerde ekildi ( $1 \times 10^4$  hücre/kuyucuk). Bu hücreler, 24 saat  $37^\circ\text{C}$ 'de, %85 nem ve %5  $\text{CO}_2$  içeren inkübatörde inkübe edilerek 24 saat sonra üzerlerindeki ortamlar uzaklaştırıldı, yerlerine farklı konsantrasyonda hücre kültürü ortamında dilüe edilmiş paklitaksel (0,01  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda) ve krosinin (0,5; 5; 50  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda) eklendi. Hücre canlılığı, inkübasyonun 48. saatinde 5 g/L konsantrasyonda MTT (30  $\mu\text{L}$ /kuyucuk) solüsyonu eklenerek 4 saat boyunca  $37^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildikten sonra formazan kristalleri DMSO (200 mL) ile çözülüp 570 nm'de ölçülmüştür. Çalışmada Thermo Scientific, Multiskan Spectrum'dan (Waltham, USA) yararlanılarak her bir 96 kuyucuklu hücre kültür plakalarında hücre canlılığı belirlendi.

### 3.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi

LDH salınım seviyelerini belirlemek amacıyla ticari LDH sitotoksisite kiti (Cayman, ABD) kullanıldı. LDH, apoptoz veya nekroz olayları esnasında meydana gelen hücre hasarı sonucunda hızla hücre kültür ortamına salınan bir enzimdir. Kit uygulamasının ilk basamağında laktatın piruvat oksidasyonu aracılığı ile LDH,  $\text{NAD}^+$ 'ın  $\text{NADH}$  ve  $\text{H}^+$ 'a indirgenmesini katalizlemektedir. Reaksiyonun ikinci basamağında diyaforaz, tetrazolyum tuzunun (INT) renkli bir bileşen olan formazana indirgenmesini katalizlemek amacıyla yeni meydana gelen  $\text{NADH}$  ve  $\text{H}^+$ 'ı kullanmaktadır. Üretilen formazan miktarı sitotoksisitenin bir sonucu olarak kültür medyumuna salınan LDH miktarı ile orantılıdır. Ölü ya da plazma membranı hasara uğramış hücrelerin sayısının

artışı kültür süpernatantında LDH aktivitesinin artışına neden olmaktadır. LDH testleri için pozitif kontrol olarak Mitomisin-C ( $10^{-7}$  M) kullanıldı.

### **3.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi**

Hücreler üzerindeki TAK seviyelerini belirlemek amacıyla ticari TAK kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanıldı. Kitin çalışma prensibi, kullanılan örneklerin bir serbest radikal olan 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) bileşiğinin oluşumunu inhibe etmek suretiyle sahip oldukları antioksidan düzeylerini belirlemektir. Kit uygulaması, vitamin E analogu olan ve Troloks eşdeğeri olarak adlandırılan kararlı bir antioksidan ile kalibre edilmektedir. TAK testleri için pozitif kontrol olarak askorbik asit kullanıldı.

### **3.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi**

Hücreler üzerindeki TOD düzeylerini belirlemek amacıyla ticari TOD kiti (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanıldı. Kit uygulamasında örnekte mevcut olan oksidan maddeler, demir iyonu içeren kompleksleri demir iyonuna oksitlemektedir. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamı içinde bol miktarda mevcut olan güçlendirici moleküller ile sürdürülmektedir. Demir iyonları asidik ortamda kromojen ile renkli bir yapı meydana getirmektedir. Spektrofotometrik olarak ölçülen renk yoğunluğu, örnekte bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile ilişkilidir. Kit uygulaması hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ile kalibre edilmektedir. TOD testleri için pozitif kontrol olarak  $H_2O_2$  kullanıldı.

### **3.5. Mikroçekirdek (MÇ) ve Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Yöntemi**

MÇ yöntemi, in vivo ve in vitro'da kimyasalların genotoksitesini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, Fenech ve Morley (1985) tarafından tarif edilen prosedürler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. SH-SY5Y hücre kültür ortamı, paklitaksel ( $0,01 \mu M$ ), krosin ( $0,5$ ,  $5$  ve  $50 \mu M$ ) ve bunların kombinasyonları, 7 ml Kromozom Medium B (Biochrom, Leonorenstr. 2–6.D-12247, Berlin), 100 U/mL penisilin, 100 mg/mL streptomisin ve 0,5 ml fitohemagglutinin

(Biochrom) içeren ortama eklenmiş ve hücre kültürü 37°C'de 72 saat inkübe edildi. 44 saatlik inkübasyonda, kültür ortamına Cytochalasin B (Sigma) eklenmiştir. İnkübasyon periyodundan sonra, kültür ortamı 10 dakika boyunca 900 g'de santrifüjlendi ve elde edilen hücreler, 30 dakika boyunca 0,075M soğuk potasyum klorür ile hipotonize edildi ve daha sonra hücreler, soğuk metanol/asetik asit (3:1, v/v) ile sabitlendi. Pipetle çekilen pellet önceden üzerine protokol numarası yazılmış, temizlenmiş ve soğutulmuş (+4°C) lamlara 45°'lik açı ile yayılarak karanlık bir ortamda kurumaya bırakıldı. Yayma işlemini takip eden 3. günün sonunda preparatlar 15 dk. Giemsa boyasında bekletildi. Boyama işleminin sonunda preparatlar tekrar distile sudan geçirilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Kuruyan lamalar entellan kullanılarak kapatıldı ve incelemeye hazır hale getirildi. Preparatlar ışık mikroskopunda immersiyon ( $\times 100$ ) objektifi ile incelendi. MÇ oluşumunu değerlendirmek için hazırladığımız sitokalazin-B'li kültürlerde elde edilen binükleuslu hücrelerde MÇ değerlendirme kriterleri dikkate alındı. Mononükleuslu, trinükleuslu veya daha fazla çekirdekli hücreler değerlendirme dışı bırakıldı. Her bir kültürde en az 1000 binükleuslu hücre incelendi ve MÇ frekansına bakıldı (Fenech, 2000).

KKD yöntemi için 500  $\mu$ L SH-SY5Y hücre kültür ortamı, paklitaksel (0,01  $\mu$ M), krosin (0,5, 5 ve 50  $\mu$ M) ve bunların kombinasyonları, 10 mg/L 5-bromo-20-deoksiüridin (BrdU; Sigma), 7 ml kromozom medium B (Biochrom, Leonorenstr. 2–6.D-12247, Berlin), 100 U/mL penisilin, 100 mg/l streptomisin ve 0,5 ml fitohemagglutinin (Biochrom) içeren kültür ortamına ilave edilmiş ve bu hücre kültürü 37°C'de 72 saat süreyle inkübe edildi. 70 saatlik inkübasyonda, kültür ortamına bir mitotik inhibitör olan 0,06 mg/L kolsemid (Sigma) ilave edildi. İnkübasyon süresinin sonunda kültür ortamı 900 g'de 10 dakika santrifüj edildi, elde edilen hücreler, 30 dakika boyunca 0,075 M soğuk potasyum klorür ile hipotonize edildi ve daha sonra hücreler buz gibi soğuk metanol/asetik asit ile sabitlendi (3:1, v/v) ve daha sonra Perry ve Wolff (1974) tarafından tarif edildiği gibi floresan artı Giemsa (FPG) ile boyandı. SCE hücresinin puanlanması için, tek bir gözlemci tarafından 1000 x büyütmede bir ışık mikroskobu kullanılarak 46 ( $\pm 2$ ) kromozom içeren 25 iyi yayılmış ikinci bölünme metafazı sayıldı. Her konsantrasyon için toplam 1000 metafaz sayıldı ve sonuçlar hücre başına SCE olarak hesaplandı.

### 3.6. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi

DNA fragmentasyonu, üreticinin talimatlarına göre Cell Death Detection Kiti (Sigma Aldrich, İngiltere) ile belirlendi. Hücreler ( $1 \times 10^5$  hücre/kuyucuk) 96 kuyucuklu bir plakaya eklendi ve daha sonra hücreler, 72 saat boyunca paklitaksel ( $0,01 \mu\text{M}$ ), paklitakselin farklı konsantrasyonlarına ( $0,5$ ;  $5$  ve  $50 \mu\text{M}$ ) ve bunların kombinasyonuna maruz bırakıldı. 20 mL sitoplazmik fraksiyonlar, anti-DNA antikorları ile streptavidin kaplı 96 kuyucuğa aktararak oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra 2,20-azino-di-(3-etilbenziazolin sülfonat) diamonyum tuzu ilave edildi ve absorbanslar bir ELISA okuyucu kullanılarak  $405 \text{ nm}$ 'de ölçüldü.

### 3.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu

Kaspaz 3/7 ekspresyonu, Kaspaz-Glo 3/7 Testi (Promega) ile belirlendi. Hücreler  $1 \times 10^5$  mL konsantrasyonda 96 kuyucuklu plakalara ekildi ve 72 saat boyunca sisplatin ve ligandrolün farklı konsantrasyonlarına maruz bırakıldı. İnkübasyondan sonra, her kuyuya Caspase Glo 3/7 reaktifi ( $100 \text{ mL}$ ) ilave edildi ve lüminesans 10 dakikalık bir inkübasyondan sonra ölçüldü.

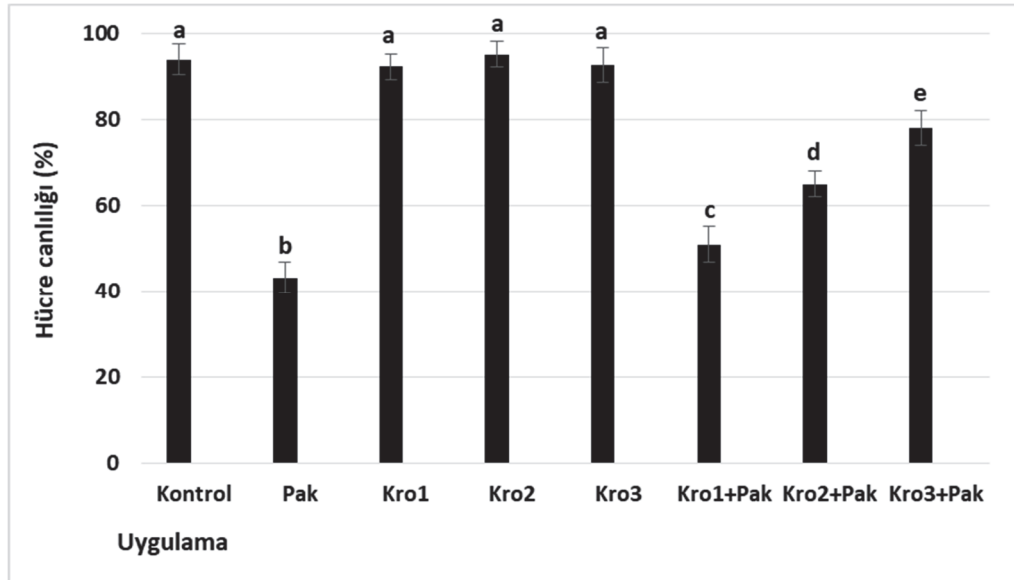
### 3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 20 (SPSS, Chicago, IL, ABD) programı ile yapıldı. Deneysel veriler, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelendi. Uygulama ve kontrol grupları arasındaki farklar Duncan testi ile belirlendi. Veriler arasındaki korelasyonları belirlemek için Pearson'ın  $r$  katsayısı kullanıldı. Elde edilen veriler, en az üç bağımsız deneyin ortalaması  $\pm$  SD olarak ifade edildi ve  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi. Tüm deneyler üç kez gerçekleştirildi.

## BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi (MTT Yöntemi)

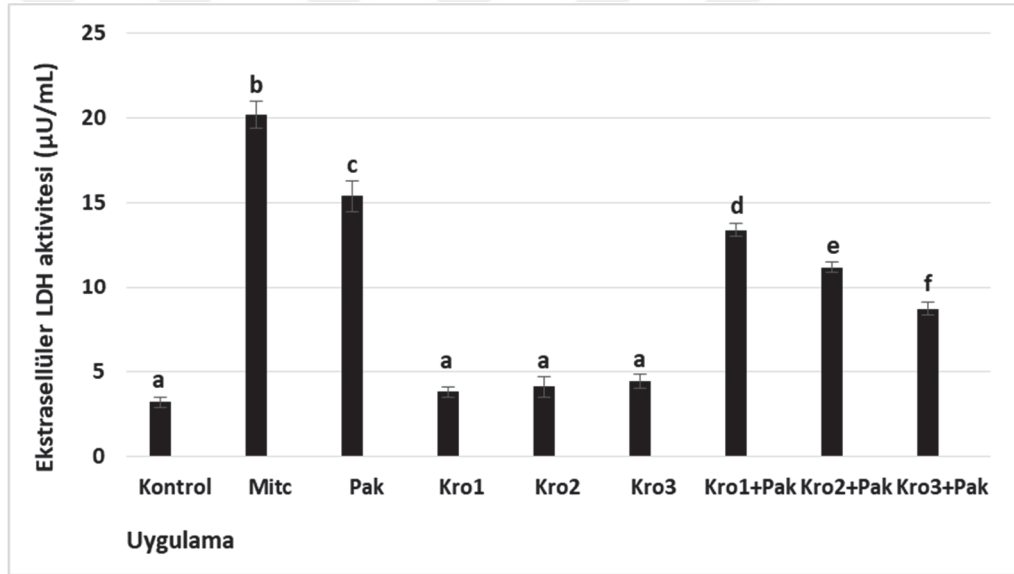
Paklitaksel (0,01  $\mu$ M), krosin (0,5, 5, ve 50  $\mu$ M) ve bunların kombinasyonunun SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı üzerine etkileri, MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Paklitaksel ile muamele edilen hücrelerin canlılık düzeyinin, kontrole kıyasla 2,17 oranında, önemli derecede azaldığı ( $p<0,05$ ) bulunmuştur. Krosinin uygulamaları en yüksek konsantrasyonlarda bile canlılık seviyelerinde anlamlı bir değişime yol açmamıştır. Paklitaksel ile krosinin kombinasyon uygulamaları, paklitaksele kıyasla doz artışına bağlı olarak sırasıyla 1,18; 1,5; 1,8 oranlarında önemli derecede ( $p<0,05$ ) arttırmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonlarının hücre canlılığına etkisi (pak: paklitaksel, Kro: krosin). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

#### 4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi

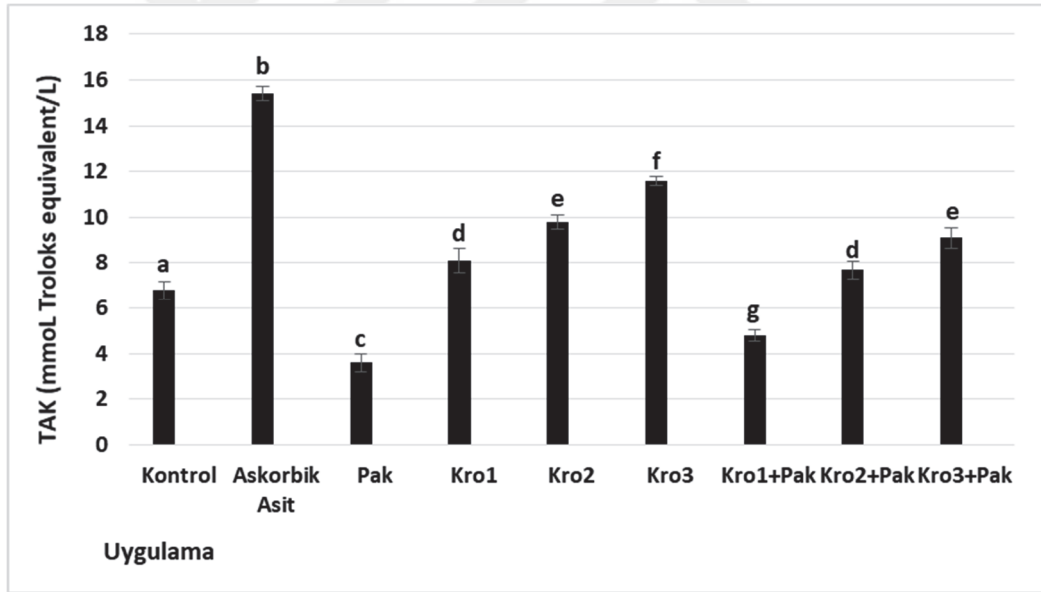
Sitotoksik etki sonucu hücrelerin veya dokunun canlılığını yitirmesiyle birlikte ortama salınan LDH aktivitesi ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak kullanılan Mitomisin-C, hücrelerden salınan LDH'nin aktivitesini 6,6 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) arttırmıştır. Paklitaksel uygulaması, kontrole göre LDH seviyelerini 4,8 oranında önemli derecede arttırırken ( $p<0,05$ ), krosin uygulaması LDH seviyelerinde değişime yol açmamıştır. Paklitaksel ve krosin kombinasyonunda ise konsantrasyon artışına bağlı olarak ekstrasellüler LDH aktivitesi, yalnız paklitaksel uygulamalarına kıyasla sırasıyla 1,14; 1,37 ve 1,77 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) azalmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Mitomisin-C, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan ekstrasellüler LDH'nin aktivitesi (pak: paklitaksel, kro: krosin, mitc: mitomisin-C). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

### 4.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

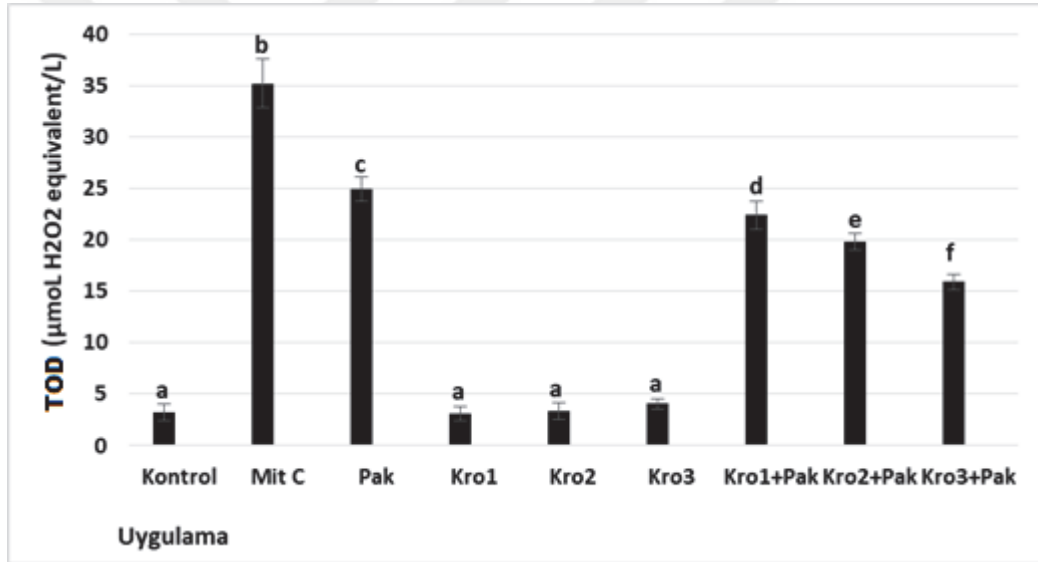
Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele sonucu hücre ortamındaki antioksidan değişim, TAK ile ortaya konulmuştur (Şekil 4.3). Kontrole göre total antioksidan miktarı askorbik asit ile muamelede 2,26 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) artarken, paklitaksel ile muamelede 1,88 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) azalmıştır. Bununla birlikte, krosin uygulaması artan konsantrasyon (0,5, 5, ve 50  $\mu\text{M}$ ) ile TAK seviyelerini sırasıyla 1,19; 1,44 ve 1,77 oranında önemli derecede artmıştır ( $p<0,05$ ). Paklitakselin krosin ile kombinasyonunda ise total antioksidan kapasitesinin neredeyse kontrole yakınlığı bulunmuştur. Artan krosin konsantrasyonları ile total antioksidan miktarında paklitaksele kıyasla sırasıyla 1,33; 2,13 ve 2,52 oranında artış meydana gelmiştir.



Şekil 4.3. Hücrelerin askorbik asit, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total antioksidan miktarı (pak: paklitaksel, kro: krosin). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g, h, i) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

#### 4.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi

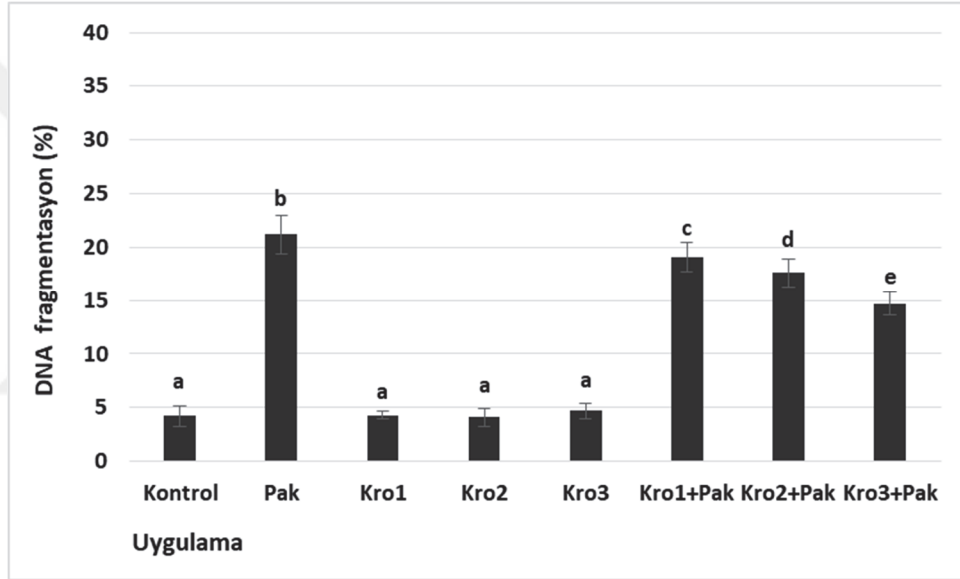
Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu uygulamaları sonrası hücre ortamındaki oksidatif değişimler, TOD analizi ile ortaya konulmuştur. Mitomisin-C ve paklitaksel uygulamaları kontrolle kıyaslandığında, sırasıyla 11 ve 7,78 oranlarında TOD seviyelerini önemli derecede arttırmıştır ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.4). Krosinin en yüksek konsantrasyonları total oksidan seviyelerde herhangi bir değişime neden olmamıştır. Paklitaksel ile krosinin kombinasyonunda ise artan krosin konsantrasyonları ile total oksidan durumunda paklitaksel uygulamalarına göre sırasıyla 1,11; 1,25 ve 1,56 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) azalmaya yol açmıştır.



