

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

**SİSPLATİN İLE UYARILAN KAS TOKSİSİTESİNE
KARŞI LİGANDROLÜN KORUYUCU ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : Zişan ÜSTÜN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 05.05.2021

Enstitü Anabilim Dalı : Biyoloji

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tamer AKKAN

Ortak Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Adem GÜNER

Nisan 2021

GİRESUN

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

**SİSPLATİN İLE UYARILAN KAS TOKSİSİTESİNE
KARŞI LİGANDROLÜN KORUYUCU ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zişan ÜSTÜN

Enstitü Anabilim Dalı

:

Biyoloji

Bu tez 22/04/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr.
Cengiz MUTLU
Jüri Başkanı**

**Doç. Dr.
Tamer AKKAN
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi
Şebnem ALANYA TOSUN
Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi
Adem 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.

Zişan ÜSTÜN

22/04/2021

TEŞEKKÜR

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

Çok değerli hocalarım Prof. Dr. Cengiz MUTLU'ya ve Öğr. Gör. Ferhat BÜYÜKKALKAN'a,

Bu süreçte bana çok yardımcı olan, paylaşımlarıyla beni geliştiren sevgili öğrenci arkadaşlarıma,

Her alanda olduğu gibi tez çalışmalarım süresince de maddi ve manevi desteğini esirgemeyip bana her daim güvenen annem Dilara TEMİZER'e, aileme ve Sertan ŞALE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	V
TABLolar LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
BÖLÜM 1. GİRİŞ	1
1.1. Kanserin Sınıflandırılması.....	2
1.2. Risk Faktörleri.....	3
1.3. Kanseri Patofizyolojisi	4
1.4. Kanseri Epidemiyolojisi	7
1.5. Kanseri Teşhis ve Tedavi	14
1.5.1. Teşhis	14
1.5.2. Tedavi.....	15
1.5.2.1. Cerrahi operasyon	16
1.5.2.2. Radyasyon tedavisi.....	17
1.5.2.3. İmmünoterapi	19
1.5.2.4. Kemoterapi	21
1.6. Sisplatin Kullanımı ve Muhtemel Toksik Etkileri	22
1.7. Seçici Androjen Reseptör Modulatorleri.....	24
BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI	25
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	31
3.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi	31
3.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi	31
3.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi	32

3.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi	32
3.5. Hücre Döngüsü Analizi.....	32
3.6. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi	33
3.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu	33
3.8. Lipid Peroksidasyonu.....	33
3.9. İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonu	34
3.10. HET-CAM İrritasyon Denemesi	34
3.11. İstatistiksel Analiz.....	35
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	36
4.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi (MTT Yöntemi).....	36
4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi	37
4.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi	38
4.4. Toplam Oksidan Durum (TOD) Analizi	39
4.5. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi	40
4.6. Hücre Döngüsü Analizi.....	41
4.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu	42
4.8. Lipid Peroksidasyonu.....	43
4.9. İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonu	44
4.10. HET-CAM İrritasyon Denemesi	45
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AR	: Androjen reseptör
BPH	: İyi huylu prostat hiperplazisi
BSG	: Bacillus Calmette-Guérin
C2C12	: Fare kas hücre hattı
CAM	: Koryoallantoik membran modeli
CAR	: Kimerik antijen reseptörü
Cis	: Sisplatin
CIS	: Carsinom <i>in situ</i>
CpG	: Sitozin-fosfat-guanin
HET-CAM	: Koryoallantoik membran üzerinde tavuk yumurtası testi
LDH	: Laktat dehidrogenaz
Lig	: Ligandrol
MDA	: Malondialdehit
MTT	: 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide
SARM	: Seçici androjen reseptör modülatörleri
SERM	: Seçici östrojen modülatörleri
TAK	: Toplam antioksidan kapasite
TOD	: Toplam oksidan durumu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. 2020’de dünya geneli kanser vaka ve ölüm sayıları (WHO, 2020).....	8
Şekil 1.2. 2020’de Türkiye geneli kanser vaka ve ölüm sayıları (IARC, 2020)	9
Şekil 1.3. 2020’de kanser türlerine göre erkeklerde yeni vaka sayıları (IARC, 2020)	10
Şekil 1.4. 2020’de kanser türlerine göre erkeklerde ölüm sayıları (IARC, 2020)	10
Şekil 1.5. 2020’de kanser türlerine göre kadınlarda yeni vaka sayıları (IARC, 2020)	11
Şekil 1.6. 2020’de kanser türlerine göre kadınlarda ölüm sayıları (IARC, 2020)	11
Şekil 1.7. Gelecek yıllarda tahmin edilen kanser vaka ve ölüm sayısı (IARC, 2020)13	
Şekil 2.1. Platin ilaç araştırmaları ve klinik uygulamada kilometre taşları (Rottenberg ve ark., 2021).....	26
Şekil 2.2. Kanser tedavisi için platin ilaçların geliştirilmesinde kilometre taşları (Kelland, 2007).....	27
Şekil 4.1. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonlarının hücre canlılığına etkisi (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.	36
Şekil 4.2. Mitomisin-C, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan ekstrasellüler LDH’nin aktivitesi (cis: sisplatin, lig: ligandrol, mitc: mitomisin-C). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.....	37
Şekil 4.3. Hücrelerin askorbik asit, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total antioksidan miktarı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g, h, ı) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.....	38

- Şekil 4.4. Hücrelerin mitomisin-C, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total oksidan durumu (cis: sisplatin, lig: ligandrol, mitc: mitomisin-C). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. 39
- Şekil 4.5. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde DNA fragmentasyon oranı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. 40
- Şekil 4.6. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edildiğinde G0/G1, S ve G2 evrelerindeki hücre sayısı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. 41
- Şekil 4.7 Hücrelerin sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle Kaspaz 3/7 ekspresyon değişimi (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e, f, g, h) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. 42
- Şekil 4.8. Hücrelerin sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle malondialdehit (MDA) seviyelerinin değişimi (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. 43
- Şekil 4.9. Hücrelerin sisplatin, ligandrol ve kombinasyonlarının muamele edilmesiyle oluşan irritasyon skoru (cis: sisplatin, lig: ligandrol) 45

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu.....	44
--	----



SİSPLATİN İLE UYARILAN KAS TOKSİSİTESİNE KARŞI LİGANDROLÜN KORUYUCU ETKİLERİ

ÖZET

Sisplatin, farklı kanser tedavilerinde kullanılan önemli bir kemoterapötik ajandır. Sisplatin kullanımı aynı zamanda kas, sinir, böbrek ve kan sistemleri üzerinde ciddi sitotoksik etkilere neden olmaktadır. Ligandrol, kasları güçlendirme amacıyla geliştirilmiş, yeni bir nonsteroid oral seçici androjen reseptör modülatörüdür (SARM). Mevcut çalışma sisplatin ile uyarılan kas toksisitesine karşı ligandrolün koruyucu etkilerini ortaya koymayı amaçlamıştır.

Çalışma kapsamında sitotoksik etkiler, fare kas hücre hatlarında (C2C12) 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. Aynı zamanda, uygulamalar sonrası hücre döngüsü analizleri, DNA fragmentasyonu, kaspaz 3/7 aktiviteleri, lipid peroksidasyonu ve intrasellüler kalsiyum konsantrasyon seviyeleri değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, irritant/antirritant etkiler yumurta koryoallantoyik membran (HET-CAM) metodu ile tespit edilmiştir.

Sonuçlarımız, sisplatin ile muamele edilen hücrelerde ligandrolün ortamdaki hücre canlılığını koruduğu; hücre membran hasarının belirtilerinden olan LDH salınımını ve intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu önemli derecede ($p<0,05$) azalttığını göstermiştir. Ligandrol, sisplatin ile uyarılan TOS seviyelerini önemli derecede ($p<0,05$) azaltırken, TAK kapasitelerini önemli derecede ($p<0,05$) arttırmıştır. Bununla birlikte oksidatif stres ile indüklenen DNA fragmentasyonundaki ve lipid peroksidasyonu son ürünü olan malondialdehit konsantrasyonundaki artışı inhibe etmiştir. Ligandrolün sisplatin ile kombinasyon uygulaması, yalnız sisplatin uygulamalarına kıyasla kaspaz 3/7 ekspresyonu artışları aracılığıyla apoptozu aktive etmiştir. HET-CAM irritasyon denemesinde güçlü irritant etkilere yol açan sisplatinin etkinliği, ligandrol uygulamaları ile önemli derecede ($p<0,05$) zayıflatılmıştır.

Sonuç olarak, sisplatin ile uyarılan kas toksisitesine karşı ligandrolün önemli derecede koruyucu etki gösterdiği ilk kez olarak bu çalışmada ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Ligandrol, sisplatin, kas, oksidatif stres, toksisite

PROTECTIVE EFFECTS OF LIGANDROL AGAINST CISPLATIN INDUCED MUSCLE TOXICITY

SUMMARY

Cisplatin is an important chemotherapeutic agent used in different cancer treatments. Cisplatin use also causes serious cytotoxic effects on muscle, nervous, kidney, and blood systems. Ligandrol is a new nonsteroidal oral selective androgen receptor modulator (SARM) developed for muscle strengthening. The present study aimed to demonstrate the protective effects of ligandrol against cisplatin-induced muscle toxicity.

In the present study, cytotoxic effects were determined by cell viability (MTT) and lactate dehydrogenase (LDH) assays in mouse muscle cell lines (C2C12). The oxidant/antioxidant status was demonstrated by total antioxidant capacity (TAC) and total oxidative status (TOS). Cell cycle analysis, DNA fragmentation, caspase 3/7 activities, lipid peroxidation, and intracellular calcium concentration levels were evaluated. Irritant/antirritant effects were determined by the egg chorioallantoic membrane method (HET-CAM).

Our results showed that combination treatment of cisplatin and ligandrol significantly ($p<0.05$) ameliorated the cell viability while significantly ($p<0.05$) reducing LDH release and intracellular calcium concentration which are signs of cell membrane damage. Ligandrol significantly ($p<0.05$) decreased cisplatin-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 ligandrol and cisplatin activated apoptosis via increases in caspase 3/7 expression compared to cisplatin alone. The effectiveness of cisplatin, which showed strong irritant effects in the HET-CAM irritation trial, was significantly weakened after ligandrol applications.

As a result, it was demonstrated for the first time with this study that ligandrol has a significant protective effect against cisplatin-induced muscle toxicity.

Keywords: Cisplatin, ligandrol, muscle, oxidative stress, toxicity

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bölünmesinden dolayı oluşan kötü huylu (sınırsız olan ve bitişik veya uzak dokulara yayılabilen) büyümenin sonucu olarak ortaya çıkan bir hastalıktır (Bekisz ve Geris, 2020). Hücre bölünmesi, farklılaşması, transkripsiyonu ve gen ekspresyonu gibi hücresel süreçleri yöneten genlerdeki ardışık mutasyonların ilerlemesi ile oluşur. Kanser hücreleri kendi kendine yeterlilik kazanarak kontrolsüz büyür ve bölünür. DNA gelişimindeki değişiklikler, hücrelerin hızlı bölünmesi yoluyla mutasyona ve hemen ardından aşırı hücre büyümesine yol açan ikinci bir mutasyona sebep olur. Bu mutasyonlar ise hücre zarlarını parçalayarak metastaza (yayılma) sebep olan kötü huylu (malign) tümörlere dönüşür (Korgaonkar ve Yadav, 2019). Malign tümörler kanser olarak adlandırılır. Hücrelerin aşırı farklılaşmasından dolayı orijinleri belirlenemez, lenf ve kan yoluyla uzak organlara yayılır. Malign tümörlerin yanında bening (iyi huylu) tümörler de bulunmaktadır. Metastaz özellikleri bulunmamakla birlikte belirli sınırlara sahiptir ve orijinlerini tahmin etmek mümkündür. Kanser hücreleri, normal hücrelerden birçok yönden farklılık gösterir. Normal hücreler büyüyüp gelişerek farklı fonksiyonlara sahip hücrelere veya dokulara dönüşebilirken, kanser hücrelerinde bu durum gözlenmez. Bu, normal hücrelerin aksine, kanser hücrelerinin durmadan bölünmeye devam etmelerinin bir nedenidir. Kanser hücreleri, programlanmış hücre ölümü veya apoptoz olarak bilinen sürecin başlatılmasını sağlayan sinyalleri engelleyebilir, immün sistemden kaçınabilir, hatta immün yanıtı engelleyen bazı immün sistem hücreleri sayesinde hayatta kalarak büyümesini sürdürebilir (Vinay ve ark., 2015).

1.1. Kanserin Sınıflandırılması

Kanserin teşhis ve tedavisi, kötü huylu (tümör) olup olmamasına, kökenine, histotipine (dokudan oluşan), derecesine ve vücutta yayılmasına dayanmaktadır. Bu özelliklere dayanarak geliştirilen kötü huylu tümör sınıflandırması tanımlanmıştır (UICC, 2017). Bu sınıflandırma ise epidemiyolojik, morfolojik, fenotipik ve biyolojik verilere dayanmaktadır (Carbone, 2020). Kötü huylu tümörler şu şekilde sınıflandırılmaktadır: organ/sistem spesifik tip, dokudan oluşan tip, derece ve TNM sistemine (Tümör Evreleme Sistemi) göre evre durumu.

Spesifik tip: İlk oluşum yerine göre kanserler meme kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, karaciğer kanseri, böbrek kanseri, ağız kanseri, beyin kanseri vb. gibi spesifik tiplerde olabilir.

Histotip: Oluştugu dokuya göre 6 ana kategoriye ayrılır:

- **Karsinom:** Vücudun iç yüzeyinde organları saran ve dış yüzeyini kaplayan epitel dokudan orijinlenir. Epitel dokunun vücudun büyük bir çoğunluğunu kaplaması sebebiyle kanser vakalarının %80-%90'ını oluşturur (Frank, 2007). Çoğu karsinom salgı yapabilen bez ve organları etkiler (göğüs, akciğer, kolon, prostat, mesane kanseri).
- **Sarkom:** Kas, kemik, kıkırdak ve yağ doku gibi bağ ve destek dokularından orijinlenir.
- **Miyelom:** Kemik iliğindeki plazma hücrelerinden orijinlenir.
- **Lösemi:** Kemik iliğinden orijinlenir. Hastalık, gelişmemiş akyuvar hücrelerinin fazla üretimi ile ilişkilendirilmektedir.
- **Lenfoma:** Lenfatik sistemde bulunan bez veya nodüllerden orijinlenir.
- **Karışık tip:** Bir veya daha fazla kategori içerisinde bulunan bileşenleri içerir. Mezodermal tümör, karsinosarkom, adenoskuamöz karsinom, teratokarsinomu ve blastomalar (embriyonik dokuları içeren tür) bu tipe örnek olarak verilebilir.

Derece: Tümörlerin derecelerine göre sınıflandırılması, bir hastalığın iyileşme şansı olup olmadığı ile ilgili sürecin (prognoz) bir parçasıdır (Rosai ve Ackerman, 1979). Hücrelerin kendilerini çevreleyen dokuya nazaran ne kadar değiştiği, tümörün derecesini belirler. Bu derece sayısal olarak ifade edilir.