Şekil 4.4. Hücrelerin mitomisin-C, paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total oksidan durumu (pak: paklitaksel, kro: krosin, mitc: mitomisin-C). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

#### 4.5. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi

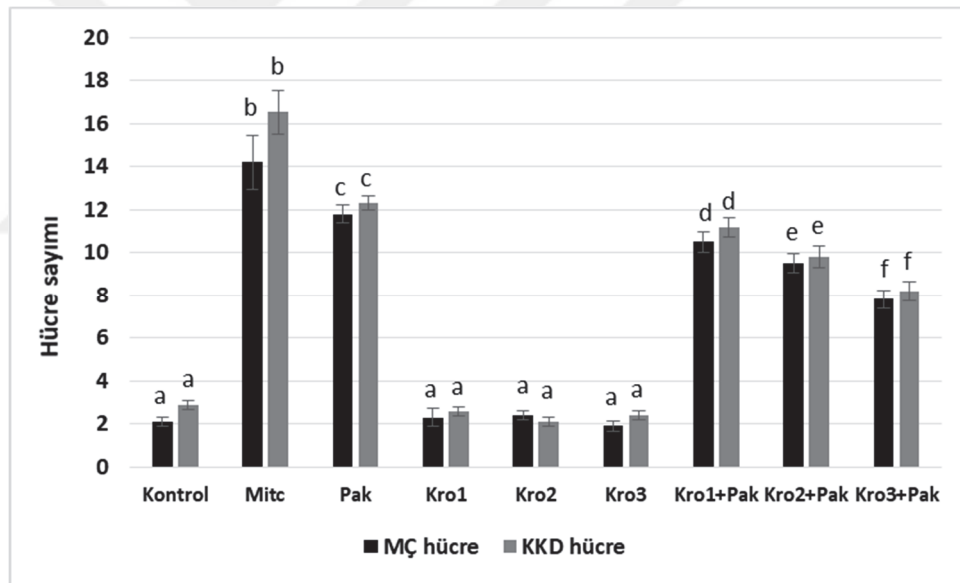
Paklitaksel uygulamaları kontrole kıyasla DNA fragmentasyonunu 5,04 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) artırmıştır. Krosinin farklı konsantrasyonlarının DNA fragmentasyon oranında herhangi bir değişime yol açmazken, paklitaksel ile kombinasyonda artan konsantrasyonlara bağlı olarak DNA fragmentasyonu paklitaksele kıyasla sırasıyla 1,1; 1,2 ve 1,44 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) azalmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde DNA fragmentasyon oranı (pak: paklitaksel, kro: krosin). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

#### 4.6. Mikroçekirdek (MÇ) ve Kardeş Kromatit Değişimi (KKD)

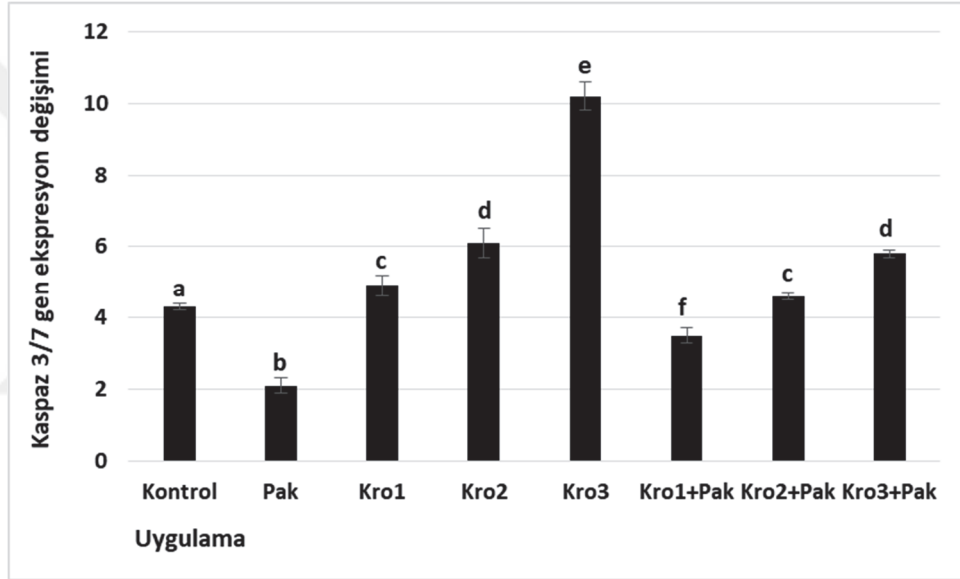
Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile uygulamaları sonrası SH-SY5Y hücreleri üzerindeki genotoksik etkiler, MÇ ve KKD testleri ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.6). Paklitaksel uygulamaları kontrole kıyasla MÇ ve KKD frekanslarını sırasıyla 5,61 ve 4,38 kat arttırmıştır ( $p<0,05$ ). Krosin uygulamaları hücre sayıları önemli bir değişikliğe neden olmamış yani genotoksik etkilere neden olmamıştır. Paklitaksel ile krosinin artan konsantrasyonlarının kombinasyon uygulamaları yalnız paklitaksel uygulamalarına kıyasla MÇ seviyesini sırasıyla 1,35; 1,49 ve 1,82 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) azaltırken, KKD seviyelerini ise 1,47; 1,68 ve 2,01 oranında önemli derecede azaltmıştır ( $p<0,05$ ).



Şekil 4.6. Paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edildiğinde MÇ ve KKD hücre sayısı (pak: paklitaksel, kro: krosin). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

#### 4.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu

Kaspaz 3/7 ekspresyon değişimi incelendiğinde, paklitaksel uygulamaları sonrası kontrole göre 2,04 oranında azalırken, krosin ile muamelede artan konstantrasyona bağlı olarak sırasıyla 1,13; 1,41 ve 2,37 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) artmıştır. Paklitaksel ve krosinin kombinasyon uygulamaları doz artışına bağlı olarak, paklitaksele kıyasla kaspaz 3/7 ekspresyonunda sırasıyla 1,66, 2,19 ve 2,76 oranında önemli derecede ( $p<0,05$ ) artışa yol açmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Hücrelerin paklitaksel, krosin ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle Kaspaz 3/7 ekspresyon değişimi (pak: paklitaksel, kro: krosin). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g, h) gösterilen barlar  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kemoterapötik ajanlar periferik sinirler üzerinde toksik etkilere neden olabilir. Bu etkiler, duyuşal fonksiyon kaybı ve hafif paresteziden nöropatik ağrıya, şiddetli ataksi ve belirgin sakatlığa yol açan zayıflığa kadar değışebilir. Ortostatik hipotansiyon, impotans ve inkontinans ile birlikte otonom sinir liflerinin tutulumu yaşam kalitesini daha da düşürebilir. Birçok sitotoksik ajanın nörotoksik etki gösterdiği rapor edilmiştir. Paklitaksel, antitümör aktivitesini mikrotübül oluşumunu teşvik ederek gösterir. Sonuç olarak, nöropati paklitakselin toksik yan etkilerinden biridir. Periferik duyuşal nöropati, paklitakselin en sık bildirilen nörotoksik etkisidir. Paklitaksel tek başına veya sisplatin gibi diğer nörotoksik antineoplastik ajanlarla kombinasyon halinde verildiğinde, yüksek ve kümülatif dozları ile tedaviyi sınırlar (Scripture ve ark., 2006). Paklitaksel hücre döngüsünü bloke etme ve apoptozis yoluyla etkisini göstermesi nedeniyle klinik uygulamalarda tercih edilmektedir (Singla ve ark., 2002; Lee ve ark., 2012). Önceki çalışmalar, kemoterapötik ilaçların apoptoz indüksiyonu yoluyla kanserli dokunun büyümesini kontrol ettiğini göstermiştir. Bu nedenle, yeni bir kemoterapötik ilaçla tedaviyi takiben apoptozun değerlendirilmesi, etkinliğin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Paklitaksel: fosfatidilinositol-4,5-bifosfat 3-kinaz (PI3K)/RAC- $\alpha$  serin/treonin-protein kinaz (AKT) yolu, epidermal büyüme faktörü reseptör yolu ve mitojenle aktive olan protein kinaz dahil (MAPK) yolunu içeren farklı sinyal iletim yolları aracılığıyla çoklu hücre tiplerinde apoptozu indüklemektedir (Ren ve ark., 2018). Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)/AKT sinyal yolunun derüglasyonunun, kanser gelişimi ve kanser ilerlemesi ile yakından ilişkili olduğunu bununla birlikte meme kanserinde potansiyel biyobelirteçler olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Tserga ve ark., 2016). MAPK sinyali, redoksa duyarlı bir sinyal yoludur. MAPK yollarının potansiyel aktivasyonunu indükleyen bir stres türü, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif streştir. Genel olarak, bir hücrede artan ROS üretimi, ERK'lerin, JNK'lerin veya p38 MAPK'lerin aktivasyonuna yol açar, ancak ROS'un bu kinazları aktive edebildiği mekanizmalar belirsizdir (Son

ve ark., 2011). Bağımsız olarak, Paklitaksel bcl-2 adı verilen ve apoptozisi bloke eden proteine bağlanarak onu inhibe etmektedir. Bu durum apoptozisin sürekliliğini sağlamaktadır (Horwitz, 1994; Mastropaolo ve ark., 1995; Belotti ve ark., 1996; Soy, 2006; Blagosklonny ve Fojo, 1999). Krosin, *C. sativus* bitkisinin altın sarısı-turuncu rengini (8,8-diapo-8,8-karotenoik asit) sağlayan bir karotenoid bileşik olup, gentiobioz adlı disakkarit ile krosetin adlı dikarboksilik asitten meydana gelen bir digentiobioz esteridir. Çok güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olan krosinin, antitümör, antidepresan, hipotensiv bazı tıbbi uygulamalarda da kullanıldığı bilinmektedir (Abdullaev, 2002; Siracusa ve ark., 2013; Rubert ve ark., 2016; D'Archivio ve Maggi, 2017). Krosin çoğu durumda nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için mevcut ilaçlardan daha az yan etki ile umut verici bir seçenek gibi görünse de düşük çözünme hızı, düşük biyoyararlanım ve hızlı eliminasyonu onu zayıf bir farmakoterapötik ajan adayını olduğunu düşündürmektedir (Umigai ve ark., 2011; Yoshino ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2012). Ancak, günümüzde aljinat ve kitosan hidrojelleri ile kapsülleme veya nanopartiküllerden faydalanılarak ciddi avantaj sağlamaktadır (Rahaiee ve ark., 2017; Severino ve ark., 2019; Ahmed, 2020). Sonuç olarak krosin ve türevlerinin dikkate değer farmakolojik özellikler sergilediği ve nörodejenerasyon, kardiyovasküler hastalık, serebrovasküler hastalık, depresyon, karaciğer hastalığı, artrit, tümör, diyabet vb. gibi çok çeşitli hastalıklara karşı potansiyel terapötik etkiler gösterdiği araştırmalarda rapor edilmiştir (Song ve ark., 2021). Bu nedenle bu çalışmada paklitaksel ile uyarılan nörotoksositeye karşı krosinin koruyucu etkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Paklitaksel tedavisi ile ilişkili periferik nöropatinin başlıca patogenezi, sitoplazma içinde anormal mikrotübül demetlerinin oluşumunu teşvik ederek normal hücre fonksiyonunun ve proliferasyonun bozulmasına yol açmasıdır (Rowinsky ve ark., 1993; Scripture ve ark., 2006). Literatür bilgilerini destekleyici olarak; bu çalışma sonuçları, paklitakselin nöron hücre canlılığını önemli oranda inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte krosin uygulamaları paklitakselin neden olduğu sitotoksik etkiler üzerine önemli düzeyde nöroprotektif etkiler sergilediğini göstermiştir (Gezici ve Koçum, 2021).

LDH hücrenin enerji metabolizmasında yer alıp, hücre yıkımı veya hasarlanması ya da doku hasarlanması sonucunda hücre dışına salınır. Bu çalışmada; paklitaksel ile

muamele sonucunda ekstrasellüler LDH aktivitesi, kontrole göre önemli oranda artmıştır. Bu durum, paklitakselin nörotoksik etkisini işaret etmektedir. Tek başına krosinin en yüksek konsantrasyonda bile ekstrasellüler LDH aktivitesini etkilemediği tespit edilmiştir. Paklitakselin artan konsantrasyonlarda krosin ile uygulamaları sonrası, ekstrasellüler LDH aktivitesinin giderek doğal hücre ortamındaki seviyelerine yaklaştığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, krosinin hücre membran defektlerini koruyup LDH aktivitelerini inhibe ederek sitotoksiteyi engellediğini görüşü ortaya çıkmıştır. Krosinin rat karaciğer hücrelerinde koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, krosinin BeCl<sub>2</sub> uygulamasından önce verildiğinde katalaz ve süperoksit dismutaz genlerinin mRNA ekspresyonlarında normale yakın anlamlı bir artış gözlenmiş, hematolojik ve biyokimyasal parametreler (LDH, AST, ALT, CAT, SOD vb.) eski normal seviyelerine yaklaşmıştır. BeCl<sub>2</sub>'nin hücre lipitlerin ve proteinlerin oksidasyonunu indüklediği ve bu krosin uygulamasının, antioksidan genlerin mRNA ekspresyonunun başlatılmasıyla birlikte BeCl<sub>2</sub>'nin neden olduğu oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir (El-Beshbishy ve ark., 2012). Paklitakselin hücre üzerinde sitotoksik etkisi ve nöron hücrelerinin canlılık düzeyinin ölçülmesi için paklitaksel, salisilik asit ve bunların kombinasyonu kullanılarak yapılan çalışmada; paklitakselin test edilen her iki konsantrasyonun için meydana getirdiği nörotoksitenin anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Salisilik asidin en yüksek konsantrasyonlarda bile canlılık seviyelerinde anlamlı bir değişime yol açmadığı, kombine kullanımda 100 uM salisilik asidin 10<sup>-1</sup> uM paklitakselin neden olduğu nörotoksiteye karşı hafif koruma sağladığı, bununla birlikte her iki salisilik asit konsantrasyonunun 10<sup>-2</sup> uM paklitakselin neden olduğu nörotoksiteye karşı koruyucu bir etki göstermediği rapor edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca salisilik asidin TOD düzeyini değiştirmeden antioksidan kapasiteyi desteklediğini belirtmişlerdir. İlaveten, paklitaksel ile kombine kullanımı halinde ise farklı salisilik asit konsantrasyonları ile muameleden sonra, her iki salisilik asit konsantrasyonun paklitaksel kaynaklı oksidatif strese karşı farklı koruma seviyeleri gösterdiği de kayıt edilmiştir (Cetin ve ark., 2016). Paklitaksel ve sisplatine karşı agmatinin nöroprotektif etkilerinin test edildiği bir çalışmada, düşük doz agmatinin kullanımının bile kontrol grubuna göre hücre canlılığını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar sırasıyla sisplatin ve paklitaksel toksisitesi oluşturulan gruplarda hücre canlılığının önemli ölçüde azaldığı, agmatinden 1 saat

sonra uygulanan sisplatin ve paklitaksel gruplarında ise değişen düzeylerde nöroprotektif etki rapor etmişlerdir (Binnetoglu ve ark., 2019). MCF-7 hücreleri üzerinde krosin ve paklitaksel ile krosin ve radyasyonun sinerjik apoptotik etkisinin araştırıldığı çalışmada; 2Gy gama radyasyonunun krosin ile kombine tedavisinin, MCF-7 hücre hattında apoptozu %21'den (tek başına 2 Gy gama radyasyonu kullanımına bağlı olarak) %46,6'ya yükseltebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, krosin ve paklitaksel veya krosin ve radyasyonun kombine tedavisinin kaspaz-7 ve kaspaz 9, p53 ve PARP dahil olmak üzere 4 proteinin ekspresyonunu tekli tedaviden daha fazla artırabildiği rapor edilmiştir (Vali ve ark., 2015).

Oksidatif stres, paklitaksel toksisitesinde rol oynayan en önemli mekanizmalardan biridir. Normal fizyolojik şartlarda hücrelerde reaktif oksijen türlerinin yapımı ve yıkımı arasında bir denge söz konusudur. Ancak eksojen ve endojen orjinli etkenler tarafından uyarılan aşırı reaktif oksijen türleri hücrel proteinlere, lipidlere ve DNA'da hasara neden olabilir ve bu da hücrelerde karsinogeneze katkıda bulunan ölümcül lezyonlara sebebiyet verebilir (Ames, 1983). Kanser hücreleri kısmen onkojenik uyarılma, artan metabolik aktivite ve mitokondriyal işlev bozukluğu nedeniyle normal hücrelere göre daha fazla reaktif oksijen türü stresi sergiler (Zheng ve Storz, 2000). Reaktif oksijen türlerinin üretimi sonucunda oksidatif stresin artması antioksidan savunma sisteminde azalmaya sebebiyet verir (Kart ve ark., 2010). Bulgularımızda görüldüğü üzere, paklitaksel ile muamelede toplam antioksidan kapasitesinin kontrole göre azaldığı bulunmuştur. Total antioksidan kapasitesi için elde edilen sonuçların tam tersi şekilde, paklitaksel ile muamelede toplam oksidan seviyesinin kontrole göre ciddi oranda arttığı tespit edilmiştir. Krosinin tek başına kullanımında, artan konstantrasyon ile total antioksidan kapasitesi artış gösterse de total oksidan durumu üzerinde neredeyse etkisi görülememektedir. Krosinin, paklitaksel ile kullanımında artan konstantrasyon ile paklitakselin TAK üzerindeki etkisini azaltarak normale yakınlaştırmaktadır. Kombinasyonları ile muamelede ise total oksidan durumu, artan krosin konsantrasyonu ile azalmaktadır. Bu sonuçlar, serbest oksidan radikallerin artışıyla nöral toksisiteye yol açan paklitakselin bu etkileri, antioksidan etkili krosinin oksidatif radikalleri süpürerek oksidatif strese karşı kas hücrelerini koruduğu sonucunu ortaya çıkarmıştır. Krosinin sinir hücreleri üzerindeki

koruyucu etkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Akrilamide maruz kalmış PC12 (nöroblastik) hücrelerinde hücre canlılığının azaldığı, DNA fragmentasyonunu arttığı, fosfatidilserin açığa çıkışını arttırdığı ve Bax/Bcl-2 oranını yükselttiği görülmüştür. Akrilamid uygulamasından önce farklı konsantrasyonlarında krosin uygulanması akrilamid toksisitesini önemli oranda azaltmıştır. Krosin, Bcl-2'nin aşağı doğru regülasyonunu, Bax'ın yukarı doğru regülasyonunu inhibe etmiştir ve tedavi edilen hücrelerde apoptozu azaltmıştır. Ayrıca akrilamide maruz kalmış hücrelerde ROS oluşumunu inhibe etmiştir (Mehri ve ark., 2012). Önceki çalışmalarda; krosinin, serbest radikalleri süpürerek, hücreleri ve dokuları oksidasyona karşı koruyarak bir antioksidan görevi gördüğü, üstelik hayvan ve insan çalışmalarında safranin nöroprotektif etkileri olduğu gösterilmiştir (Andreana ve ark., 2005; Bian ve ark., 2020).

Tedavi amaçlı kemoterapötik ajanların kullanımı esnasında reaktif oksijen türlerinin üretimi ve oksidatif stres oluşumu söz konusu olup, oksidan/antioksidan durum arasında bir dengesizlik oluşur. Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma aktivitesi arasındaki meydana gelecek olan herhangi bir dengesizlik, DNA parçalanmasına neden olmaktadır (Phaniendra ve ark., 2015). Paklitaksel ile muamele edilen sinir hücrelerinde, DNA fragmentasyonunun kontrole göre çok yüksek oranda arttığı bulunmuştur. Krosinin tek başına kullanımında bu durum değişmezken ya da çok az değişirken, paklitaksel ile kombinasyonunda; paklitakselin sitotoksik etkisini azaltarak DNA fragmentasyonunun normal seviyeye yaklaşmasını sağladığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, krosinin serbest radikalleri baskılayarak DNA materyalindeki muhtemel zararları engellediği ve paklitakselin negatif etkilerini normaleştirdiği düşünülmektedir. Bu sonuçlar; krosinin koruyucu etkisinin hem serbest radikalleri süpürücü hemde antioksidan enzimleri destekleyicisi olarak görev gördüğü fikrini kuvvetlendirmiştir. Yapılan bir çalışmada krosinin multiple skleroz hastalarında, oksidatif stres kaynaklı DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Ghiasian ve ark., 2019).

Apoptozun meydana gelmesindeki en önemli adım kaspaz aktivasyonudur. Plazma membran ölüm reseptörlerini aktive eden (kaspaz 8) ve mitokondriyal disfonksiyona

neden olanlar (kaspaz 9) da dâhil olmak üzere birçok uyarıcı, kaspazları aktive etmektedir. Kaspazlar apoptozun başlatıcıları veya uygulayıcıları olarak karşımıza çıkmaktadır. Başlatıcı kaspazlar, kaspaz 8 ve 9'dur. Bu kaspazların aktiva edilmesi, aşağı düzenleme veya kaspaz 3 ve 7 gibi kaspazların aktivasyonu ile son bulmaktadır. Uygulayıcı kaspazlar, poli (ADP-riboz) polimerazın aktivasyonu ve DNA fragmentasyonuna yol açan kaspaz aktivatör alan proteininin inhibitörü dâhil olmak üzere apoptozun biyokimyasal özelliklerinin birçoğundan sorumludur (Salvesen ve Abrams, 2004; Üstün, 2021). Kaspaz aktivasyonda bir hatanın meydana gelmesi ve apoptozun yeterli seviyede gerçekleşmemesi tümör oluşumuna sebebiyet verebileceği gibi, aşırı aktivasyonu ve ortaya çıkan aşırı hücre ölümü de nörodejeneratif koşulları teşvik edebilir (McIlwain ve ark., 2013). Bundan dolayı aktive edilmiş bir kaspazın, inaktif zimojen haline dönüştürülebilmesi büyük önem arz etmektedir. Mevcut çalışmada; sinir hücrelerinin paklitaksel ile muamelesi sonucunda, kaspaz 3/7 ekspresyonu seviyesini düşürdüğü kayıt edilmiştir. Bu gen ekspresyonlarındaki azalışların hücrelerin apoptoza uğramasını engellediğinden ileri geldiği söylenebilmektedir. Güner ve ark., (2019) kanser hücrelerinde gerçekleştirdiği araştırmada, kaspaz bağımsız yollardaki genetik değişikliklerin apoptik hücre ölümünde kilit bir rol taşıdığını göstermiştir. Krosinin artan konsantrasyonları ile, paklitakselin kombinasyon uygulamalarında kaspaz 3/7 ekspresyonunda paklitaksele kıyasla önemli derecede artışlar kayıt edilmiştir. Bu durum, paklitakselin neden olduğu gen ekspresyonlarındaki inhibisyonların krosinin ile normale yakın artışlar sergileyerek hücrelerin apoptoza sürüklenmesiyle açıklanabilir. Yapılan bir çalışma, beraber bir şekilde krosin ve sisplatin uygulamasının osteosarkom hücreleri üzerinde kuvvetli öldürücü etki gösterdiği ve hücrelerin yayılımını baskıladığını göstermiştir. Etki mekanizmasının kaspaz-3 ve kaspaz-8 ekspresyonunun upregülasyonu ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (Li ve ark., 2013). Benzer bir çalışmada; krosinin mide adenokarsinom (AGS) hücrelerindeki etki mekanizması, insan normal fibroblast deri hücreleri (HFSF-PI3) ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. AGS hücrelerinde artan sub-G1 popülasyonu ve aktive edilmiş kaspazlar krosinin antikanser etkisini doğrulamıştır. Bax/Bcl-2 oranının yükselmesiyle karakterize apoptoz, krosin uygulamasından sonra önemli ölçüde uyarılmıştır. Belirtilen parametrelerin tümü, krosin ile muamele edilen HFSF PI3 hücrelerinde normal kalmıştır (Hoshyar ve ark.,