- 1.Derece: Hafif anomaliteye sahip iyi farklılaşmış hücreler
- 2. Derece: Orta derecede anomaliteye sahip orta derecede farklılaşmış hücreler
- 3. Derece: Yüksek anomaliteye sahip az farklılaşmış hücreler
- 4. Derece: Çok yüksek anomaliteye sahip olgunlaşmamış, ilkel ve farklılaşmamış hücreler

Evre durumu: Uluslararası Kanser Savaş Örgütü, TNM sistemini kullanarak bu sınıflandırmayı standart haline getirmiştir. 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 rastlanmadığını gösterirken; 1'den 4'e kadar yapılan numaralandırmalar bulguların arttığını göstermektedir. X ise bu bulgunun değerlendirilemeyeceğine işaret eder. Bu evreler aynı zamanda farklı bir yol ile açıklanabilir:

- Evre 0: Anormal hücreler mevcuttur ancak yakındaki dokulara yayılmamıştır. Bu durum karsinom *in situ* (CIS) olarak da adlandırılır. CIS kanser değildir, ancak kansere dönüşebilir.
- Evre 1, 2 ve 3: Kanser mevcuttur. Sayı ne kadar yüksekse, tümör o kadar büyük ve yakındaki dokulara daha fazla yayılmıştır.
- Evre 4: Kanser vücudun uzak bölgelerine yayılmıştır.

1.2. Risk Faktörleri

Henüz kanserin kesin bir sebebi belirlenememiş olsa da vücutta kanser oluşumuna neden olması muhtemel birçok faktör tanımlanmıştır. Bu faktörlere "kanser risk

faktörleri" denir. Kanser neden bu olan bu risk faktörleri, jenerasyonlar boyunca merak uyandırmıştır. 1950 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından düzenlenen bir sempozyumda, dünyanın farklı bölgelerinde bulunan çeşitli kanser türlerine dikkat çekilmiştir (HRCP, 1996). Farklı ülkelere göç eden insanların, kendi ülkelerinden çok göç ettikleri ülkedeki yaygın kanser türlerine yakalandıkları tespit edilmiştir. Bu durum kanserin genetik faktörlerden çok, çevresel faktörlerden kaynaklandığını göstermektedir.

Kansere sebep olan faktörlerin %90-%95'ini çevre ve yaşam şeklinden kaynaklı genetik mutasyonlar oluştururken, kalan %5-%10'unu kalıtsal faktörler oluşturmaktadır ve en önemli risk faktörleri olarak sigara, diyet, obezite ve alkol, mesleki ve çevresel karsinogenler, patojenler, radyasyon, hormonlar ve immün koşullar ve genetik sayılabilir (Anand ve ark., 2008).

Risk faktörlerinin büyük çoğunluğunun çevresel etmenlerden oluşması ve bu etmenlerin yaşam şeklini oluşturan seçimler ile kontrol edilebilmesi, kanserin genel olarak önlenebileceğini göstermektedir. En önemli risk faktörlerinden olan sigara ve alkol tüketiminin en aza indirgenmesi ile kanseri riski azaltılabilir. Daha temiz çevre koşullarının oluşturulması ve yaşam şeklindeki değişiklikler (sağlıklı beslenme, fiziksel aktivite) yine kanserin önlenebilmesi açısından alınabilecek tedbirlerden birkaçıdır. İlaç kullanımı, aşı ve çeşitli tedavi yöntemleri de kanseri önlemek adına kullanılmaktadır.

1.3. Kanser Patofizyolojisi

Patofizyoloji, bir hastalık sürecinin nedeni veya sonucu olan vücut işlevlerindeki anormal değişikliklerin incelenmesini ifade eder. Patofizyoloji, fiziksel, zihinsel veya psikofizyolojik bozuklukların hastalık süreçleriyle doğrudan ilişkilendirildiği süreçleri kapsamaktadır. Kanser patofizyolojisinde ise bir hücrenin kanserleşmesi için geçirdiği tüm süreçlere karsinogenez denir. Bu süreçler genetik, epigenetik veya hücresel seviyelerde gerçekleşebilir (Korgaonkar ve Yadav, 2019).

Genetik

Genler normal bir hücrenin büyümesi, gelişimi, ölümü gibi süreçleri düzenlemektedir. Bu süreçler bir kanser hücresinde anormal bir şekilde ilerlediğinden, bir hücrenin kanser hücresine dönüşebilmesi için bu süreçleri düzenleyen genlerin değişikliğe uğraması gerekir (Croce, 2008). Kötü huylu bir tümörün oluşması için tek bir genetik değişiklik yeterlidir. Hücre bölünmesi sırasında meydana gelen komplikasyonların (kromozom kaybı ya da kazanımı) veya her türlü karsinogen maddeye maruz kalmanın sonucu (mutasyon oluşumu) olarak, kanser oluşumuna sebep olan genetik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler genellikle somatik hücrelerde (genetik aktarımda rol almayan) gerçekleşir fakat genetik aktarımda rol oynayan hücrelerde de (üreme hücreleri) meydana gelebilmektedir. Kanser oluşumuna sebep olan, değişikliğe uğramış genler onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerdir. Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşan onkogenler tümör gelişimine; tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre döngüsünün inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur. Sonuç olarak bu mutasyonlar normal hücreleri kanserli bir hücreye dönüştürecek genlerin aktivasyonu veya inaktivasyonu ile sonuçlanır (Luo ve ark., 2009).

Onkogenler: Hücre büyümesini ve farklılaşmasını regüle eden ve regülasyonda ilgili sinyallerin iletilmesi için protein kodlayan proto-onkogenler, mutasyona uğradığında kansere sebep olan onkogenlere dönüşür. Onkogenler kromozomların yeniden düzenlenmesi (kromozom translokasyonu, kazanılması veya kaybedilmesi) ya da gen yapısını veya ekspresyonunu etkileyen nükleotid yapısı üzerindeki değişiklikler (mutasyon, delesyon, gen amplifikasyonları) ile aktiflenmektedir (Jefford ve Irminger-Finger, 2006). Onkogenlerin aktiflenmesi 3 şekilde gerçekleşebilir: protein yapısındaki değişiklikler (proto-onkogenlerin mutasyonu), protein konsantrasyonunun artması ve kromozomal translokasyon.

Tümör Baskılayıcı Genler: Hücre bölünmesini yavaşlatan, DNA hatalarını onaran ve apoptozun gerçekleştirilmesini sağlayan genlerdir. Hücre çoğalması veya ölümü için kontrol noktaları görevi gören proteinleri içerir. Tümör baskılayıcı genler, hücre

yayılımı ve tümör ilerlemesini engelleyerek hareket eden genlerdir. Tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu, hücre döngüsünün inhibisyonunu engelleyerek kansere dönüşen, anormal hücre proliferasyonuna (çoğalmasına) neden olur.

Epigenetik

Epigenetik, bir genotipin ekspresyonunu belirli bir fenotipe dönüştüren tüm moleküler yolları ifade eder. Epigenetik çoğunlukla gen aktivitesini ve ifadesini etkileyen değişiklikleri içerir ancak bu terim DNA dizisinde değişiklikler içermeyen bir kalıtsal fenotipik değişiklikleri tanımlamak için de kullanılabilir (Jones ve Laird, 1999; Baylin ve Ohm, 2006; Dupont ve ark., 2009). Hücreler bölündüğünde epigenetik değişiklikler korunur ve böylece bir sonraki nesle aktarılabilir. Epigenetik değişiklikler belirli genlerin aktivasyonunu değiştirirken, DNA'nın genetik kod dizisini değiştirmez. Bu değişikliklerle birlikte DNA'nın mikro yapısında veya kromatin proteinlerinde aktivasyona ve gen ekspresyonunun önlenmesine sebep olacak şekilde değişiklikler oluşabilir. DNA yapısında oluşacak bir hasar onarılabilir olsa da epigenetik değişiklikler sabit kalabilir (Cuozzo ve ark., 2007). Epigenetik değişiklikler DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlamayan RNA (non-coding RNA-ncRNA) regülasyonu mekanizmaları sonucunda meydana gelir.

DNA metilasyonu: DNA'ya bir metil (CH_3) grubunun eklenmesiyle genlerin ekspresyonunu ve dolayısıyla işlevini etkileyen süreçtir. DNA metiltransferazlar (DNMT'ler) tarafından DNA'nın sitozin halkasının C-5 pozisyonuna kovalent olarak eklenmesidir (Robertson, 2005) ve sitozin-fosfat-guanin bölgesinde (CpG) meydana gelir. CpG bölgesindeki düzensiz ve aşırı metilasyona (hipermetilasyon) bağlı olarak transkripsiyon engellenir (Suzuki ve Bird, 2008) ve tümör baskılayıcı genler susturulur. Tümör baskılayıcı genlerin baskılanmasıyla kontrolsüz hücre bölünmeleri meydana gelir.

Histon modifikasyonu: Histonlarda meydana gelen asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubiquitinasyon ve sumoilasyon gibi kovalent modifikasyonlar gen transkripsiyonu, DNA replikasyonu ve DNA onarımı gibi hücresel süreçleri regüle eden epigenetik mekanizmalardır (Cedar ve Bergman, 2009). Bu modifikasyonlarda

en yaygın olarak karakterize edilenler, histon yapısının N-Terminal kısmında oluşan asetilasyon ve metilasyondur. N-Terminal kısmında bulunan lizin ve arjinin rezidülerinde gerçekleşir ve kromatin yapısını değiştirirerek transkripsiyonal aktivasyona veya baskılamaya sebep olur (Jin ve ark., 2011).

Kodlamayan RNA regülasyonu: Kodlamayan RNA (ncRNA) bilgi içermesine ve fonksiyonu olmasına rağmen protein kodlamayan RNA'lardır. ncRNA'lar transfer RNA(tRNA) ve ribozomal RNA(rRNA)'nın yanı sıra mikro RNA(miRNA), susturucu RNA(siRNA) ve küçük nükleolar RNA(snoRNA)'lardır. Bu RNA'lar kromatin yapısı/epigenetik hafıza, transkripsiyon, uç birleştirme (RNA slicing), düzenleme, translasyon ve turnover dahil olmak üzere fizyoloji ve gelişimde çeşitli gen ekspresyon seviyelerini kontrol eden bir sinyal yolağı içermektedir (Mattick ve Makunin, 2006). ncRNA'larda oluşan bir mutasyon RNA'ların tümör baskılama özelliklerini kaybetmesi neden olur ve sonuçta onkogenler aktiflenir ve tümör baskılayıcı genler inaktif hale gelir. Histon modifikasyonları birbirlerini etkilemekle beraber DNA metilasyonunu da etkilemektedir (Tchurikov, 2005).

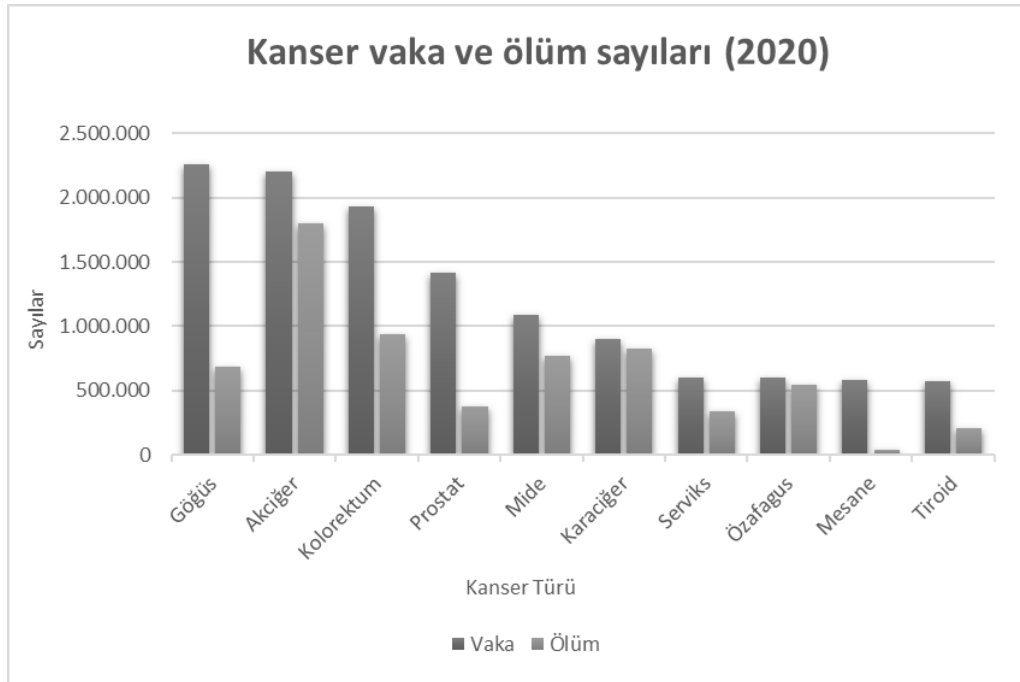
1.4. Kanseri Epidemiyolojisi

Kanser epidemiyolojisi, kanserin bir popülasyondaki dağılımı ve kanser belirleyicileri hakkında bilgi verir ve bu bilgi hastalık kontrolünde uygulanır. Belirli bir popülasyondaki farklı kanser türleri hakkında veriler sağlar ve kanıta dayalı sağlık programları aracılığıyla kansere karşı eylemlerin başarısını değerlendirir. Tanı ve tedavi sonrası hayatta kalma gibi, kanser hastalarında diğer sağlık sonuçlarına ilişkin özellikler de epidemiyoloji kapsamına girer ve kansere karşı bir strateji için kriterlerin tanımlanmasına yardımcı olabilir. Tanı ve tedaviye ilişkin bilgiler, klinik epidemiyoloji çalışmaları, sistematik inceleme yöntemleri ve meta-analiz modelleri aracılığıyla geniş çapta değerlendirilir ve kanıta dayalı protokolleri desteklemek için gereklidir. Epidemiyoloji çalışmalarında popülasyondaki dağılım, hastalığın sıklığı ve belirli özelliklere göre meydana geliş olarak incelenmektedir. Sıklık, yalnızca bir popülasyondaki sağlık olaylarının sayısını değil, aynı zamanda bu sayının nüfusun büyüklüğü ile olan ilişkisini de ifade eder (Siegel ve ark., 2019). Kanser, dünya

apında en önemli ölüm nedenlerinden biridir ve 2020 yılında 19,3 milyon yeni vaka sayısı ile yaklaşık 10 milyon ölüme neden olmuştur (IARC, 2020). Dünya genelinde her 5 kişiden 1'inde kanser meydana gelmektedir. Kanser kaynaklı ölümlerin yaklaşık %70'i düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelir.