2013). Ayrıca; farklı konsantrasyonlar ile tedavi edilen iki grup orta yaşlı ratlar arasında, yüksek konsantrasyonlu krosinin nöronal membran potansiyelinin korunması, mitokondriyal fonksiyonda gelişme ve biliş sürecinden sorumlu asetilkolin seviyelerindeki artış açısından düşük konsantrasyonlu krosine göre üstünlük sergilediği, histopatolojik gözlemlere dayanarak ise, yüksek konsantrasyonlu krosin ile yaşa bağlı apoptozda dikkate değer bir düşüşün elde edildiği dikkat çekmiştir (Krishnaswamy ve ark., 2020).

Krosin'in metabolik aktivasyon olsun veya olmasın, 125 ila 2000 µg arasındaki dozlarda genotoksik olmayan, doğrudan etkili mutajen üzerinde güçlü bir anti-mutajenik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Pawar ve ark., 2019). Krosetinin önemli bir genotoksisiteye sahip olmaması, önemli DNA hasarı ve kardeş kromozom değişimlerini (KKD) indüklediğinin tespiti, bugüne kadar yapılan çalışmalarda vakaların çoğunda krosinlere ve krosetine karşı ihmal edilebilir sitotoksisite bulunduğu fikrini ortaya çıkarmaktadır (Ozakia ve ark., 2002; Song ve ark., 2021). Lösemili hastalarda krosinin kültürlenmiş lenfositler üzerindeki sitogenetik davranışı üzerine gerçekleştirilmiş bir araştırmada; krosin tutulumundan sonra lösemili hastaların lenfositlerinin KKD sıklığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken, sağlıklı donör hücrelerinin KKDlerinde hafif fakat istatistiksel olarak anlamlı artışlar görülmeyeceği bildirilmiştir (Argyaki ve ark., 2013). Borik asidin paklitaksel genotoksisitesine karşı bir koruma sağlayıp sağlamadığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; paklitaksel (10 veya 20 µg/l) ve borik asit (2,5 veya 5 mg/l) uygulamasından sonra; paklitakselin kontrol gruplarına kıyasla periferik lenfositlerde KKD frekanslarını ve MÇ oluşumlarını önemli ölçüde ( $P < 0,05$ ) arttırdığı, lenfosit kültürlerinde ise nükleer bölünme indeksini düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca, borik asidin test edilen konsantrasyonlarda sitotoksik veya genotoksik etkiler göstermeyip, genotoksisite ve sitotoksisite endekslerinde paklitaksel kaynaklı artışları azalttığı da tespit edilmiştir (Turkez, 2010). Krosinin akut lenfoblastik lösemili çocuklarda T hücrelerin çoğalması ve sitotoksik fonksiyona etkisi üzerine yapılan bir araştırmada, sitarabin grubunda kuyruk momentinin, krosin grubu ve askorbik asit grubundan anlamlı olarak daha yüksek olduğu ( $2,41 \pm 0,75$ ), krosin grubunda kuyruk uzunluğunun ise sitarabin grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmacılar; KKD görüntülemesinde sitarabin grubunda kuyruklanma olgusunun gözlemlendiği, ancak bu durumun krosin grubunda olmadığını da ifade etmişlerdir (Zhang ve ark., 2018).

Çalışmamızda, paklitakselin sinir hücrelerinde moleküler düzeyde sitotoksik etkilerini ve krosinin bu etkilere yönelik koruyucu etkileri ortaya konmuştur. Özellikle paklitakselin neden olduğu oksidatif stres aracılığıyla membran zararlarında, DNA kırıklarında, sitotoksik aktivite ve apoptotik gen ekspresyonunda azalışlara neden olmuştur. Bununla birlikte, paklitakselin krosin ile kombinasyon uygulamaları paklitakselin neden olduğu oksidatif stres artışları, DNA fragmentasyonu, sitotoksiste ve sinir hücresi dejenerasyonunu önemli ölçüde inhibe ederek paklitakselin toksisitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Aynı zamanda, tek başına krosin uygulamaları herhangi bir toksisiteye yol açmayıp sinir hücrelerinde antioksidan seviyeleri arttırmıştır. Elde edilen bu bilgiler doğrultusunda, krosinin sağlıklı hücre üzerinde toksik etkilerinin olmadığı göz önüne alındığında, krosinin paklitaksel ile uyarılan sinir toksisitesine karşı potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği bu çalışma ile ortaya konmuştur.

## KAYNAKLAR

- Abdullaev, F.I. 2002. Safranin Özellikleri Kanserin Önlenmesi ve Tümör Hücreleri Öldürme. *Experimental Biology and Medicine*, 227(1): 20-25.
- Abu Samaan, T. M., Samec, M., Liskova, A., Kubatka, P., Büsselberg, D. 2019. Paclitaxel's Mechanistic and Clinical Effects on Breast Cancer. *Biomolecules*, 9(12): 789.
- ACS. 2015. American Cancer Society, Peripheral neuropathy caused by chemotherapy. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002908-pdf.pdf>., Erisim Tarihi: 25 June 2016.
- Aggarwal, S.K. 1993. A histochemical approach to the mechanism of action of cisplatin and its analogues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 41(7): 1053-1073.
- Ahmed, S., Hasan, M. M., Heydari, M., Rauf, A., Bawazeer, S., Abu-Izneid, T., Rengasamy, K. R. 2020. Therapeutic potentials of crocin in medication of neurological disorders. *Food and Chemical Toxicology*, 145.
- Akhondzadeh, S., Sabet, M. S., Harirchian, M. H., Togha, M., Cheraghmakani, H., Razeghi, S., Hejazi, S., Yousefi, M. H., Alimardani, R., Jamshidi, A., Zare, F., & Moradi, A. 2010. Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week randomized and placebo-controlled trial. *J. Clin. Pharm*, 581-588.
- Alavizadeh, S.H., Hosseinzadeh, H. 2014. Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol*, 64: 65–80.
- Aljumaili, S.A.A. 2021. Wistar Ratlarda Doksorubisin İle İndüklenen Kardiyotoksisite Üzerine Krosinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Karabük Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Altınöz, E., Ekici, C., Özyazgan, B., Çiğremiş, Y. 2016. The effects of crocin (active constituent of saffron) treatment on brain antioxidant enzyme mRNA levels in diabetic rats. *Türk Biyokimya Dergisi*, 41(2): 112-117.

- Ames, B.N. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221(4617): 1256-1264.
- Amin, B., Hosseinzadeh, H. 2015. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* (saffron). In: Watson, R.R., Preedv. V.R. (Ed.), *Bioactive Nutraceuticals and dietary supplements in Neurological and Brain Disease*, 29-39.
- Anand, P., Kunnumakara, A.B., Sundaram, C., Harikumar, K.B., Tharakan, S.T., Lai, O.S., Sung, B., Aggarwal, B.B. 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. In *Pharmaceutical Research*, 25(9): 2097-2116.
- Andreana, N.A., Sinakos, Z., Papageorgiou, V.P. 2005. Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. Extract and its bioactive constituents. *Phytotherapy Research*, 19(11): 997-1000.
- Argyaki, M., Anastakis, D., Zervas, C., Sinakos, Z., Lakovidou-Kritsi, Z. 2013. Cytogenetic behaviour of crocin on cultured lymphocytes from leukemic patients. *Aristotle University Medical Journal*, 40(2): 13-19.
- Argyriou, A.A., Kyritsis, A.P., Makatsoris, T., Kalofonos, H.P. 2014. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Manag Res*, 6: 135-47.
- Avendaño, C., Menéndez, J.C. 2015. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs: Second Edition*. In *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs: Second Edition*.
- Baghishani, F., Mohammadipour, A., Hosseinzadeh, H., Hosseini, M., Ebrahimzadeh-Bideskan, A. 2018. The effects of tramadol administration on hippocampal cell apoptosis, learning and memory in adult rats and neuroprotective effects of crocin. *Metabolic Brain Disease*, 33: 907-916.
- Başer, K.H.C. 2014. Safran (*Crocus sativus* L.), Bağ Bahçe (Çevre, Bahçe, Çiçek Dergisi), İstanbul, 52: 30-31.
- Baylin, S.B., Ohm, J.E. 2006. Epigenetic gene silencing in cancer-A mechanism for early oncogenic pathway addiction? In *Nature Reviews Cancer*, 6(2): 107-116.
- Beijers, A.J., Jongen, J.L., Vreugdenhil, G. 2012. Chemotherapy-induced neurotoxicity: the value of neuroprotective strategies. *Neth J Med*, 70(1): 18-25.

- Bekisz, S., Geris, L. 2020. Cancer modeling: From mechanistic to data-driven approaches, and from fundamental insights to clinical applications. *Journal of Computational Science*, 46(101098): 1-12.
- Belotti, D., Vergani, V., Drudis, T. 1996. The Microtubule-Affecting Drug Paclitaxel Has Antiangiogenic Activity. *Clin cancer Res*, 2: 1843-1849.
- Berry, D.A., Cronin, K.A., Plevritis, S.K., Fryback, D.G., Clarke, L., Zelen, M., Mandelblatt, J.S., Yakovlev, A.Y., Habbema, J.D.F., Feuer, E. J. 2005. Effect of Screening and Adjuvant Therapy on Mortality from Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*, 353(17): 1784–1792.
- Bhardwaj, V., Ankola, D.D., Gupta, S.C., Schneider, M., Lehr, C.M. ve Kumar, M.N. V.R. 2009. PLGA nanoparticles stabilized with cationic surfactant: safety studies and application in oral delivery of paclitaxel to treat chemical-induced breast cancer in rat. *Pharmaceutical Research*, 26(11): 2495-2503.
- Bian, Y., Zhao, C., Lee, S.M. 2020. Neuroprotective Potency of Saffron Against Neuropsychiatric Diseases, Neurodegenerative Diseases, and Other Brain Disorders: From Bench to Bedside. *Front Pharmacol*, 11:579052.
- Binnetoglu, D., Hacimuftuoglu, A., Aricioglu, F. 2019. Neuroprotective effects of agmatine in antineoplastic drugs induced neurotoxicity: In vitro study. *Life Sciences*, 221: 311-318.
- Blagosklonny, M., Fojo, T. 1999. Molecular Effects of Paclitaxel: Myths and Reality. *Int J Cancer*, 83: 151-156.
- Blagosklonny, M.V. 2005. How Avastin potentiates chemotherapeutic drugs: Action and reaction in antiangiogenic therapy. In *Cancer Biology and Therapy*, 4(12): 1307–1310.
- Brewer, J.R., Morrison, G., Dolan, M.E., Fleming, G.F. 2016. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. *Gynecol Oncol*, 140(1): 176-83.
- Can, G. 2005. Antineoplastik ilaçların yan etkileri ve hemşirelik yaklaşımları. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*, 2(2): 8-15.
- Carbone, A. 2020. Cancer classification at the crossroads. *Cancers*, 12(4): 980, 1-6.