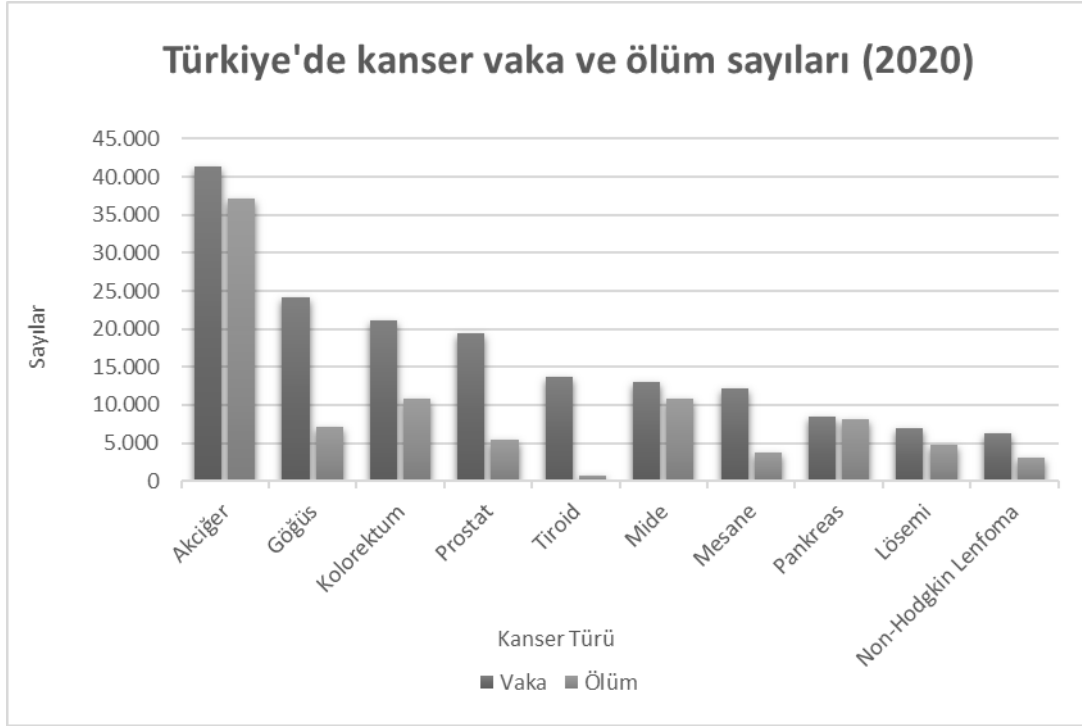
DSÖ tarafından toplanan verilere göre 2020'de dünya genelinde öngörülen en yaygın kanser türleri için vaka sayısı ve kanserden ölüm sayısı şekil 1.1'de gösterilmiştir. Kıta olarak değerlendirildiğinde, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) 2020 raporuna göre vaka ve ölüm sayısı şu şekildedir:

- Asya: 9.503.710 vaka ve 5.809.431 lm
- Avrupa: 4.398.443 vaka ve 1.955.231 lm
- Kuzey Amerika: 2.556.862 vaka ve 699.274 lm
- Güney Amerika: 1.470.274 vaka ve 713.414 lm
- Afrika: 1.109.209 vaka ve 711.429 lm
- Avustralya: 254.291 vaka ve 69.354 ölüm



şekil 1.1. Dünya geneli kanser vaka ve ölüm sayıları (WHO, 2020).

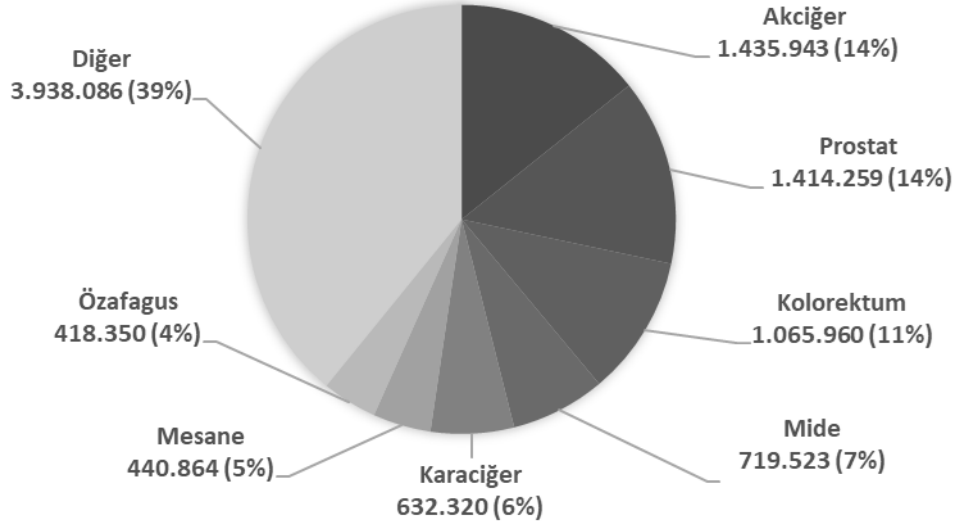
Türkiye genelinde ise 2020 yılında kanser vaka sayısı 233.834 iken ölüm sayısı 126.335'tir. Türkiye genelinde en yaygın kanser türleri için vaka sayısı ve kanserden ölüm sayısı Şekil 1.2'deki gibidir.



Şekil 1.2. Türkiye geneli kanser vaka ve ölüm sayıları (IARC, 2020).

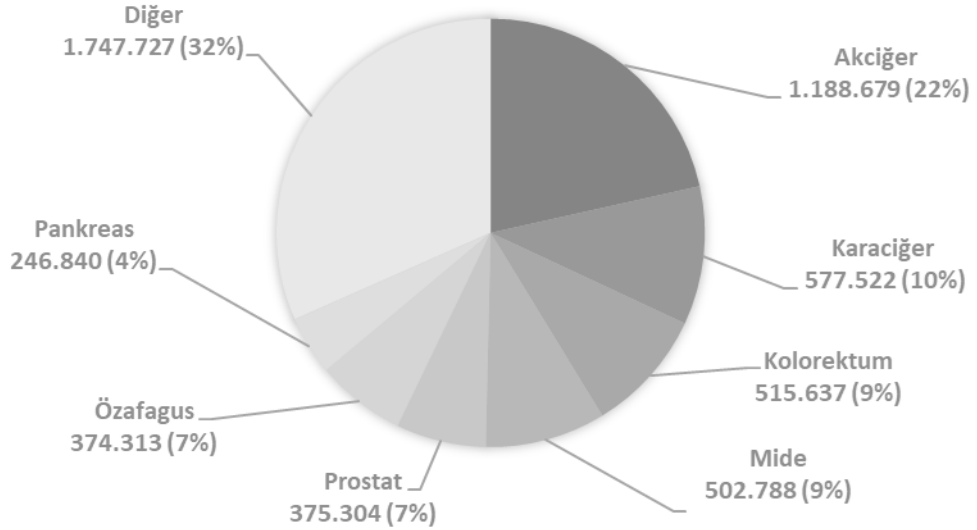
Kanser epidemiyolojisinde ilgili incelemeler, zaman, yer ve kişi kavramlarına göre de yapılmaktadır. Zaman kavramı; yıllık, mevsimsel, haftalık şekilde ifade edilebilmektedir. Yer kavramı; coğrafi çeşitliliği, kentsel/kırsal farklılıkları ve çalışma alanlarını içerir. Kişisel özellikler arasında yaş, cinsiyet, medeni hal ve sosyoekonomik durum gibi demografik faktörlerin yanı sıra davranışlar ve çevresel etkenler yer alır. Kanser belirlenen özelliklere göre meydana geliş Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yapılan en güncel dünya geneli kanser raporunda bazı örneklerle sıradaki şekillere (Şekil 1.3,1.4,1.5 ve 1.6) göre verilmiştir.

2020'de erkeklerde yeni vaka sayıları



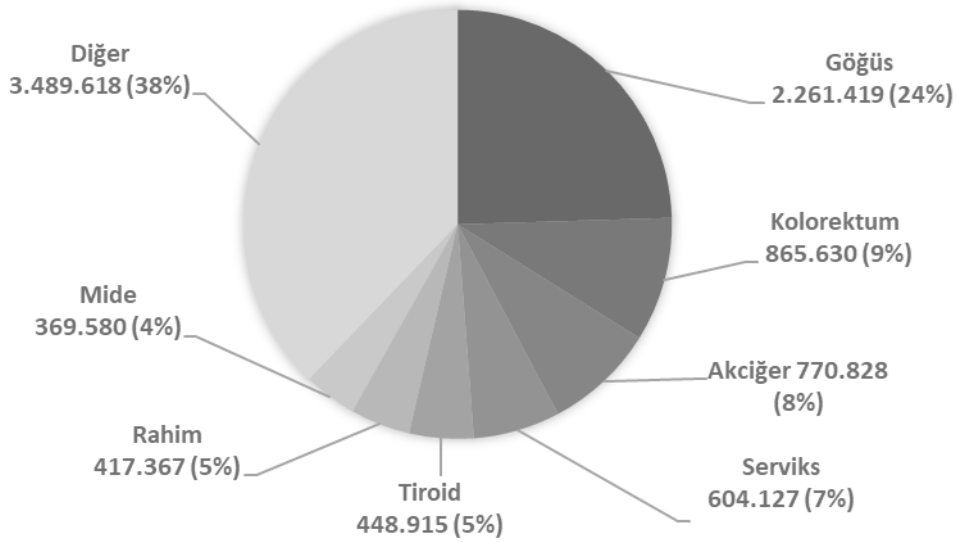
Şekil 1.3. Kanser türlerine göre erkeklerde yeni vaka sayıları (IARC, 2020).

2020'de erkeklerde ölüm sayıları



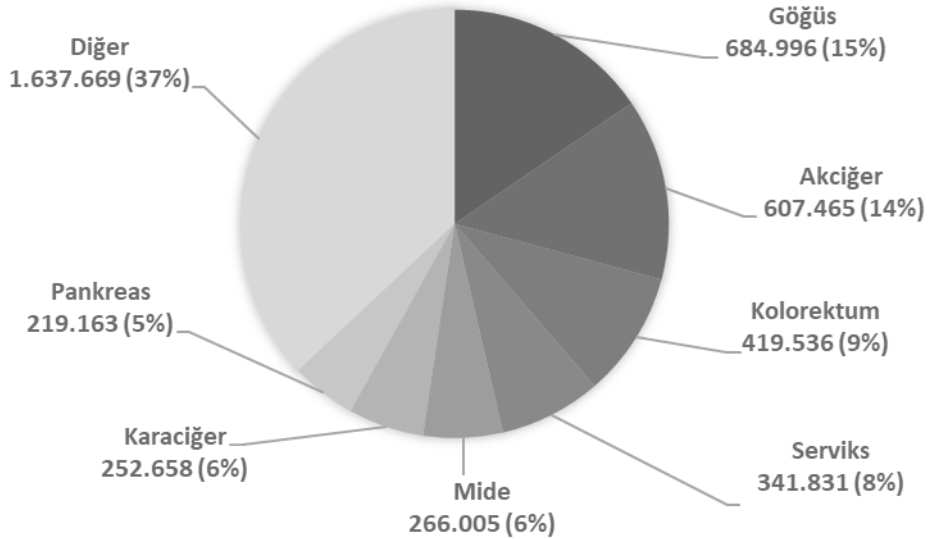
Şekil 1.4. Kanser türlerine göre erkeklerde ölüm sayıları (IARC, 2020).

2020'de kadınlarda yeni vaka sayıları



Şekil 1.5. Kanser türlerine göre kadınlarda yeni vaka sayıları (IARC, 2020).

2020'de kadınlarda ölüm sayıları



Şekil 1.6. Kanser türlerine göre kadınlarda ölüm sayıları (IARC, 2020).

IARC 2020 raporuna göre Türkiye genelinde kadınlarda yeni vaka sayısı 101.018 ve ölüm sayısı 47.386'dır. Erkeklerde ise yeni vaka sayısı 132.816 iken ölüm sayısı 78.949 olarak belirlenmiştir.

Kanser kaynaklı ölümlerin yaklaşık %70'i düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelmektedir. Yüksek gelirli ülkelerin çoğunda kanserden ölüm oranları düşmekle birlikte bu tür bir ilerleme düşük gelirli ülkelerde görülmemektedir ve kanser birçok ülkede erken ölümlerin (30-69 yaşlarında) birinci veya ikinci önde gelen nedeni olmaya devam etmektedir. 2018 yılında dünya genelinde bulaşıcı olmayan hastalıklardan kaynaklanan 15,2 milyon erken ölümün %30'u kansere bağlıdır (WHO, 2020). Kanser çocuklarda önemli bir ölüm nedenidir ve çocukluk çağı kanserlerinin görülme sıklığı hem yüksek hem de düşük gelirli bölgelerde dünya çapında artmaktadır. Çocuklarda görülen kanser türleri yetişkinlerdekinden farklıdır. En yaygın kanser türleri lösemi, lenfoma ve merkezi sinir sistemi tümörleridir. Bununla birlikte nedenleri büyük ölçüde bilinmemektedir. Tümörlerin yaklaşık %5'i kalıtsal kökenlidir. Yetişkinlerde olduğu gibi çocuklarda da birçok kanserin somatik mutasyonlar tarafından aktive edildiği düşünülmektedir. Çocuklarda kanserlerin nadir olması ve çocukların yaşamın erken dönemlerinde nelere maruz kalmış olabileceklerini değerlendirmedeki zorluklar, çevresel etki ile bağlantı kurulmasını zorlaştırmaktadır. Yetişkinlerle karşılaştırıldığında çocuklar, kendilerine özgü aktivite kalıpları, davranışları ve fizyolojilerinin yanı sıra organlarının olgunlaşmamış olması nedeniyle çevresel etkenlere karşı daha savunmasızdır (IARC, 2020).

Epidemiyoloji aynı zamanda hastalığa neden olan veya hastalığın oluşmasında etkisi olan faktörlerin araştırılması için de kullanılmaktadır. Genetik ile normal bir hücrenin kansere dönüşümüne yol açan risk faktörleri aşağıdaki gibi sınıflandırılır:

- Fiziksel kanserojenler: UV ışınlar, radyasyon vb.
- Kimyasal kanserojenler: Benzen, asbestos, sigara bileşenleri vb.
- Biyolojik kanserojenler: Enfeksiyonlar

Kanser kaynaklı ölümlerin üçte biri başlıca diyet, obezite, fiziksel inaktivite, sigara ve alkol kullanımı ile ilişkilidir. Sigara kullanımı kanser için en önemli risk faktörüdür ve kanser kaynaklı ölümlerinin yaklaşık %22'sinden sorumludur (Forouzanfar ve ark., 2016). Diyet, obezite ve fiziksel inaktivite kanserden ölümlerin %30-%35 ile bağlantılıdır (Kushi ve ark., 2006; Anand ve ark., 2008). Dünya çapındaki tüm kanser vakalarının %3,6'sı ve kanser ölümlerinin %3,5'i alkol (özellikle etanol) tüketimine bağlanabilir (Boffetta ve ark., 2006). Bunların yanında Hepatit ve İnsan Papilloma Virüsü (HPV) gibi kansere neden olan enfeksiyonlar, düşük ve orta gelirli ülkelerdeki kanser vakalarının %25'inden sorumludur (Martel ve ark., 2012). Son olarak kanser epidemiyoloji çalışmalarından ve DSÖ ile IARC raporlarından elde edilen sonuçlara göre, 2040 yılında kanser vakalarının ve ölüm oranının Şekil 1.7'de gösterildiği gibi 2 katına çıkacağı düşünülmektedir (IARC, 2020).