- Cata, J., Weng, H., Lee, B., Reuben, J., Dougherty, P. 2006. Clinical and experimental findings in humans and animals with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Minerva Anestesiologica*, 72: 151-169.
- Cavaletti, G., Bogliun, G., Marzorati, L. 2004. Early predictors of peripheral neurotoxicity in cisplatin and paclitaxel combination chemotherapy. *Annals of Oncology*, 15: 1439-1442.
- Cavaletti, G., Cavalletti, E., Montaguti, P., Oggioni, N., De Negri, O., Tredici, G. 1997. Effect on the peripheral nervous system of the short-term intravenous administration of paclitaxel in the rat. *Neurotoxicology*, 18(1): 137-145.
- Cetin, D., Hacimuftuoglu, A., Tatar, A., Turkez, H., Togar, B. 2016. The in vitro protective effect of salicylic acid against paclitaxel and cisplatin-induced neurotoxicity. *Cytotechnology*, 68: 1361-1367.
- Chaudhry, V., Rowinsky, E., Sartorius, S., Donehower, R., Cornblath, D. 1994. Peripheral neuropathy from taxol and cisplatin combination chemotherapy: clinical and electrophysiological studies. *Annals of Neurology*, 35: 304-311.
- Chobdar-Rahim, S., Hossein-Zadeh, J., Pazır, F., Ova, G. 2021. Farklı çözgen ve çözgen karışımları ile ekstraksiyonun safranın (*Crocus sativus* L.) toplam biyoaktif bileşen miktarına etkisi. *Gıda*, 46(5): 1289-1300.
- Croce, C.M. 2008. *Oncogenes and Cancer. Supplementary Appendix. The New England Journal of Medicine.*
- Cruet-Hennequart, S., Glynn, M.T., Murillo, L.S., Coyne, S., Carty, M.P. 2008. Enhanced DNA-PK-mediated RPA2 hyperphosphorylation in DNA polymerase  $\eta$ -deficient human cells treated with cisplatin and oxaliplatin. *DNA Repair*, 7(4): 582-596.
- Cuozzo, C., Porcellini, A., Angrisano, T., Morano, A., Lee, B., Di Pardo, A., Messina, S., Iuliano, R., Fusco, A., Santillo, M.R., Muller, M.T., Chiariotti, L., Gottesman, M.E., Avvedimento, E.V. 2007. DNA damage, homology-directed repair, and DNA methylation. *PLoS Genetics*, 3(7): 1144-1162.
- Çınar, A.S., Önder, A. 2019. Anadolu'nun Kültürel Mirası: *Crocus sativus* L. (Safran). *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44(1): 79-88.

- D'Archivio, A.A., Maggi, M.A. 2017. Geographical identification of saffron (*Crocus sativus* L.) by linear discriminant analysis applied to the UV–visible spectra of aqueous extracts. *Food Chemistry*, 219: 408-413.
- Dilek, İ. 2010. Kemoterapide toksisite değerlendirmesi. XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, Antalya, 3-7 Kasım, 63-70.
- Du, J., Li, Y., Song, D., Liu, J., Huang, Q., Li, J., Li, B., Li, L. 2021. Protective effects of crocin against endogenous A $\beta$ -induced neurotoxicity in N2a/APP695swe cells. *Psychopharmacology*, 238: 2839-2847.
- Dumont, M., Beal, M.F. 2011. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*, 5(1): 1014-1026.
- Dupont, C., Armant, D.R., Brenner, C.A. 2009. Epigenetics: Definition, mechanisms and clinical perspective. In *Seminars in Reproductive Medicine*, 27(5): 351-357.
- Edwards, B.K., Ward, E., Kohler, B.A., Ehemann, C., Zauberman, A.G., Anderson, R.N., Jemal, A., Schymura, M.J., Lansdorp-Vogelaar, I., Seeff, L.C., Van Ballegooijen, M., Goede, S.L., Ries, L.A.G. 2010. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. In *Cancer*, 116(3): 544-573.
- El-Beshbishy, H.A., Hassan, M.H., Aly, H.A.A., Doghish, A.S., Alghaithy, A.A.A. 2012. Crocin “saffron” protects against beryllium chloride toxicity in rats through diminution of oxidative stress and enhancing gene expression of antioxidant enzymes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 83: 47-54.
- El-Daly, E.S., 1998. Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J Pharm Belg*, 53: 87-95.
- Escribano, J., Gonzalo-Luis A., Coca-Prado, M., José-Antonio, F. 1996. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters*, 100(1-2): 23-30.

- Eteghadi, M.R., Nasehi, M., Vaseghi, S., Hesami-Tackallou, S. 2021. The effect of Crocin on TFAM and PGC-1 $\alpha$  expression and Catalase and Superoxide dismutase activities following cholestasis-induced neuroinflammation in the striatum of male Wistar rats. *Metabolic Brain Disease*, 36: 1791-1801.
- Ettehad, H., Mojabi, S.N., Ranjbaran, M., Shams, J., Sahraei, H., Hedayati, M., Asefi, F., 2013. Aqueous extract of saffron (*Crocus sativus*) increases brain dopamine and glutamate concentrations in rats. *J Behav Brain Sci*, 3: 315-319.
- Farshid, A.A., Tamaddonfard, E. 2015. Histopathological and behavioral evaluations of the effects of crocin, safranal and insulin on diabetic peripheral neuropathy in rats. *Avicenna J Phytomed*, 5(5): 469-478.
- Fenech, M. 2000. The in vitro micronucleus technique. *Mutation research*, 455(1-2): 81–95.
- Fenech, M., Morley, A.A. 1985. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobios*, 43: 233-246.
- Ferrence, S.C., Bendersky, G. 2004. Therapy with Saffron and the Goddess at Thera. *Perspectives in Biology and Medicine*, 47(2): 199-226.
- Flatters, S.J.L., Bennett, G.J., 2006. Studies of peripheral sensory nerves in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy: Evidence for mitochondrial dysfunction. *Pain*, 122(3): 245-257.
- Gedik, S., Erdemli, M.E., Gul, M., Yigitcan, B., Gozukara Bag, H., Aksungur, Z., Altinoz, E. 2017. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95: 764-770.
- Gezici, S., Koçum, D. 2021. Nörodejeneratif Hastalıkların Tedavisinde Nöroprotektif Ajan Olarak Tıbbi Bitkiler ve Fitokimyasallar. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 10 (2): 325-337.
- Ghiasian, M., Khamisabadi, F., Kheiripour, N. Karami, M., Haddadi, R., Ghaleiha, A., Taghvaei, B., Oliaie, S.S., Salehi, M., Samadi, P., Ranjbar, A. 2019. Effects of crocin in reducing DNA damage, inflammation, and oxidative stress in multiple sclerosis patients: A double-blind, randomized, and placebo-controlled trial. *J Biochem Mol Toxicol*. 33: e22410.

- Goodman, L.S., Gilman, A., Gilman, A.G., Koelle, G.B. 1975. The Pharmacological Basis of Therapeutics, Fifth Edition. Bailliere Tindall.
- Gornstein, E., Schwarz, T.L. 2014. The paradox of paclitaxel neurotoxicity: Mechanisms and unanswered questions. *Neuropharmacology*, 76(Pt A): 175–183.
- Greifzu, S. 1996. Chemo quick guide. *Antitumor antibiotics*. 59(4): 35-36.
- Güner, A., İlhan, S. 2020. Cytotoxic, genotoxic, oxidative, and irritant effects of zinc pyrithione in vitro. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 102(10): 607-623.
- Güner, A., Nalbantsoy, A., Sukatar, A., Karabay Yavaşoğlu, N.Ü. 2019. Apoptosis-inducing activities of *Halopteris scoparia* L. Sauvageau (Brown algae) on cancer cells and its biosafety and antioxidant properties. *Cytotechnology*, 71(3): 687-704.
- Güven, A.C. 2009. Borik asitin yeni doğan sıçan beyin hücre kültürlerinde glutamatla oluşturulan nörotoksositeye etkisi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Hadipour, M., Bahari, Z., Afarinesh, M.R., Jangravi, Z., Shirvani, H., Meftahi, G.H. 2021. Administering crocin ameliorates anxiety-like behaviours and reduces the inflammatory response in amyloid-beta induced neurotoxicity in rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 48(6): 877-889.
- Hawkins, D.S., Demers, G.W., Galloway, D.A. 1996. Inactivation of p53 enhances sensitivity to multiple chemotherapeutic agents. *Cancer Research*, 56: 892-898.
- Heidari, S., Mehri, S., Hosseinzadeh, H. 2017. Memory enhancement and protective effects of crocin against D-galactose aging model in the hippocampus of Wistar rats. *Iran J Basic Med Sci*, 20: 1250-1259.
- Himes, R.H. 1991. Interactions of the catharanthus (Vinca) alkaloids with tubulin and microtubules. In *Pharmacology and Therapeutics*, 5(2): 257-267.
- Hong, J.S., Tian, J., Wu, L.H. 2014. The Influence of chemotherapy-induced neurotoxicity on psychological distress and sleep disturbance in cancer patients. *Curr Oncol*, 21(4): 174-80.

- Horwitz, S.B. 1994. Taxol (Paclitaxel): Mechanism of Action. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology/ESMO* 5, 6: 3-6.
- Hoshyar, R., Bathaie, S.Z., Sadeghizadeh, M. 2013. Crocin triggers the apoptosis through increasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in human gastric adenocarcinoma, AGS, cells. *DNA and Cell Biology*, 32(2): 50-57.
- Hosseinzadeh, H., Sadeghnia, H.R., Ghaeni, F.A., Motamedshariaty, V.S., Mohajeri, S.A., 2012. Effects of Saffron (*Crocus sativus* L.) and its active constituent, crocin, on recognition and spatial memory after chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Phytother*, 26: 381-386.
- Hosseinzadeh, H., Shamsaie, F., Mehri, S., 2009. Antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigma and its bioactive constituents, Crocin and safranal. *Pharmacogn Mag*, 5: 419.
- HRCP. 1996. Harvard Report on Cancer Prevention. Volume 1: Causes of human cancer. *Cancer Causes & Control: CCC*.
- Huang, C.Y., Ju, D.T., Chang, C.F., Muralidhar Reddy, P., Velmurugan, B.K. 2017. A review on the effects of current chemotherapy drugs and natural agents in treating non-small cell lung cancer. In *BioMedicine, France*, 7(4): 12-23.
- Işık, G. 2013. Meme kanseri tedavisinde paklitaksel yüklü polikasyonik ve anyonik siklodekstrin nanoküre formülasyonu ve in vitro değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü, Yüksek Lisans Tezi.
- İpek, A., Arslan, N., Sarihan, E.O. 2009. Farklı Dikim Derinliklerinin ve Soğan Boylarının Safranın (*Crocus sativus* L.) Verim ve Verim Kriterlerine Etkisi, *Ankara Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi*, Ankara, 15(1): 38-46.
- Jones, P.A., Laird, P.W. 1999. Cancer epigenetics comes of age. In *Nature Genetics*, 21(2): 163-167.
- Kalyoncu, B. 2015. Safran ekstratı olan krosetin'in baş-boyun kanser hücreleri üzerindeki etkisinin incelenmesi. Turgut Özal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

- Keelo, R.M.A.H. 2021. Pinealektomize Edilmiş Ve Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Nefropati Üzerine Krosinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Karabük Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Kollipara, S., Bende, G., Movva, S., Saha, R. 2010. Application of rotatable central composite design in the preparation and optimization of poly(lactic-coglycolic acid) nanoparticles for controlled delivery of paclitaxel. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36 (11): 1377-1387.
- Korgaonkar, N., Yadav, K.S. 2019. Understanding the biology and advent of physics of cancer with perspicacity in current treatment therapy. *Life Sciences*, 239, 117060.
- Koulakiotis, N.S., Gikas, E., Iatrou, G., Lamari, F.N., Tsarbopoulos, A. 2015. Quantitation of crocins and picrocrocin in saffron by HPLC: application to quality control and phytochemical differentiation from other crocus taxa. *Planta Med*, 81(7): 606-612.
- Koyuncu, M., Güvenç, A. 1997. Ülkemizde Safran Üretimi Terk Mi Ediliyor? XI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 22-24 Mayıs 1996, (Ed. Prof. Dr. Maksut Coşkun), Ankara Üniversitesi 50. Yıl, Bildiri Kitabı, Ankara, 522-533.
- Krishnaswamy, V.K.D., Alugoju, P., Periyasamy, L. 2020. Effect of short-term oral supplementation of crocin on age-related oxidative stress, cholinergic, and mitochondrial dysfunction in rat cerebral cortex. *Life Sciences*, 263: 118545.
- Lee, W.L., Shiau, J.Y., Shyur, L. F. 2012. Taxol, Camptothecin and Beyond for Cancer Therapy. *Advances in Botanical Research*, 62: 133-178.
- Letourneau, P.C., Ressler, A.H. 1984. Inhibition of neurite initiation and growth by taxol. *J Cell Biol*, 98: 1355-62.
- Li, X., Huang, T., Jiang, G., Gong, W., Qian, H., Zou, C. 2013. Synergistic apoptotic effect of crocin and cisplatin on osteosarcoma cells via caspase induced apoptosis. *Toxicology letters*, 221(3): 197-204.
- Liang, Y., Zheng, B., Li, J., Shi, J., Chu, L., Han, X., Chu, X., Zhang, X., Z, J. 2020. Crocin ameliorates arsenic trioxide-induced cardiotoxicity via Keap1-Nrf2/HO-1 pathway: Reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131: 110713.

- Luo, J., Solimini, N.L., Elledge, S.J. 2009. Principles of Cancer Therapy: Oncogene and Non-oncogene Addiction. *Cell*, 136(5): 823-837.
- Majithia, N., Temkin, S.M., Ruddy, K.J., Beutler, A.S., Hershman, D.L., Loprinzi, C.L. 2016. National Cancer Institutesupported chemotherapy-induced peripheral neuropathy trials: outcomes and lessons. *Support Care Cancer*. 24(3): 1439-47.
- Mashmoul, M., Azlan, A., Khaza'ai, H., Yusof, B.N.M., Noor, S.M. 2013. Saffron: a natural potent antioxidant as a promising ant obesity drug. *Antioxidants*, 2(4): 293-308.
- Mastropaolo, D., Camerman, A., Luo, Y., Brayer, G.D., Camerman, N. 1995. Crystal and molecular structure of paclitaxel (taxol). *Proc Natl Acad Sci*, 92: 6920-6924.
- McIlwain, D.R., Berger, T., Mak, T.W. 2013. Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4): 1-28.
- Mehri, S., Abnous, K., Mousavi, S.H., Shariaty, V.M., Hosseinzadeh, H. 2012. Neuroprotective Effect of Crocin on Acrylamide-induced Cytotoxicity in PC12 cells. *Cell Mol Neurobiol*, 32: 227-235.
- Mehri, S., Abnous, K.H., Khoei, A.R., Mousavi, S.H., Motamed Shariaty, V., Hosseinzadeh, H. 2015. Crocin reduces acrylamide-induced neurotoxicity in Wistar rat through inhibition of oxidative stress. *Iran J Basic Med Sci*, 18: 902-908.
- Menia, M., Iqbal, S., Zahida, R., Tahir, S., Kanth, R.H., Saad, A.A., Hussian, A. 2018. Production Technology of Saffron for Enhancing Productivity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1): 1033-1039.
- Mir, M.A., Ganai, S.A., Mansoor, S., Jan, S., Mani, P., Masoodi, K.Z., Amin, H., Rehman, M.U., Ahmad, P. 2020. Isolation, purification and characterization of naturally derived Crocetin beta-d-glucosyl ester from *Crocus sativus* L. against breast cancer and its binding chemistry with ER-alpha/HDAC2. *Saudi J Biol Sci*, 27(3): 975-984.

- Mohammadzadeh, L., Abnous, K., Razavi, B.M., Hosseinzadeh, H. 2020. Crocin-protected malathion-induced spatial memory deficits by inhibiting TAU protein hyperphosphorylation and antiapoptotic effects. *Nutritional neuroscience*, 23(3): 221–236.
- Mousavi, S.H., Tayarani, N.Z., Parsaee, H. 2010. Protective Effect of Saffron Extract and Crocin on Reactive Oxygen Species-Mediated High Glucose-Induced Toxicity in PC12 Cells. *Cell Mol Neurobiol*, 30: 185-191.
- Mousavi, S.Z., Bathaie, S.Z. 2011. Historical Uses of Saffron: Identifying potential new avenues for modern research, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1(2): 57-66.
- Nam, K.N., Park, Y.M., Jung, H.J., Min, B.D., Park, S.U., Jung, W.S., Cho, K.H., Parka, J.H., Kang, I., Honga, J.W., Lee, E.H. 2010. Anti-inflammatory effects of crocin and crocetin in rat brain microglial cells. *Neuropharmacology and Analgesia*, 648: 1-3, 110-116.
- Nassiri-Asl, M., Hosseinzadeh, H. 2015. Neuropharmacology of saffron (*Crocus sativus*) and its active constituents. In: Watson, R.R., Preedy, V.R.(Eds.), *Bioactive Nutraceuticals and dietary supplements in Neurological and Brain Disease*. Academic Press. Amsterdam, 500: 29-39.
- Nelson, E.M., Tewey, K.M., Liu, L.F. 1984. Mechanism of antitumor drug action: Poisoning of mammalian DNA topoisomerase II on DNA by 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide. *Isotopenpraxis*, 20(1): 1361-1365.
- Ozakia, A., Kitanob, M., Furusawac, N., Yamaguchic, H., Kurodaa, K., Endoa, G. 2002. Genotoxicity of gardenia yellow and its components. *Food Chem Toxicol*, 40(11): 1603-1610.
- Özel, A., Erden, K. 2005. Harran Ovası Koşullarında Yerli ve İran Safranı (*Crocus sativus* L.)'nın Verim ve Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi. GAP IV. Tarım Kongresi, Cilt: 1, Şanlıurfa, 793-798.
- Panchagnula, R. 1998. Pharmaceutical Aspects of Paclitaxel. . *International Journal of Pharmaceutics*, 172: 1-15.

- Papandreou, M.A., Kanakis, C.D., Polissiou, M.G., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Margaritis, M., Lamari, F.N. 2006. Inhibitory activity on amyloid-beta aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. *J Agric Food Chem*, 54(23): 8762-8768.
- Papandreou, M.A., Tsachaki, M., Efthimiopoulos, S., Cordopatis, P., Lamari, F.N., Margaritis, M. 2011. Memory enhancing effects of saffron in aged mice are correlated with antioxidant protection. *Behav Brain Res*, 219: 197-204.
- Park, S.B., Lin, C.S., Krishnan, A.V., Friedlander, M.L., Lewis, C.R., Kiernan M.C. 2011. Early, progressive, and sustained dysfunction of sensory axons underlies paclitaxel-induced neuropathy. *Muscle & Nerve*, 43(3): 367-74.
- Paşayeva, L., Tekiner, H. 2014. Türk-İslam Tıbbında Safranın Yeri. *Lokman Hekim Dergisi*, 4(3): 11-15.
- Pawar, N., Panchal, S., Kawle, D., Gadgoli, C., Maru, G. 2019. Evaluation of genotoxic and modulatory effects of *Nyctanthes arbor-tristis* calyx extract and the isolated crocin in Ames' assay. *Nat Prod Res* 33(6): 884-888.
- Peppas, L. Blanchette, J. 2004. Nanoparticle and Targeted Systems for Cancer Therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56: 1649-1659.
- Perry, P., Wolff, S. 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids, *Nature (London)*, 251: 256-258.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L. 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30(1): 11-26.
- Prasad, S.N., Muralidhara, 2012. Evidence of acrylamide induced oxidative stress and neuro-toxicity in *Drosophila melanogaster* its amelioration with spice active enrichment: relevance to neuropathy. *Neurotoxicology*, 33(5): 1254-1264.
- Premkumar, K., Abraham, S.K., Santhiya, S.T., Ramesh, A. 2003. Protective effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on genotoxin induced oxidative stress in Swiss Albino mice. *Phytother Res*, 17: 614-617.
- Purushothuman, S., Nandasena, C., Peoples, C.L., Nabil, E.M., Daniel, J.M., John, M., Jonathan, S. 2013. Saffron pre-treatment offers neuroprotection to nigral and retinal dopaminergic cells of MPTP-treated mice. *J Parkinson's Dis*, 3: 77-83.

- Rahaiee, S., Hashemi, M., Shojaosadati, S.A., Moini, S., Razavi, S.H. 2017. Nanoparticles based on Crocin loaded chitosan-alginate biopolymers: antioxidant activities, bioavailability and anticancer properties. *Int J Biol Macromol* 99: 401-408.
- Ralhan, R., Kaur, J. 2007. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9): 1061-1075.
- Ren, X., Zhao, B., Chang, H., Xiao, M., Wu, Y., Liu, Y. 2018. Paclitaxel suppresses proliferation and induces apoptosis through regulation of ROS and the AKT/MAPK signaling pathway in canine mammary gland tumor cells. *Molecular Medicine Reports*, 17: 8289-8299.
- Rowinsky, E.K., Chaudhry, V., Cornblath, D.R., Donehower, R.C. 1993. Neurotoxicity of Taxol. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 107-115.
- Rowinsky, E.K., Donehower, R.C. 1995. Paclitaxel (taxol). *New England Journal of Medicine*, 332: 1004-1014.
- Roytta, M., Horowitz, S.B., Raine, C.S. 1984. Taxol induced neuropathy: short term affects of local injection. *J Neurocytol*, 13: 685-701.
- Rubert, J., Lacina, O., Zachariasova, M., Hajslova, J. 2016. Saffron authentication based on liquid chromatography high resolution tandem mass spectrometry and multivariate data analysis. *Food Chemistry*, 204: 201-209.
- Ruddon, W.R. 2007. *Cancer Biology*. Oxford University Press ISBN-13: 978-0-19-517543-1.
- Sabuncuoğlu, S., Özgüneş, H. 2011. Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2: 137-150.
- Sadeghi-Bakhtavari, A. 2010. Farklı Soğan (Korm) Boylarının ve Bitki Sıklığının Safran (*Crocus sativus* L.)'nın Verim ve Diğer Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Basılmamış Doktora Tezi*.
- Saklı, K., Zencirci Demir, K. 2013. Taksan ve platin alan hastalarda periferik nöropati ve nöropatik ağrıya yönelik hemşirelik girişimleri: sistematik derleme. *HEMAR-G*, 1,: 61-73.
- Salvesen, G.S., Abrams, J.M. 2004. Caspase activation-Stepping on the gas or releasing the brakes? Lessons from humans and flies. *Oncogene*, 23(2): 2774-2784.