Şekil 1.7. Gelecek yıllarda tahmin edilen kanser vaka ve ölüm sayısı (IARC, 2020).

1.5. Kanserde Teşhis ve Tedavi

Kanser teşhis ve tedavisinin temel amacı, hastayı iyileştirmek veya önemli ölçüde yaşam süresini uzatmak ve kanserden kurtulanlar için mümkün olan en iyi yaşam kalitesini sağlamaktır. En etkili tedavi programları adil ve sürdürülebilir bir şekilde sağlanan; erken, doğru teşhis ve evreleme ile bağlantılı; kanıta dayalı bakım standartlarına bağlı olanlardır.

1.5.1. Teşhis

Kanserin teşhisi, genellikle hastalıkla ilgili olabilecek semptomların saptanmasıyla ya da kanser taramasıyla başlar. Kanser ilk ortaya çıktığında herhangi bir semptom görülmemektedir. Fakat kanser büyüyüp ilerledikçe semptomlar ortaya çıkar. En yaygın semptomlar ise şunlardır:

- 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

Kanser taraması herhangi bir belirti, semptom ortaya çıkmadan kanserin tespitini içermektedir. Kanserın erken aşamalarının tespiti için asemptomatik hastaları değerlendirir ve kanser ölüm oranındaki düşüşe önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Berry ve ark., 2005; Edwards ve ark., 2010). Tarama testleri ise şunları içermektedir:

- Fiziksel muayene ve hastalık geçmişi
- Laboratuvar testleri (doku, kan, idrar vb.) ve radyolojik görüntüleme prosedürleri
- Genetik testler

Çoğu kanser, belirti veya semptomların ortaya çıkması ya da tarama yoluyla fark edilebilir fakat bu uygulamaların ikisi de kesin bir teşhis sağlamamaktadır. Kesin teşhis ise tümör için alınan doku parçasının patolojik olarak (mikroskop altında) incelenmesiyle sağlanır ve bu işleme biyopsi denir. Biyopsi sonucu oluşturulan patoloji raporu, ilgili kanserin türünü, istilacı olup olmadığını ve vücudun diğer bölgelerine yayılıp yayılmadığını ayrıntılı bir şekilde göstermektedir ve kansere ait şu bilgileri de içermektedir (Kwan ve ark., 2010):

- Histotip: Boyut, şekil ve diğer karakteristik özelliklerin normal hücre ile karşılaştırılması.
- Mitotik index: Hücre bölünmesinin hangi seviyede olduğunu belirlenmesi.
- Lenf nodül durumu: Lenf nodüllerine sıçrayıp sıçramadığının belirlenmesi.
- Evre: Tümörün boyutuna, konumuna ve yayılmasına bağlı olarak vücuttaki kanser boyutunun belirlenmesi.

1.5.2. Tedavi

Tedavide amaç kanseri tamamen yok ederek hastaya normal bir yaşam süresi sağlamaktır. Bu, kanserin durumuna bağlı olarak her zaman mümkün olmayabilir. Böyle durumlarda tedavi, kanseri küçültüp veya büyümesini yavaşlatıp semptomları azaltmak için uygulanır. Kanser tedavisi birincil, yardımcı veya hafifletici olarak uygulanabilir. Birincil tedavide amaç kanserin vücuttan tamamen uzaklaştırılması veya kanserli hücrelerin öldürülmesidir. Yardımcı tedavide ise amaç, birincil tedavi uygulanmasından sonra vücutta kalan kanser hücrelerinin öldürülerek kanserin tekrar etmemesini sağlamaktır. Hafifletici tedavi ise kanserin sebep olduğu semptomların ya da tedavide ortaya çıkan yan etkilerin hafifletilmesi için uygulanmaktadır. Uygulanan pek çok kanser tedavisi türü vardır. Uygulanacak tedavi türü, kanserin türüne ve ne kadar gelişmiş olduğuna bağlıdır (Siegel ve ark., 2019). Bazı kanser hastalarında tek bir tedavi türü uygulanmaktadır. Ancak çoğu hasta için iki veya daha fazla tedavi bir arada uygulanır.

Kanser tedavi türleri şunlardır:

- Kemoterapi
- Cerrahi Operasyon
- Radyasyon Tedavisi
- İmmünoterapi
- Hedeflenmiş Tedavi
- Hormon Tedavisi
- Kök Hücre Nakli
- Hassas Tıp

1.5.2.1. Cerrahi operasyon

Cerrahi operasyonun birincil amacı, kanserin tamamının vücuttan çıkarılmasıyla kanseri iyileştirmektir. Cerrahi operasyon sıklıkla önleyici, teşhis edici, evre belirleyici, hacim azaltıcı, hafifletirici, destekleyici ve onarıcı amaçlarla da kullanılır. Kanser ve kansere dönüşmesi olası hastalıkları tedavi etmek için birçok cerrahi yöntem türü mevcuttur ve yeni yöntemler için araştırılmaya devam edilmektedir. Bazı yaygın kanser cerrahisi türleri şunları içerir:

- Kriyocerrahi: Sıvı nitrojen veya argon gazı yardımıyla, sıklıkla cilt kanserleri veya kanser öncesi lezyonları tedavi etmek için kullanılan dondurma işlemidir (Gage ve Baust, 2007). Hızlı dondurma, yavaş çözündürme ve dondurma-çözme döngüsünün tekrarı kriyocerrahinin temel ilkeleridir (Gage ve Baust, 1998; Hoffmann ve Bischof, 2002). Kriyocerrahi, en sık cilt kanseri ve rahim ağzı kanserinde kullanılır. Tümörün vücudun içinde mi yoksa dışında mı olduğuna bağlı olarak, sıvı nitrojen cilde veya kriyoprob adı verilen bir alete (tümöre dokunacak şekilde vücuda yerleştirilen) yerleştirilir. Kriyocerrahi, çeşitli kanser türlerinin cerrahi tedavisi olarak değerlendirilmektedir.
- Elektrocerrahi: Yüksek frekanslı elektrik akımları uygulanarak dokuda termal hasar oluşturulmasıdır.
- Lazer cerrahisi: Çok küçük tümörleri, çevreleyen dokuya zarar vermeden çıkarmak, küçültmek veya yok etmek ve kanser hücrelerini öldürmek amacıyla kullanılan ilaçları etkinleştirmek için yüksek yoğunluktaki ışın demetlerini kullanır. Lazer cerrahisi, bir lazer ile lazer ışığını doku içine

taşıyan bir ortam kullanılarak gerçekleştirilir ve doku tarafından emilen ışığın ısıya dönüştürülmesiyle tümör dokusu tahrip edilir (Schena ve ark., 2017). Lazer cerrahisi cilt, serviks, rektum ve gırtlak dahil olmak üzere vücudun ulaşılması zor bölgelerini tedavi etmek için kullanılabilen çok hassas bir prosedürdür.

- Mohs cerrahisi: Göz çevresi gibi cildin hassas bölgelerinden kanseri çıkarmak ve kanserin ne kadar derine gittiğini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bu yöntem, kanserin bir neşter ile katman katman dikkatlice çıkarılmasını içerir. Bir katman çıkarıldıktan sonra mikroskop altında incelenerek tüm anormal hücreler çıkarılıncaya ve çevredeki doku kanser kanıtı göstermeyene kadar bu şekilde devam eder.
- Laparoskopik cerrahi: Vücut üzerinde tıbbi kesikler kullanılarak laparoskop (ışığı ve görüntüleme lensi olan ince tüp benzeri alet) yardımı ile karın veya pelviste uygulanan bir işlemdir. Dokunun monitorize edilmesi ile teşhis konmasını ve aynı zamanda tümörün çıkarılmasını sağlar.
- Robotik Cerrahi: Robotik cerrahi, robotik sistemler kullanılarak yapılan cerrahi işlem türleridir. Robot destekli cerrahi, önceden var olan minimal invaziv cerrahi prosedürlerin sınırlamalarının üstesinden gelmek ve açık cerrahi uygulamaları kolaylaştırmak için geliştirilmiştir. Ulaşılması zor tümörlerin çıkarılmasına yardımcı olmak, cerrahi operasyon sürelerini kısaltmak veya geleneksel cerrahi operasyona kıyasla hastalar için yan etkileri azaltmak için uygulanmaktadır.

1.5.2.2. Radyasyon tedavisi

Radyasyon tedavisi veya radyoterapi, genellikle kötü huylu tümörleri kontrol etmek veya öldürmek için iyonlaştırıcı radyasyon kullanan bir tedavi yöntemidir. Radyasyon tedavisi, vücudun bir bölgesine lokalize edilmişse, bazı kanser türlerinde iyileştirici olabilir. Aynı zamanda kötü huylu tümörü çıkarmak için yapılan cerrahi operasyondan sonra tümörün nüksetmesini önlemek adına yardımcı tedavi olarak da kullanılabilir.

İyonlaştırıcı radyasyon, radyasyon enerjisine bağılı olarak bir dizi moleküler olay yoluyla canlı dokulara zarar verir. Dokular %80 oranında su içerdiğinden en büyük radyasyon hasarı, radyasyonun su üzerindeki etkisiyle üretilen serbest radikallerden (OH , H , e^- , HO_2 , H_3O^+) kaynaklanmaktadır (Scholes, 1983). Bu serbest radikaller DNA, RNA, proteinler, membran vb. gibi hücresel makromoleküllerle reaksiyona girerek hücre fonksiyon bozukluğuna ve hücrenin ölümüne neden olur. Bu reaksiyonlar, normal hücrelerin yanı sıra radyasyona maruz kaldıklarında tümör hücrelerinde de gerçekleşir. Bir hücreye verilen radyasyon hasarı oksijen, sülfidril bileşikleri ve hücresel ortamdaki diğer moleküllerin varlığı gibi çeşitli faktörlere bağılı olarak güçlendirilir veya hafifletilir. Oksijen varlığında hidratlanmış elektronlar ve hidrojen atomları moleküler oksijen ile reaksiyona girerek diğer serbest radikallerden ayrı olarak HO_2 , O_2 gibi radikaller oluşturur. Hücresel genetik materyale yani DNA'ya verilen oksidatif hasar, mutagenез ve karsinogeneze önemli bir rol oynar. İyonlaştırıcı radyasyonun ürettiği yüksek reaktif oksijen radikalleri DNA'da hücre ölümüne ve mutasyonlara yol açan lezyonlara neden olur (Nair ve ark., 2001). Radyasyon yalnızca kanser hücrelerini öldürmek veya büyümesini yavaşlatmakla kalmaz, aynı zamanda yakındaki sağlıklı hücreleri de etkileyebilir. Sağlıklı hücrelere verilen zarar, yan etkilere neden olabilir. Bildirilen en yaygın yan etkiler yorgunluk ve hafif ila orta derecede güneş yanığı gibi oluşan cilt tahrişidir. Yorgunluk genellikle bir tedavi sürecinin ortasında başlar ve tedavi bittikten sonra haftalarca sürebilir. Radyasyon tedavisi sırasında hasar gören sağlıklı hücreler genellikle tedavi bittikten birkaç ay sonra iyileşir. Ancak bazen insanlarda iyileşmeyen yan etkileri olabilir. Diğer yan etkiler radyasyon tedavisi bittikten aylar veya yıllar sonra ortaya çıkabilir (geç yan etkiler). Radyasyonun yan etkilerini azaltmak için doz fraksiyonasyonu veya toplam radyasyon tedavisi dozunu birden fazla doza bölme ve maruziyet alanını azaltmak için kurşun bloklar kullanılabilir. Yan etkileri azaltmanın başka bir yoluda, radyoprotektif ilaçlar kullanmaktır. Ancak bunlar yalnızca vücudun belirli bölgelerine verilen belirli radyasyon türleri için kullanılır. Bu ilaçlar tedavi alanındaki bazı normal dokuları korumak için radyasyon tedavisi öncesinde verilir. Radyoprotektif ilaçların ana mekanizması radyasyona maruz kaldıktan sonra ortaya çıkarılan serbest radikalleri yakalayarak DNA hasarını azaltmak ve bunun yanında hasarlı DNA'yı onarmaktır.

1.5.2.3. İmmünoterapi

İmmünoterapi, bağışıklık sisteminin kanseri tedavi etmek için yapay olarak uyarılması, hastalıkla doğal mücadele yeteneğini geliştirmesidir. Tümör gelişimi sürecinde farklı genetik ve epigenetik mekanizmalar tarafından sürekli olarak çok sayıda yeni antije oluşumu teşvik edilir. Bağışıklık sistemi bu antijenleri tespit edebilir ve dönüştürülmüş hücreleri takip edip ortadan kaldırmak için humoral (sıvısal bağışıklık) ve hücresel yanıtları başlatabilir ve böylece tümör gelişimini inhibe edebilir (Burnet, 1970; Dunn ve ark., 2002). Normal işlevinin bir parçası olarak, bağışıklık sistemi vücuttaki anormal hücreleri tespit edip yok eder ve birçok kanser hücresinin büyümesini yavaşlatır veya engeller. Fakat kanser hücrelerinin bağışıklık sistemden kaçabildiği durumlar da vardır. Bu hücreler immün sistem tarafından fark edilmemesini sağlayacak genetik değişikliklere ve immün sistem hücrelerinin çalışmasını engelleyen proteinlere sahip olabilir veya çevrelerinde bulunan normal hücreleri değiştirerek immün sistemin vereceği cevaba müdahale etmelerini sağlayabilir (Gonzalez ve ark., 2018).

Kanseri tedavi etmek için çeşitli immünoterapi türleri kullanılır. Bunlar bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri, T hücre transfer tedavisi, monoklonal antikolar, tedavi aşılı ve bağışıklık sistemi modülatörleridir (Waldmann, 2003). Bağışıklık kontrol noktaları, T hücreleri olarak adlandırılan bağışıklık hücrelerinin yüzeyindeki proteinler, bazı tümör hücreleri gibi diğer hücrelerdeki ortak proteinleri tanıdığı ve bunlara bağlandığında devreye girer. Bu proteinler, bağışıklık kontrol noktası proteinleri olarak adlandırılır. Kontrol noktası ve ortak proteinler birbirine bağlandığında, T hücrelerinin inaktivasyonuna sebep olan bir sinyal gönderir. Bu, bağışıklık sisteminin kanseri yok etmesini önleyebilir. Bağışıklık kontrol noktası inhibitörleri ise kontrol noktası proteinlerinin ortak proteinlerine bağlanmasını bloke ederek çalışır. Bu, inaktivasyona sebep olan sinyalin gönderilmesini önleyerek T hücrelerinin kanser hücrelerini öldürmesine izin verir. T hücre transfer tedavisi vücutta bulunan T hücrelerinin vücuttan alınıp laboratuvar ortamında incelenerek veya değişiklikler yapılarak tekrar vücuda geri verilmesidir. Tümöre sızan lenfositler (veya TIL) tedavisi ve CAR T hücresi tedavisi, iki ana T hücresi transfer tedavisi türüdür.

Tümöre sızan lenfositler için vücuttan büyük miktarda örnek alınarak laboratuvar ortamında kanseri en iyi tanıyan lenfositler seçilir ve bu lenfositler çoğaltılıp vücuda verilir. CAR T hücresi tedavisinde ise T hücreleri laboratuvar ortamında değiştirilerek kimerik antijen reseptörü (CAR) üretilmesi sağlanır. Bu reseptörler T hücrelerinin kanser hücrelerinin yüzeyindeki belirli proteinlere bağlanmasına izin vererek kanser hücrelerine saldırma yeteneklerini geliştirecek şekilde tasarlanır.

Monoklonal antikorlar kanser hücrelerinde belirli hedeflere bağlanmak için tasarlanmış, laboratuvar ortamında oluşturulan bağışıklık sistemi proteinleridir. Bazı monoklonal antikorlar, kanser hücrelerini bağışıklık sistemi tarafından daha iyi görülmeleri ve yok edilmeleri için işaretler.

Tedavi aşılı, kanser hücrelerinin normal hücrelerde bulunmayan veya varsa daha düşük seviyelerde olan, tümörle ilişkili antijenler olarak adlandırılan maddeler içerirler. Tedavi aşılı, bağışıklık sisteminin bu antijenleri tanımayı ve bunlara tepki vermeyi öğrenmesine ve bunları içeren kanser hücrelerini yok etmesine yardımcı olabilir.

Bağışıklık modüle edici ajanlar, vücudun kansere karşı bağışıklık tepkisini artıran bir tür immünoterapi türüdür. İmmün modüle edici ajan türleri şunları içerir:

- Sitokinler: Beyaz kan hücreleri tarafından üretilen proteinlerdir. Vücudun normal bağışıklık yanıtlarında ve bağışıklık sisteminin kansere yanıt verme yeteneğinde önemli roller oynarlar.
- BCG (Bacillus Calmette-Guérin): Tüberküloza neden olan bakterinin zayıflamış bir şeklidir. İnsanlarda hastalığa neden olmaz. BCG, mesane kanserini tedavi etmek için kullanılır. BCG, bir kateter ile doğrudan mesaneye yerleştirildiğinde, kanser hücrelerine karşı bir bağışıklık tepkisine neden olur. Ayrıca diğer kanser türlerinde de çalışılmaktadır.
- İmmünomodülatör ilaçlar: Biyolojik yanıt değiştiricilerdir, bağışıklık sistemini uyarırlar.

1.5.2.4. Kemoterapi

Kemoterapi kanser hücrelerini öldürmek için ilaç kullanan bir kanser tedavisi türüdür ve hızla büyüyen, bölünen kanser hücrelerinin büyümesini durdurarak veya yavaşlatarak çalışır. Kemoterapide kullanılan antikanser ilaçlar, kan dolaşımı ile vücutta dolaşarak kanserin başladığı yerden uzak kısımlara yayılmış kanser hücrelerini öldürebilir (Blagosklonny, 2005). Bu sebeple kemoterapi sistemik bir tedavidir. Kemoterapide kullanılan ilaç türleri antimetabolitler, bitki alkaloidleri, antitümör antibiyotikleri, topoizomeraz inhibitörleri gibi DNA hasarı oluşturmada inhibe ederek sitotoksik etki gösteren ajanlar, tedavi ve tedavi sonucu oluşan yan etkilerden koruma amaçlı kullanılan hormonal ajanlar ve alkileyici ajanlardır (Huang ve ark., 2017).

Antimetabolitler, DNA moleküllerinde yapı taşları olarak doğal maddelerin yerini alır ve böylece hücre metabolizması ile protein sentezi için gerekli enzimlerin işlevini değiştirirler. Başka bir deyişle, hücrenin büyümesi için ihtiyaç duyduğu besinleri taklit ederek hücreyi onları tüketmesi için kandırırlar ve böylece kanser hücreleri en sonunda açlıktan ölür. Antimetabolitler hücre döngüsü spesifiktir (Avendaño ve Menéndez, 2015). Hücre bölünmesinin S-fazında en etkilidir, çünkü öncelikle yeni hücrelerin oluşumu için yeni DNA sentezine giren hücreler üzerinde etki ederler (Takimoto ve Calvo, 2008). Bu ilaçlarla ilişkili toksisiteler, hızla büyüyen ve bölünen hücrelerde görülür. Antimetabolitlerin örnekleri arasında pürin antagonistleri, pirimidin antagonistleri ve folat antagonistleri bulunur.

Bitki alkaloidleri bitkilerden türetilen antitümör ajanlardır. Bu ilaçlar, bir kanser hücresinin bölünme ve iki hücre olma yeteneğini bloke ederek spesifik olarak etki eder. Hücre döngüsü boyunca etki etmelerine rağmen, bazıları M fazında daha etkilidir (Himes, 1991) ve bu ilaçları hücre döngüsü spesifik hale getirir. Kemoterapide kullanılan bitki alkaloidlerinin örnekleri aktinomisin D, doksorubisin ve mitomisinidir. Antitümör antibiyotikler hücre döngüsü spesifik değildir ve DNA ile bağlanarak hücrenin hayatta kalması için gerekli olan proteinlerin oluşturulmasında önemli bir adım olan RNA sentezini önleyerek hareket ederler (Greifzu, 1996). Bakteriyel

enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan antibiyotiklerle aynı değildirler. Aksine, bu ilaçlar DNA'yı oluşturan genetik materyal ipliklerinin çözülmesine neden olarak (Nelson ve ark., 1984) hücrenin çoğalmasını engeller. Doksorubisin, mitoksantron ve bleomisin, antitümör antibiyotiklerin bazı örnekleridir.

Alkilleyici ajanlar kanser karşıtı ilk ilaçlar arasında yer almakta ve günümüzde kemoterapide en sık kullanılan ajanlardır. Alkile edici ajanlar doğrudan DNA üzerinde etki ederek DNA zincirlerinin çapraz bağlanmasına, anormal baz eşleşmesine ve DNA ipliği kırılmalarına neden olarak hücrenin bölünmesini önler (Goodman ve ark., 1975). Alkile edici ajanlar genel olarak hücre döngüsü spesifik olmayan olarak kabul edilir, yani hücre döngüsünün çeşitli ve çoklu fazlarında hücreyi öldürdükleri anlamına gelir (Wheeler ve Simpson-Herren, 1973). Alkilleyici ajanlar çoğu kanser türü için kullanılabilmesine rağmen, lösemi gibi genellikle yavaş büyüyen kanserlerin tedavisinde en büyük değere sahiptir (Ralhan ve Kaur, 2007). Alkile edici ajanlar, hızlı büyüyen hücreler üzerinde o kadar etkili değildir. Alkilleyici ajanların örnekleri arasında klorambusil, siklofosamid, tiotepa ve busulfan yer alır. Platin içeren antikanser ajanlar (karboplatin, sisplatin ve oksaliplatin) sıklıkla alkilleyici ajanlar olarak sınıflandırılrsa da değildirler. Bu ajanların bir alkil grubu yoktur, ancak yine de DNA'ya zarar verirler (Cruet-Hennequart ve ark., 2008). Başka yollarla kovalent DNA eklentilerine neden olurlar.

1.6. Sisplatin Kullanımı ve Muhtemel Toksik Etkileri

Kanser için yaygın olarak kullanılan birçok kemoterapi ilacı arasında sisplatin en ilgi uyandıran ilaçlardan biridir. 1978'de kanser tedavisi için FDA (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) onaylı ilk platin bileşiği olmuştur (Kelland, 2007). Bu, potansiyel antikanser ilaçlar olarak platin ve diğer metal içeren bileşiklere ilgi duyulmasına neden olmuştur (Frezza ve ark., 2010). Sisplatin kanser tedavisinde kullanılan en etkili antikanser ajanlarından biridir ve akciğer, baş-boyun, yumurtalık, testis gibi çeşitli kanserlerin tedavisi için kullanılır. Genelde sisplatin ve diğer platin bazlı bileşikler, DNA'ya zarar vererek, DNA sentezini ve mitozu inhibe ederek, apoptotik hücre ölümünü indükleyerek kanser hücrelerini öldüren sitotoksik ilaçlar olarak kabul edilir. Sisplatin

kemoterapisi hepatotoksisiteye, nefrotoksisiteye, ototoksisiteye, kardiyotoksisiteye, nörotoksisiteye sebep olmakla birlikte yaygın olarak kilo ve kas kaybını tetiklemektedir (Garcia ve ark., 2013). Özellikle, sisplatin ile tedavi edilen kanser hastalarında, esas olarak kas kaybına bağlı olarak, önemli bir vücut ağırlığı kaybı meydana gelmektedir. Kanserli hastalarda sisplatin uygulamasıyla ilişkili en yaygın semptomlar, esas olarak iskelet kası kütlelerinin tükenmesine bağlı kas güçsüzlüğü ve yorgunluktur (Fearon ve ark., 2011). Düşük dozlarda bile toksik olmasına rağmen sisplatin, çeşitli katı tümör tipleri için ilk seçenek tedavi olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, sisplatin kaynaklı kas kaybını iyileştirmek için daha etkili ve güvenli kemoterapötik yardımcı veya besin takviyeleri geliştirme gerekliliği çok önemlidir. Kas kütlelerini korumak, hastaların yaşam kalitesi üzerinde büyük bir etkiye sahip olabilir. Sisplatin kaynaklı kas disfonksiyonunun altında yatan moleküler yolların tanımı, yüksek terapötik potansiyele sahip hedeflerin belirlenmesi için esastır (Conte ve ark., 2020).

İskelet kası kütlesi kaybı, vücut yağının kaybı ve inflamasyonun varlığı ile karakterize kaşeksi olarak bilinen metabolik sendrom, kansere bağlı tüm ölümlerin %20'sinden fazlasından sorumludur (Chen ve ark., 2015). İskelet kası kütle kaybı ve bununla birlikte ortaya çıkan iştahta azalma, katabolizmada artış ve vücut ağırlığında azalma durumları tedavi sonucunun olumsuz olacağı düşüncesine yönelttiğinden ve artan ölüm oranları ile doğrudan ilişkili olduğundan klinik hastalar üzerinde negatif etki yaratmaktadır (Cooper ve ark., 2015). Bu durum için etkili farmakolojik tedavilere acilen ihtiyaç vardır. Kanser kaşeksisinin (besin takviyesi ve iştah uyarıcılar) tedavisine yönelik pek çok potansiyel terapötik yaklaşım olmasına rağmen, bu potansiyel tedavilerin birkaçı kanser hastalarında kas kaybının önlenmesi veya tedavisine doğrudan yöneliktir. Örneğin androjenler, potansiyel olarak kronik bozukluklarda ve kas kaybı gösteren kanser hastalarında kullanılabilecek moleküller olarak tanımlanmıştır, çünkü bu moleküller kas kütlelerini ve gücünü artırır. Androjenler çeşitli dokuların normal gelişimi için önemli olmalarına rağmen, belirli koşullar altında prostat, kalp ve karaciğer patolojisini de teşvik ederler. Dislipidemi, iyi huylu prostat hipertrofisi ve uterus hiper proliferasyonu gibi tedavi riskleri, kullanımını engellemektedir.

1.7. Seçici Androjen Reseptör Modölatörleri

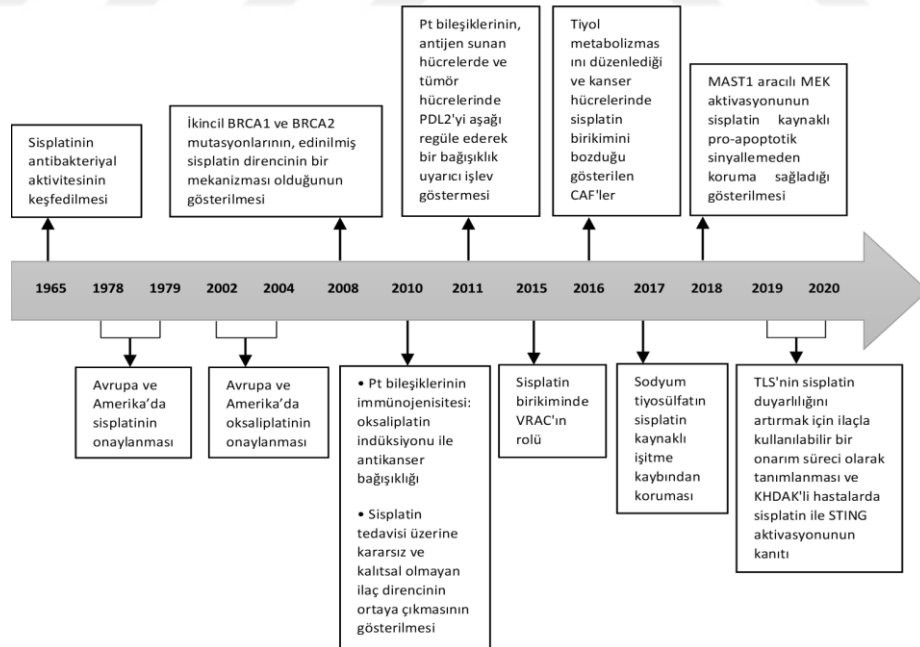
Seçici androjen reseptör modölatörleri (SARM) yeni bir androjen reseptör ligandı sınıfıdır ve sıklıkla yan etkileri olmadan kas kütlesinin ve fiziksel aktivitenin desteklenmesi için kullanılan takviye gıdalardandır (Narayanan ve ark., 2008). SARM'ler, androjen reseptörlerine bağlanan anabolik bileşiklerdir. Bunlar kanser, osteoporoz, cinsel işlev bozukluğu, multipl skleroz, alzheimer hastalığı ve kas kaybı için potansiyel tedaviler olarak incelenmiştir. Son zamanlarda, SARM'ler, fitness meraklılarına pazarlanan çeşitli takviyelere uyarlanmıştır. SARM'lerin endojen testosteronu düşürdüğü, kolesterol seviyelerini etkilediği ve karaciğer fonksiyonunu değiştirdiği bulunmuştur (Burmeister ve ark., 2020). Bu bağlamda, SARM'ler yağsız kas kütlesi oluşturma, yağ kesme, dayanıklılık ve iyileşme özellikleri nedeniyle performans artırıcı takviyeler olarak giderek daha popüler hale gelmiştir (Chen ve ark., 2005). Bununla birlikte, en büyük dezavantajları, kadınlarda karaciğer toksisitesi ve erkekleşme gibi ciddi yan etkilerdir. Ligandrol olarak da bilinen LGD-4033 bir SARM'dir. Mevcut en güçlü SARM'lardan biridir ve anabolik kas yapısının şiddetli artışı nedeniyle bireyler tarafından düzenli olarak kullanılır (Solomon ve ark., 2019). Bunu, anabolik steroid alırken ortaya çıkan yaygın yan etkileri göstermeden yapma kabiliyeti nedeniyle, ezici bir çoğunlukla popüler hale gelmiştir. Buna eşlik eden LGD-4033, insan klinik denemelerinden geçen ve çok etkileyici sonuçlar veren SARM'lerden biridir (Bhasin ve Jasuja, 2009). 3 hafta süresince 76 sağlıklı erkek üzerinde LGD 4033 ile yürütülen klinik bir çalışmada, doz artışına bağlı olarak (0.1, 0.3 ve 1 mg/gün) en yüksek dozlarda, yağsız vücut kütlesini yaklaşık 3 lbs arttırmış ve bacak basma gücünü ve merdiven tırmanma gücünü arttırdığı rapor edilmiştir (Basaria ve ark., 2013). Bununla birlikte herhangi bir yan etki görülmemiştir. Ligandrolün kas geliştirici etkilerine rağmen kanserogenez sürecinde mevcut ajanların yan etkilerine karşı çalışma bulunmamaktadır. Bu amaçla mevcut çalışmada, sisplatin ile uyarılmış kas düzensizliklerine karşı ligandrolün koruyucu etkileri olup olmadığının kapsamlı bir şekilde araştırılması amaçlanmaktadır.

BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÇALIŞMALARI

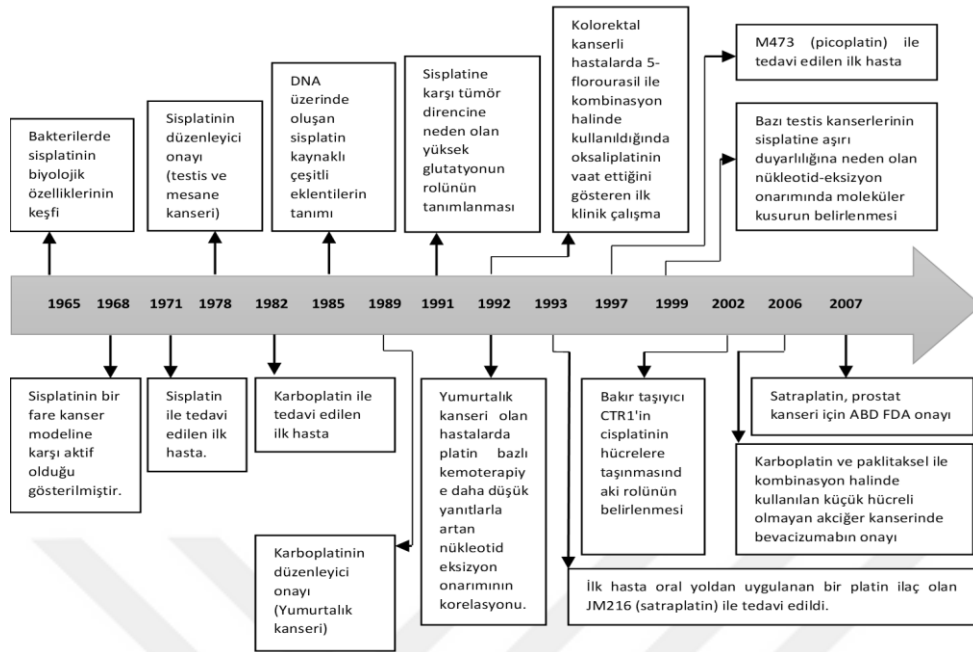
Kanser tedavisi, kanser hücrelerinin direnç kazanması ve tedavide kullanılan ilaçların yan etkileri nedeniyle günümüze kadar sağlık geliştiricileri farklı arayışlara yönlendirmiştir. Kanserın geçmişı bin yıl öncesine kadar dayanmaktadır. Kanserli hastaların tarihi bulguları, eski Mısır ve Yunan uygarlıklarına kadar uzanmaktadır (Sudhakar, 2009). Hastalık ağırlıklı olarak radikal cerrahi ve dağlama yöntemi ile tedavi edilmeye çalışılmış ve genellikle başarılı olunamamıştır. Yüzyıllar boyunca yapılan önemli keşifler, tümörlerin biyolojik ve patolojik özelliklerini anlamamızı sağlamış ancak 1800'lerin sonuna kadar etkili terapötik yaklaşımlar bulunamamıştır. Bu yılların sonunda X-ışınlarının keşfi ve (Röntgen, 1896) tümör tedavisinde kullanımı, tıbbi onkolojide ilk modern terapötik yaklaşım olmuştur. İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra, sitotoksik antitümör ilaçların keşfedilmesi (Papac, 2001) ve çeşitli hematolojik ve katı tümörlerin tedavisi için kemoterapinin doğması (Goodman ve ark., 1946; Gilman, 1963) ile gerçek bir atılım gerçekleşmiştir. Bu dönüm noktasından başlayarak, kanser tedavisinde yeni ilaçların kullanımına ilişkin çalışmalar katlanarak artmıştır. 80'lerin başında onkoloji ve farmakoloji alanındaki ikinci temel atılım, neoplastik süreçlerde yer alan bazı moleküler hedefler için spesifik ilaçların geliştirilmesine yönelik moleküler ve hücre biyoloji çalışmalarıdır. Hem kemoterapi hem de hedefe yönelik tedavi, bazen tam tümör iyileşmesini sağlayarak kanser hastalarının yaşam kalitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Üçüncü milenyumun başında, genetik mühendisliği çalışmaları sayesinde etkili tedavisi olmayan metastatik tümörlerin tedavisi için monoklonal antikorların ve immün kontrol noktası inhibitörlerinin tanıtılmasıyla klinik onkoloji ve farmakolojide daha fazla ilerleme sağlanmıştır.

Günümüzde kanser araştırmaları, kanser tedavisi için yeni terapötik yaklaşımların incelenmesi ve geliştirilmesini hedeflemektedir. şu anda birçok araştırmacı, klinik öncesi çalışmalarda umut verici sonuçlar gösteren hücre tedavileri, anti-tümör aşıları ve yeni biyoteknolojik ilaçların geliştirilmesine odaklanmıştır (Falzone ve ark., 2018).

Rosenberg ve ark., (1965) tarafından platin bileşiklerinin keşfi 1965'te sisplatin (birinci nesil) ile gerçekteşmiştir. Tedavide devrim yaratan karboplatin (ikinci nesil) ve oksaliplatin (üçüncü nesil) senteziyle daha geniş antitümör aktiviteleri ve nispeten daha az nefrotoksisiteleri sayesinde katı tümörün tedavisinde başarılı sonuçlar alınmıştır. Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) ileri testis kanseri olan hastaların denemeleri de dâhil olmak üzere, 1972'de kanser hastalarında sisplatin klinik denemelerini finanse etmeye başlamıştır. Bu başarılı denemelerin ışığında, FDA 1978'de testis kanseri tedavisi için sisplatini onaylamıştır. Tedavide platin ilaçlarının araştırma, geliştirme ve uygulamalarında önemli kilometre taşları şekil 2.1 (Rottenberg ve ark., 2021) ve şekil 2.2 (Kelland, 2007)'deki gibi verilmiştir.



şekil 2.1. Platin ilaç araştırmaları ve klinik uygulamada kilometre taşları (Rottenberg ve ark., 2021).



Şekil 2.2. Kanser tedavisi için platin ilaçların geliştirilmesinde kilometre taşları (Kelland, 2007).

1960'lar ve 1970'ler boyunca, klinik uygulamada farklı etki mekanizmalarına sahip çeşitli kemoterapötik ilaçların kullanıldığı yeni birleşik tedavi protokolleri önerilmeye başlanmıştır. Kombine kemoterapi veya antikanser polikemoterapisinin kullanımı, tümörlerin tedavisi için çığır açan bir dönüm noktası olmuştur. Tek kemoterapötik ajanların kullanımından daha fazla terapötik etkinlik elde edilmiştir. Özellikle farklı ilaçların kombinasyon tedavisinde daha yüksek bir doz ile daha fazla sayıda tümör hücrelerini öldürülmesi ve toksik etkisi olan ilacın arzu edilenden daha az dozda kullanılmasıyla muhtemel yan etkilerin azaltılması amaçlanmaktadır. Ayrıca, farklı genetik anormallikleri olan ilaçlar ve kanser hücreleri arasında daha geniş bir etkileşim aralığını garanti eder. Bunun yanında, sonraki ilaç direnci gelişimini önleyebilir veya yavaşlatabilir (Lilenbaum ve ark., 2005).

Sisplatin bazlı kemoterapi nefrotoksisite, ototoksisite, nörotoksisite, kardiyotoksisite, hepatoksisite ve kas kaybı gibi ciddi yan etkilerle ilişkilidir. Özellikle sisplatin ile tedavi edilen kanser hastalarında, esas olarak kas kaybına bağlı olarak, önemli vücut ağırlığı kaybı sıklıkla mevcuttur. Bu yan etkiler, hastaların yaşam kalitesini düşürür ve ilacın dozajını düşürmeyi, hatta uygulamayı durdurmayı gerektirir ve bu da tedavi

etkisini zayıflatır. Düşük dozlardaki toksisitesine rağmen sisplatin, çeşitli katı tümör tipleri için ilk seçenек tedavi olmaya devam etmektedir. Sisplatinin toksisitesi üzerine yapılan araştırmalarda kanser hücreleri üzerindeki etkinliğine rağmen yüksek dozda sisplatin kullanımının, benzer hücresel ve moleküler mekanizmaları paylaşan akut ve kümülatif renal ve kardiyak toksisitelerle sınırlı olduğu belirtilmiştir (Schrier ve ark., 2004; Yao ve ark., 2007; El-Awady ve ark., 2011; Shen ve ark., 2012). Bunun yanında, ototoksiste, nörotoksiste, gastrotoksiste gibi diğer yan etkiler ile miyelosupresyon, şiddetli bulantı ve emetik etkiler de bildirilmiştir (Hartmann ve Lipp, 2003; McWhinney ve ark., 2009; Brock ve ark., 2012). Sisplatinin yüksek doz kullanımında hastaların yaklaşık %30'unun şiddetli böbrek fonksiyon bozukluğu yaşadığı kaydedilmiş, sisplatin toksisitesinin doza bağlı olarak arttığı ortaya konmuştur (Shiraishi ve ark., 2000). Sisplatinin atrofik gen ekspresyonunu arttırıp, protein sentezi ve degradasyon yollarında dengesizliğe sebep olduğu ve bunun da kas atrofisine neden olduğu bildirilmiştir (Sakai ve ark., 2014). Sisplatin kemoterapisinde hastaların %40-%80'inin de kalıcı duyu hasarı meydana geldiği ortaya konmuştur (Breglio ve ark., 2017). Sisplatinin toksisitesini azaltmak ve etkinliğini arttırmak için farklı ilaçlar ile birçok kombinasyon tedavisi geliştirilmektedir. Mannitolün böbreklerdeki sisplatin konsantrasyonu azaltarak ile potansiyel nefroprotektif etkisi gösterdiği bulunmuştur (Hayes ve ark., 1977; Al-Sarraf ve ark., 1982). Tek başına veya furosemid ile kullanılan salinin, mannitole kıyasla daha iyi bir renal koruma sağlandığı bulunmuştur (Santoso ve ark., 2003). Hanigan ve ark., (2005) tarafından yapılan çalışmada salinin, sisplatinin sellüler akümülyasyonunu değıştirmedeği, hücreyi sisplatine karşı hassas hale getiren bir stres yanıtı oluşturduğu belirtilmiştir. Sisplatinin ototoksitesinden korunmak için tiyoller, adenosin, ebselen ve allopurinol kombinasyonu, sodyum bütirat ve salisilatlar yan etkileri azaltabilecek ve aynı zamanda sisplatinin antitümör aktivitesini arttırabilecek bileşenler olarak önerilmiştir (Rybak ve ark., 2007). Liao ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada çinko, fosfomisin, metiyonin, selenyum, sodyum tiyosülfat, N-asetil sistein ve taurin bileşiklerinin sisplatin hepatoksitesinde hayati önem taşımasa da yardımcı rol oynadığı öne sürülmüştür. Zhu ve ark., (2016) tarafından etoksikin; Üstün ve ark., (2018) tarafından timokinon bileşenlerinin sisplatin nörotoksitesine karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Ghrelin hormonunun sisplatin kaynaklı oluşan mekanik hiperaljezi ve kaşeksiyi önlediği

bildirilmiştir (Garcia ve ark., 2008). Magnololün gempitabin ve sisplatin veya gempitabin gibi kemoterapötik ilaçlarla kombine tedavisinin, geleneksel kemoterapi ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığı kaybını ve iskelet kası atrofisini belirgin şekilde hafiflettiği bulunmuştur (Chen ve ark., 2015). Kanser kaşeksinin önlenmesi ve tedavide istenmeyen yan etkilerin oluşmaması için SARM'ların kullanımı öne sürülmüştür (Narayanan ve ark., 2008). Tedavide güvenli kullanım vaadeden SARM'ların, kaşeksi, iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH), alzheimer, osteoporoz, hipogonadizm, meme kanseri ve prostat kanseri gibi birçok olası klinik uygulaması mevcuttur. SARM'ların kanser tedavisinde kullanımında umut verici birçok çalışma mevcuttur. Poutiainen ve arkadaşları, yeni bir SARM olan FL442'nin prostatta yüksek doku konsantrasyonlarına ulaştığını ve prostat kanseri hücre modellerinde enzalutamid (kastrasyona direnç gösteren prostat kanseri tedavisinde kullanılan antiandrojen) ile karşılaştırıldığında daha etkin bir şekilde androjen reseptör (AR) antagonisti olarak hareket ettiğini bulmuş; FL442'nin enzalutamide karşı direnci oluşturan AR mutasyonlu hücrelerde bile hücre poliferasyonunu önleme yeteneğini devam ettirdiğini belirtmişlerdir (Poutiainen ve ark., 2014). Schmidt ve ark., (2014) AR- ve AR+ prostat dışı kanser hücrelerini korurken, androjenden bağımsız AR pozitif prostat kanseri hücre hatlarında Kaspaz-3 aktivitesini ve apoptozu indükleyen MK-4541 üzerine çalışma yapmıştır. SARM'ların aynı zamanda prostat kanserinde doku hedefli görüntülemeye olası kullanımı öne sürülmüştür (Schmidt ve ark., 2010). Narayanan ve ark., (2014), meme kanseri üzerine yapmış oldukları çalışmada SARM'ların sadece kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını engelleme değil, aynı zamanda epitelyal mezenşimal kök hücre etkileşimini, doku istilasını ve metastazı inhibe ettiğini göstermiştir. Benzer olarak testolonun meme kanserindeki etkinliği üzerine yapılan çalışmada kanser hücrelerinin büyümesinin engellendiği, DNA replikasyonu ve hücre döngüsü ile ilgili genlerin baskılandığı bulunmuştur (Yu ve ark., 2017). Evans ve ark., (2007) tarafından yapılan çalışmada androjenik yan etki göstermeden sağlıklı yaşlı erkeklerde ve yaşlı kadınlarda yağsız vücut kütlelerini ve fiziksel performansını iyileştiren ostarinin kanser kaşeksisinde kullanımı potansiyeli ortaya çıkarılmıştır. Benzer olarak enobosarmın istenmeyen yan etkiler olmadan kas kütlelerini artırarak kansere bağlı kas kaybının önlenmesi ve tedavisi için potansiyel koruyucu bir ajan olduğu ortaya konmuştur (Dalton ve ark., 2011; Dobs ve ark., 2013). Ligandrol

kullanım güvenilirliği, tolere edilebilirliği, kas kütlesi ve gücünde önemli kazançlar sağlaması nedeniyle kanser kaşeksisi tedavisinde ilgi çeken SARM'lerden biri olmuştur (Basaria ve ark., 2013). Bir seçici androjen reseptör modölatörü; gonadotropin salıverici hormon (LHRH) analogları, geri dönüşümlü antiandrojenler, antiöstrojenler, antikanser ilaçlar, 5 α -redüktaz inhibitörleri, aromataz inhibitörleri, progestinler, diğer nükleer hormon reseptörleri yoluyla etki eden ajanlar, seçici östrojen modölatörleri (SERM)'ler, progesteron, östrojen, fosfodiesteraz 5 (PDE5) inhibitörleri, apomorfın, bisfosfonat ve bir veya daha fazla SARM ile kombinasyon şeklinde kullanılabilmektedir (Ralhan ve Kaur, 2007). Gao ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada, 5 α -redüktaz inhibitörü finasterid ve antiandrojen hidroksiflutamid kullanımının SARM'nin doku seçici özelliğini arttırdığı bildirilmiştir. Liva ve ark., (2020) yapmış oldukları çalışmada, tedavide inefektif olan enobosarmın histon deasetilaz inhibitörü (HDACi) ile kombinasyonunda antikaşeksik etkisinin arttığı bulunmuştur.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi

Sitotoksik aktivite fare kas hücre (C2C12) (ATCC®CRL-1772™) hatlarında 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) yöntemi ile belirlendi (Güner ve ark., 2020). 1×10^5 hücre/mL konsantrasyondaki hücreler 96 gözlü hücre kültürü kaplarına 100'er μL 'lik hacimlerde ekildi (1×10^4 hücre/kuyucuk). Bu hücreler, 24 saat 37°C 'de, %85 nem ve %5 CO_2 içeren inkübatörde inkübe edilerek 24 saat sonra üzerlerindeki ortamlar uzaklaştırıldı, yerlerine farklı konsantrasyonda hücre kültürü ortamında dilüe edilmiş sisplatin (10 μM konsantrasyonda) ve ligandrol (0,5; 5; 50 mg/L konsantrasyonlarda) eklendi. Hücre canlılığı, inkübasyonun 48. saatinde 5 g/L konsantrasyonda MTT (30 μL /kuyucuk) solüsyonu eklenerek 4 saat boyunca 37°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, NAD^+ 'ın NADH ve H^+ 'a indirgenmesini katalizlemektedir. Reaksiyonun ikinci basamağında diyaforaz, tetrazolyum tuzunun (INT) renkli bir bileşen olan formazana indirgenmesini katalizlemek amacıyla yeni meydana gelen NADH ve 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. Hücre Döngüsü Analizi

1×10^4 hücre/mL konsantrasyonundaki C2C12 hücreleri 24 saatliğine 6 kuyucuklu plakalara ekildi ve sisplatinin $10 \mu M$ 'lik konsantrasyonu, ligandrolün 0,5; 5; 50 mg/L konsantrasyonları ve bunların kombinasyonları ile 24 saat boyunca muamele edildi. Hücre döngüsü fazı, üreticinin talimatlarına göre Muse™ Cell Cycle Assay Kit (Merck Millipore, Germany) ile belirlendi. Kısaca, hücreler fosfat tamponlu tuz çözeltisi ile tripsinize edildi ve %70 soğuk etanol ile fikse edildi. Muse™ Cell Cycle reaktifi, elde edilen hücre pelletine ilave edilerek 30 dakika inkübe edildi. Hücrelerin G0/G1, S ve

G2/M evrelerindeki yüzdeleri, Muse™ Cell Cycle analizörü (Merck Millipore, Almanya) tarafından hesaplandı.

3.6. DNA Fragmentasyonunun Belirlenmesi

DNA fragmentasyonu, üreticinin talimatlarına göre Cell Death Detection Kiti (Sigma Aldrich, İngiltere) ile belirlendi. Hücreler (1×10^5 hücre/kuyucuk) 96 kuyucuklu bir plakaya eklendi ve daha sonra hücreler, 72 saat boyunca sisplatin ($10 \mu\text{M}$) ve ligandrolün farklı konsantrasyonlarına (0,5; 5; 50 mg/L) 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-etilbenzotiazolin sülfonat) diamonyum tuzu ilave edildi ve absorbanlar bir ELISA okuyucu kullanılarak 405 nm'de ölçüldü.

3.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu

Kaspaz 3/7 ekspresyonu, Kaspaz-Glo 3/7 Testi (Promega) ile belirlendi. Hücreler 1×10^5 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 mL) ilave edildi ve lüminesans 10 dakikalık bir inkübasyondan sonra ölçüldü.

3.8. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehitin (MDA) seviyelerini belirleyen tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçüldü (Türkez ve ark., 2014). 1 mL'lik hücre lizatına 2 mL'lik TBA karışımı (%0,375 TBA, %15 trikloroasetik asit, 2 N hidroklorik asit) eklendi. Çözelti 20 dakika boyunca su banyosunda ısıtıldı ve ardından 10 dakika boyunca 1000xg'de santrifüjlendi. N-butanol fazında oluşan rengin absorbanı, ELISA okuyucu (BMG Labtech) kullanılarak 532 nm'de ölçüldü.

3.9. İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonu

İntrasellüler kalsiyum konsantrasyonu, Güner ve İlhan (2020)'nin metodunun hafif bir modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. C2C12 hücreleri 37 °C'de sisplatinin 10 µM'lik konsantrasyonu; ligandrolün 0,5; 5; 50 mg/L konsantrasyonları ve bunların kombinasyonları ile muamele edildi. 24 saat sonra hücreler PBS ile yıkandı, çözeltiye 3 mL ultra yüksek saflıkta nitrik asit ilave edildi, çözelti berrak ve renksiz olana kadar ısıtma plakasında buharlaştırıldı. Daha sonra hücreler %0,2 nitrik asit içinde yeniden süspanse edilerek kalsiyum içeriği indüktif eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) ile hesaplandı. Kontrol, işlem görmemiş örnekleri temsil etmektedir. Hücre içi kalsiyum seviyeleri ng/10⁶ hücre olarak ifade edilmiştir.

3.10. HET-CAM İrritasyon Denemesi

Ligandrol, sisplatin ve bunların kombinasyonlarının anjiyojenik/antianjiyojenik potansiyeli, döllenmiş tavuk yumurtalarında koryoallantoik membran modeli (CAM) ile Güner ve ark., (2019a) uyguladığı prosedüre adapte edildi. 50-60 gr ağırlığındaki Ligorin (Leghorn) tavuk yumurtaları ticari kaynaklardan (Giresun, Türkiye) satın alındı. Döllenmiş tavuk yumurtaları, 7 gün boyunca 37±1°C'de ve %80±2 nem oranında, konveyör döndürme sistemine sahip inkübatöre yerleştirildi. 7. günde yumurtalar sivri uçlu taraftaki bir delikten çekilerek açılıp yuvarlak bir kabuk parçası (3-4 cm çapında) pens ile dikkatlice çıkarıldı. Daha sonra iç membran pens ile kan damarlarına zarar vermeden dikkatlice uzaklaştırıldı. Bu aşamadan sonra yumurtalar 6 gruba ayrıldı: Grup I negatif kontrol olarak DMSO; Grup II pozitif kontrol olarak suramin; Grup III-V 10, 20 ve 40 mg/L ligandrol konsantrasyonları; Grup VI 10 mM sisplatin konsantrasyonu; Grup VII-IX 10 mM ligandrol+sisplatin, 20 mM ligandrol+sisplatin, 10 mM ligandrol + sisplatin. Örnekler bir Whatman filtre kağıdına koyulup CAM uygulandı ve inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda irritasyon etkisi, stereomikroskop altında skorlama tablosunu takiben incelendi. Skorlama şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\text{Iritasyon skoru} = [(301-h) \times 5]/300 + [(301-l) \times 7]/300 + [(301-c) \times 9]/300$$

Burada, h (hemoraji); vasküler kanamanın meydana geldiği zamandır, l (lisis); ilk vasküler parçalanmanın meydana geldiği zamandır ve c (koagülasyon); vasküler pıhtılaşmanın ilk meydana geldiği zamandır. IS'ye göre tahriş sınıflandırması: < 0,9 tahriş edici olmayan; 1-4,9 hafif tahriş; 5-8,9; orta derecede tahriş ve 9-21 şiddetli tahriş edici etki.

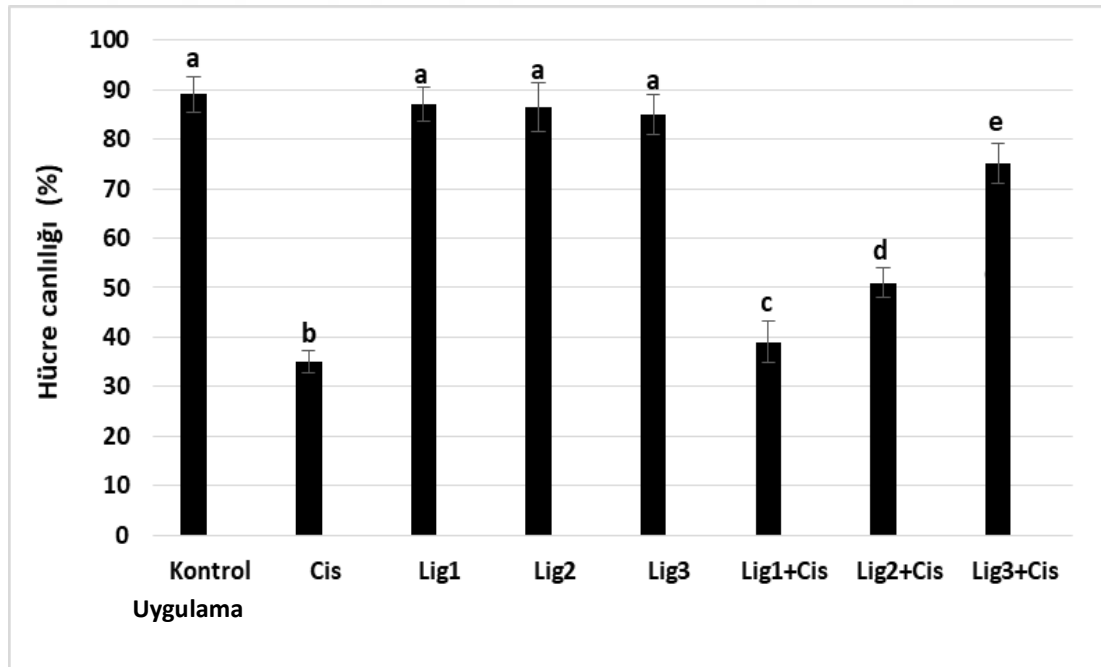
3.11. İstatistiksel Analiz

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)

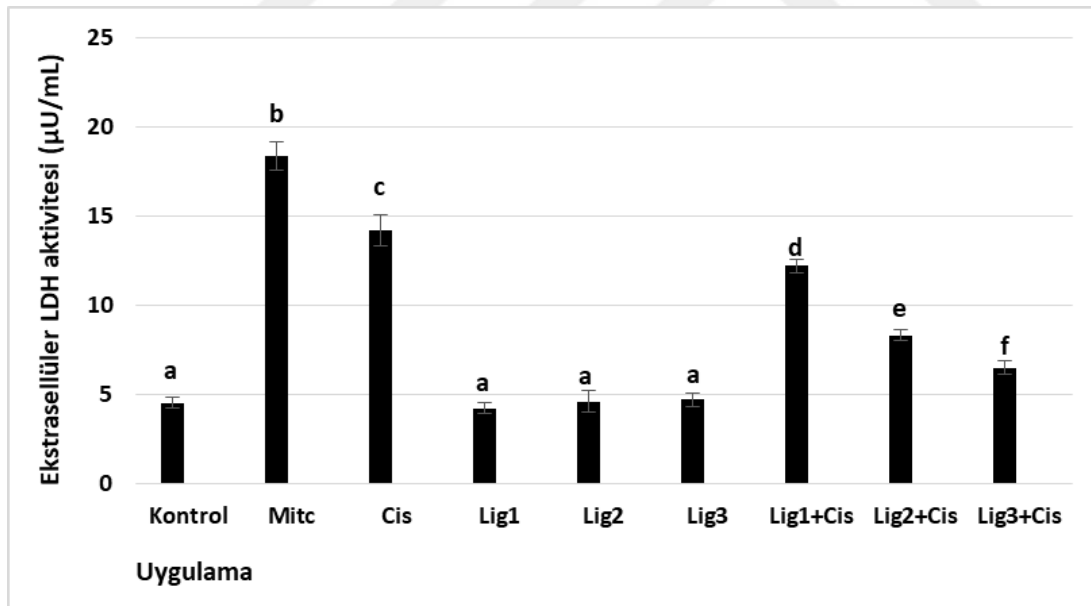
Sisplatinin hücre üzerinde sitotoksik etkisi ve kas hücrelerinin canlılık düzeyinin ölçülmesi için sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu kullanılmıştır. Sisplatin ile muamele edilen hücrelerin canlılık düzeyinin, kontroldeki canlılık düzeyine göre 2,54 oranında, önemli derecede azalttığı ($p<0,05$) bulunmuştur. Ligandrol uygulamaları en yüksek konsantrasyonlarda bile canlılık seviyelerinde anlamlı bir değişime yol açmamıştır. Ligandrol ile sisplatinin kombinasyon uygulamaları sisplatine kıyasla doz artışına bağlı olarak sırasıyla 1,1; 1,45; 2,14 oranlarında önemli derecede ($p<0,05$) arttırmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonlarının hücre canlılığına etkisi (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