- Samarghandian, S., Boskabady, M.H., Davoodi, S. 2010. Use of in vitro assays to assess the potential antiproliferative and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) in human lung cancer cell line. *Pharmacognosy Magazine*, 6 (24): 309-314.
- Schmidt, M., Betti, G., Hensel, A. 2007. Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wien. Med. Wochenschr.* 74: 315-319.
- Scripture, C.D., Figg, W.D., Sparreboom, A. 2006. Peripheral neuropathy induced by paclitaxel: recent insights and future perspectives. *Current neuropharmacology*, 4(2): 165-172.
- Scuteri, A., Nicolini, G., Miloso, M., Bossi, M., Cavaletti, G., Windebank, A.J., Tredici, G. 2006. Paclitaxel toxicity in post-mitotic dorsal root ganglion (DRG) cells. *Anticancer Res*, 26: 1065-1070.
- Severino, P., Da Silva, C.F., Andrade, L.N., De Lima Oliveira, D., Campos, J., Souto, E.B. 2019. Alginate nanoparticles for drug delivery and targeting. *Curr Pharmaceut Des*, 25: 1312-1334.
- Shafahi, M., Vaezi, G., Shajiee, H., Sharafi, S., Khaksari, M. 2018. Crocin inhibits apoptosis and astrogliosis of hippocampus neurons against methamphetamine neurotoxicity via antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *Neurochemical Research*, 43: 2252-2259.
- Shafiee, M., Aghili Moghaddam, N.S., Nosrati, M., Tousi, M., Avan, A., Ryzhikov, M., Parizadeh, M.R., Fiuji, H., Rajabian, M., Bahreyni, A., Khazaei, M., Hassanian, S.M. 2017. Saffron against components of metabolic syndrome: current status and prospective. *J Agric Food Chem*, 65(50): 10837-10843.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A. 2019. Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1): 7-34.
- Singla, A.K., Garg, A., Aggarwal, D. 2002. Paclitaxel and its formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 235(1-2): 179-192.
- Siracusa, L., Gresta, F., Avola, G., Albertini, E., Raggi, L., Marconi, G., Lambardo, G.M., Ruberto, G. 2013. Agronomic, chemical and genetic variability of saffron (*Crocus sativus* L.) of different origin by LC-UV-vis-DAD and AFLP analyses. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(2): 711-721.

- Son, Y., Cheong, Y.K., Kim, N.H., Chung, H.T., Kang, D.G., Pae, H.O. 2011. Mitogen-Activated Protein Kinases and Reactive Oxygen Species: How Can ROS Activate MAPK Pathways? Journal of Signal Transduction, 792639: 1-6.
- Song, Y., Wang, Y., Zheng, Y., Liu, T., Zhang, C. 2021. Crocins: A comprehensive review of structural characteristics, pharmacokinetics and therapeutic effects. Fitoterapia, 153: 104969.
- Soy, N. 2006. Doku Kùltüründe Paklitaksel'in Apoptotik ve Antiproliferatif Etkileri. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Stone, J.B., De Angelis, L.M. 2016. Cancer-treatment-induced neurotoxicity--focus on newer treatments. Nature reviews. Clinical Oncology, 13(2): 92-105.
- Stubblefield, M.D., Burstein, H.J., Burton, A.W., Custodio, C.M., Deng, G.E., Ho, M., Junck, L., Morris, G.S., Paice, J.A., Tummala, S., Von Roenn, J.H. 2009. NCCN task force report: management of neuropathy in cancer. Journal of the National Comprehensive Cancer Network: JNCCN, 7(5): 1-28.
- Surgun-Acar, Y., İşkil, R., Bürün, B. 2017. Safran (*Crocus sativus* L.) Bitkisinde Biyoteknolojik Çalışmalar. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 7(2): 259-268.
- Sünger, G. 2013. Kemoterapi Ünitesi Hemşirelik El Kitabı. T.C. Sağlık Bakanlığı, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yayınları, İzmir, 4-98.
- Şahin, G. 2021. Tarihsel süreçte safran (*Crocus sativus* L.) ve safranın günümüzdeki durumu. Uluslararası Anadolu Sosyal Bilimler Dergisi, 5(1): 173-214.
- Şenuzun, F. 2007. Kardiyak toksisite. İçinde: Onkoloji Hemşireliğinde Kanıta Dayalı Semptom Yönetimi. Ed: G. Can. Pharma Publication Planning, Mavi İletişim Danışmanlık, İstanbul.
- Taheri-Amlashi, M., Hassanpour, S., Vazir, B. 2022. Effects of the prenatal exposure to crocin in the expression of withdrawal syndrome on reflexive motor behaviors in mice offspring's. Neuroscience Letters, 766: 136352.
- Talaei, A., Hassanpour Moghadam, M., Sajadi Tabassi, S.A., Mohajeri, S.A. 2015. Crocin, the main active saffron constituent, as an adjunctivetreatment in major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot clinical trial. Journal of Affective Disorders, 174: 51-56.

- Tantry, M.A. 2017. Saffron Production in Jammu and Kashmir (A test with Cobb-Douglas production function model). *International Journal of Humanities & Social Science Studies (IJHSSS)*. A Peer-Reviewed Bi-monthly Bi-lingual Research Journal, 4(1): 352-359.
- Toillon, R.A., Adriaenssens, E., Wouter, D., Lottin, S., Boilly, B., Hondermarck H., Bourhis, X.L. 2000. Normal breast epithelial cells induce apoptosis of MCF- 7 breast cancer cells through a p53-mediated pathway. *Molecular Cell Biology Research Communication*, 3: 338-44.
- Tserga, A., Chatziandreou, I., Michalopoulos, N.V., Patsouris, E., Saetta, A.A. 2016. Mutation of genes of the PI3K/AKT pathway in breast cancer supports their potential importance as biomarker for breast cancer aggressiveness. *Virchows Arch*, 469: 35-43.
- Turkez, H., Tatar, A., Hacimuftuoglu, A., Ozdemir, E. 2010. Boric acid as a protector against paclitaxel genotoxicity. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1): 95-97.
- UICC. 2017. The Union for International Cancer Control, TNM Classification of Malignant Tumours 2017. *Oncoline*.
- Umigai, N., Murakami, K., Ulit, M., Antonio, L., Shirotori, M., Morikawa, H., Nakano, T. 2011. The pharmacokinetic profile of crocetin in healthy adult human volunteers after a single oral administration. *Phytomedicine*, 18: 575-578.
- UNIDO. 2014. Saffron Industry Value Chain Development in Iran Diagnostic Study Report, Project Number: SAP ID 120595, United Nations Industrial Development Organization (UNIDO), İran, 72.
- USDA. 2020. Food Data Central Search Results, <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170934/nutrients> (Son erişim: 21.12.2021).
- Üstün, Ç. 2020. Pankreas kanserlerinde prognostik kriter Olarak platelet-lenfosit oranı ile red cell Distribution width(rdw)-platelet oranının ilişkisinin sorgulanması. Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi.
- Üstün, Z. 2021. Sisplatin ile Uyarılan Kas Toksisitesine Karşı Ligandrolün Koruyucu Etkileri. Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

- Vali, F., Changizi, V., Safa, M. 2015. Synergistic Apoptotic Effect of Crocin and Paclitaxel or Crocin and Radiation on MCF-7 Cells, a Type of Breast Cancer Cell Line. *International Journal of Breast Cancer*, 139349: 1-7.
- Velioğlu, Ç. 2018. Ratlarda tartrazin ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerine krosinin koruyucu etkisi. Karabük Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Vinay, D.S., Ryan, E.P., Pawelec, G., Talib, W.H., Stagg, J., Elkord, E., Lichtor, T., Decker, W.K., Whelan, R.L., Kumara, H., Signori, E., Honoki, K., Georgakilas, A.G., Amin, A., Helferich, W.G., Boosani, C.S., Guha, G., Ciriolo, M.R., Chen, S., Mohammed, S. I. Kwon, B.S. 2015. Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Seminars in Cancer Biology*, 35: 185-198.
- Wani, M.C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P., McPhail, A.T. 1971. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc*, 93: 2325-2327.
- Wheeler, G.P., Simpson-Herren, L. 1973. Effects of Purines, Pyrimidines, Nucleosides, and Chemically Related Compounds on the Cell Cycle. *Drugs and the Cell Cycle*, 249-306.
- Yerlikaya, F. 2013. Paklitaksel nanopartiküllerinin kalite Tasarımı ile geliştirilmesi ve değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Yıldız, Y. 2017. Tekirdağ Koşullarında Safran (*Crocus sativus* L.)'ın Verim ve Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Basılmamış Yüksek Lisans Tezi.
- Yoshino, F., Yoshida, A., Umigai, N., Kubo, K., Lee, M.C. 2011. Crocetin reduces the oxidative stress induced reactive oxygen species in the stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSPs) brain. *J Clin Biochem Nutr*, 49: 182-187.
- Zhang, K., Wang, L., Si, S., Sun, Y., Pei, W., Ming, Y., Sun, L. 2018. Crocin improves the proliferation and cytotoxic function of T cells in children with acute lymphoblastic leukemia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99: 96-100.

- Zhang, Y., Liu, J., Lin, L., Li, L. 2012. Pharmacokinetics of Crocin-1 after oral administration in rats. *Chin Pharmaceut J*, 47: 136-140.
- Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Xu, D.P., Li, S., Li, H.B. 2016. Spices for Prevention and Treatment of Cancers. *Nutrients*, 8(8), 1-35.
- Zheng, M., Storz, G. 2000. Redox sensing by prokaryotic transcription factors. *Biochemical Pharmacology*, 59(1): 1-6.
- Url-1: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.10368587.html>. Son erişim tarihi: 10.01.2022.



## ÖZGEÇMİŞ

Yücel Can MUTLU İlk, orta ve lise eğitimini Trabzon'da tamamladı. 2005 yılında Çarşıbaşı Çok Programlı Lisesinden mezun oldu. Karadeniz Teknik Üniversitesi Maçka Meslek Yüksekokulu Su Ürünleri Programını 2008 yılında bitirdi. 2005 yılında başladığı Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi Bölümünü 2012 yılında bitirdi. 2010 yılında girdiği Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümünden 2013 yılında mezun oldu. 2017 yılında Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans programına halen devam etmektedir. Evli ve 1 çocuk babasıdır.