4.2. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Salınımı Analizi

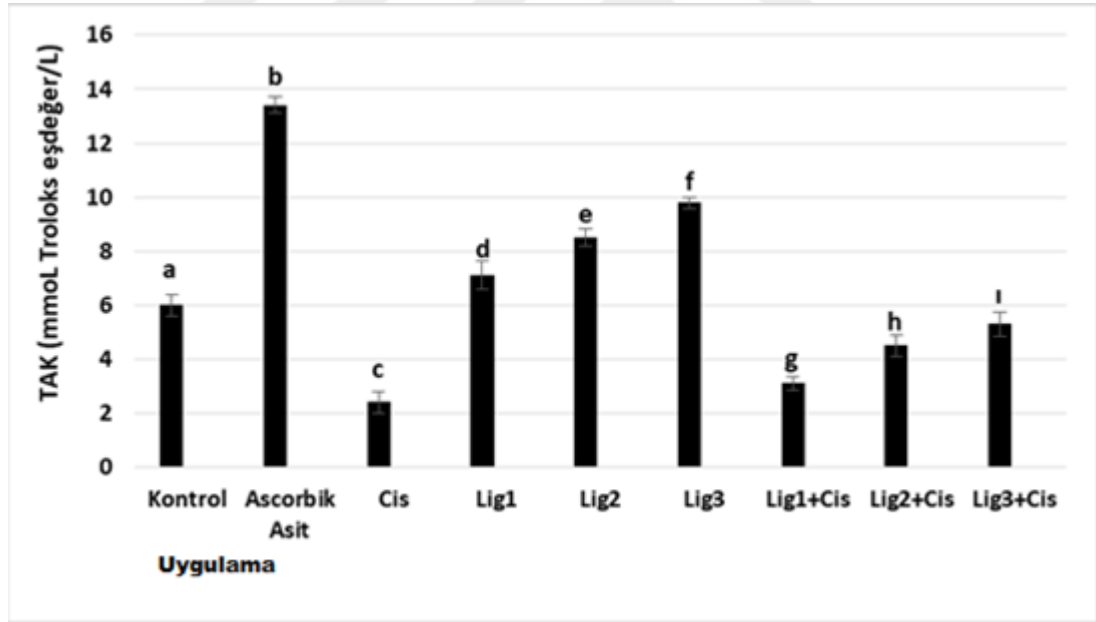
Sisplatinin yol açtığı sitotoksik etki sonucu hücrelerin veya dokunun canlılığını yitirmesiyle birlikte salınan LDH aktivitesi ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak mitomisin-C kullanımının, hücrelerden salınan LDH'ın aktivitesini 4,1 oranında önemli derecede arttırdığı ($p<0,05$) bulunmuştur. Sisplatin kullanımında aktivite, kontrole göre 3,15 oranında önemli derecede arttırırken ($p<0,05$), ligandrol uygulaması LDH aktivitelerinde değişime yol açmamıştır. Sisplatin ve ligandrol kombinasyonunda ise konsantrasyon artışına bağlı olarak ekstrasellüler LDH aktivitesi giderek azalmış ve neredeyse kontrole yakınlaşmıştır. Artan ligandrol konsantrasyonu ile LDH aktivitesi sisplatine göre sırasıyla 1,16; 1,71 ve 2,18 oranında önemli derecede ($p<0,05$) azalmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Mitomisin-C, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan ekstrasellüler LDH'ın aktivitesi (cis: sisplatin, lig: ligandrol, 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

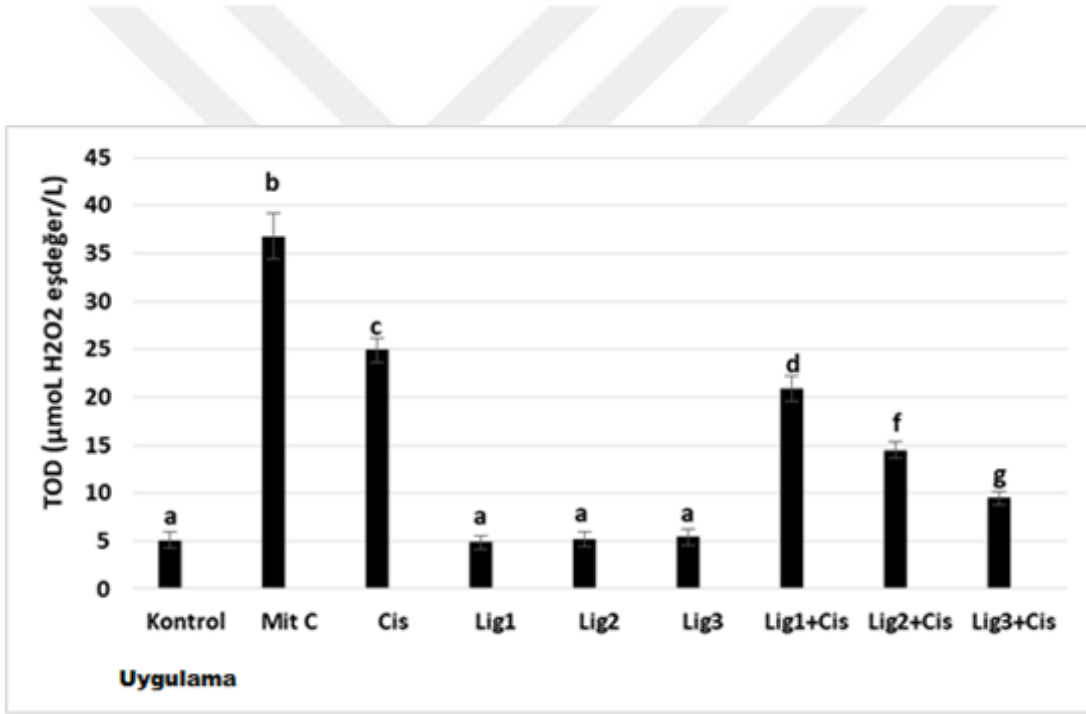
Sisplatin, ligandrol ve bunların bir kombinasyonu ile muamele sonucu hücre ortamında bulunan total antioksidan miktarı ölçülmüştür (Şekil 4.3). Kontrole göre total antioksidan miktarı askorbik asit ile muamelede 2,23 oranında önemli derecede artarken ($p<0,05$), sisplatin ile muamelede 2,5 oranında önemli derecede azalmış ($p<0,05$), ligandrol kullanımında artan konsantrasyon ile 1,2; 1,4 ve 1,6 oranında önemli derecede artmıştır ($p<0,05$). Sisplatinin ligandrol ile kullanımında ise total antioksidan kapasitesinin neredeyse kontrole yakınlığı bulunmuştur. Artan ligandrol konsantrasyonları ile total antioksidan miktarında sisplatine kıyasla sırasıyla 1,3; 1,87 ve 2,2 oranında artış meydana gelmiştir.



Şekil 4.3. Hücrelerin askorbik asit, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total antioksidan miktarı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). 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

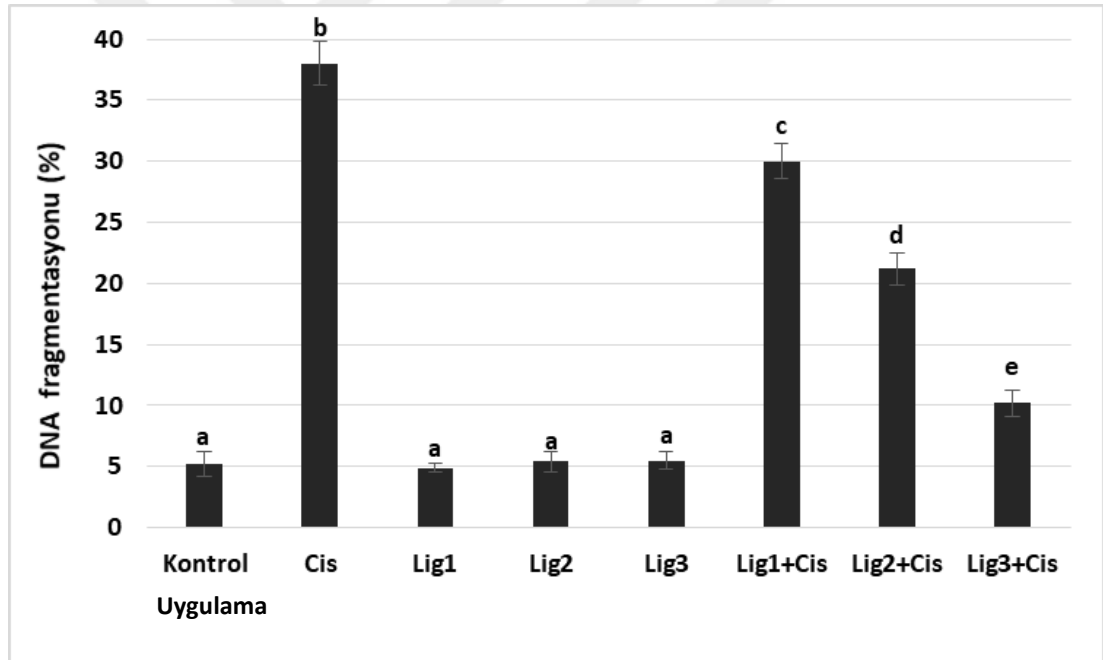
TOD seviyelerine bakıldığında, kontrolle kıyaslandığında mitomisin-C ve sisplatin uygulamaları sırasıyla 7,1 ve 4,9 oranlarında önemli derecede arttırmıştır ($p<0,05$) (Şekil 4.4). Ligandrolün en yüksek konsantrasyonları total oksidan seviyelerde herhangi bir değişime neden olmamıştır. Sisplatin ile ligandrolün kombinasyonunda ise artan ligandrol konsantrasyonları ile total oksidan durumunda sisplatin uygulamalarına göre sırasıyla 1,19; 1,71 ve 2,62 oranında önemli derecede ($p<0,05$) azalmaya yol açmıştır.



Şekil 4.4. Hücrelerin mitomisin-C, sisplatin, ligandrol ve sisplatin ile ligandrolün kombinasyonu ile muamele edilmesiyle ortaya çıkan total oksidan durumu (cis: sisplatin, lig: ligandrol, 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

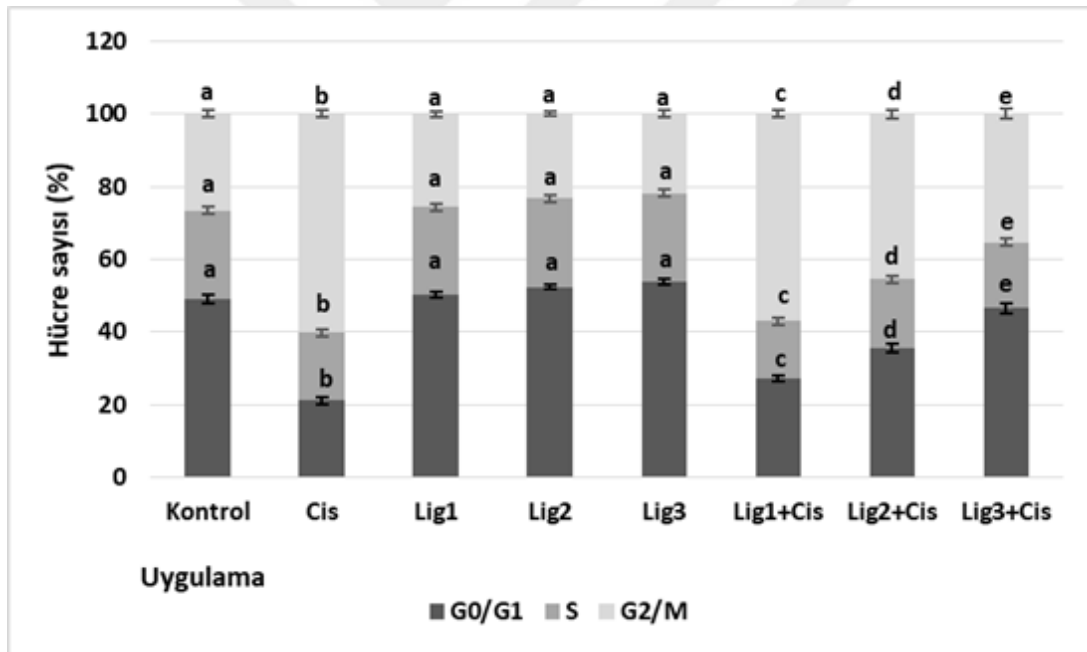
Kanser tedavisinde sisplatin kullanımı DNA zincirlerinin ayrılmasına veya kırılmasına sebep olur. Herhangi bir işlem görmemiş kontrole göre DNA fragmentasyonu, sisplatin kullanımında 7,3 oranında önemli derecede ($p<0,05$) artmıştır. Ligandrolün farklı konsantrasyonlarının DNA fragmentasyon oranında herhangi bir değişime yol açmazken, sisplatin ile kullanımda artan ligandrol konsantrasyonuna bağlı olarak DNA fragmentasyonu sisplatine kıyasla sırasıyla 1,26; 1,79 ve 3,72 oranında önemli derecede ($p<0,05$) azalmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde DNA fragmentasyon oranı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

4.6. Hücre Döngüsü Analizi

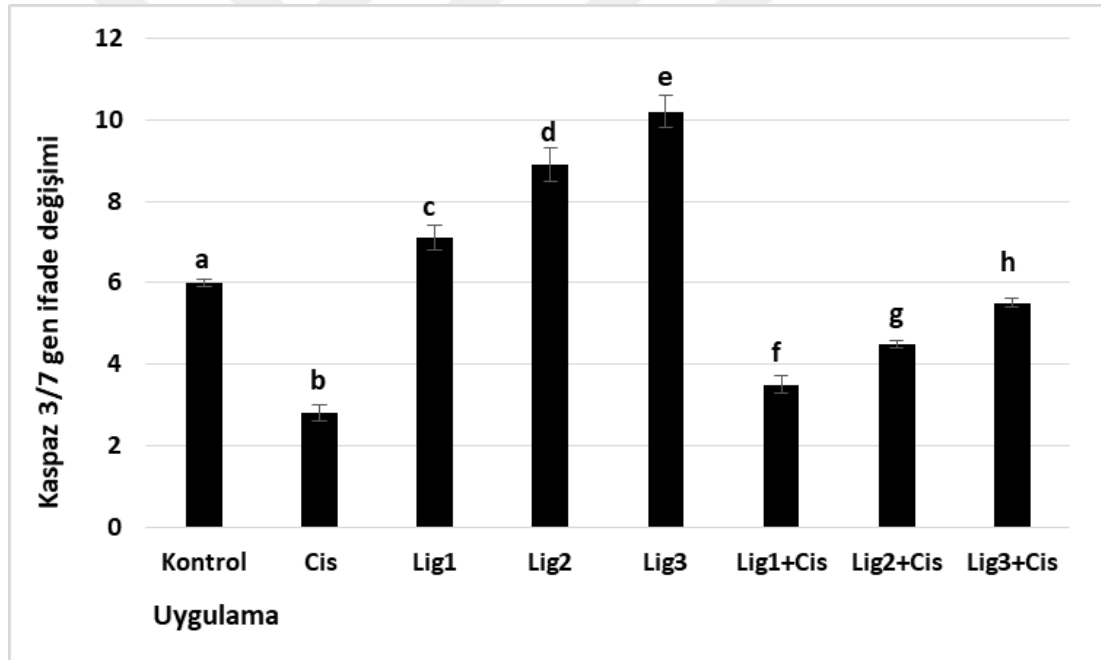
Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile uygulamaları sonrası hücre döngüsü analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.6). Sisplatin uygulamaları kontrole kıyasla G0/G1 fazındaki hücre sayısını 2,32 oranında önemli derecede ($p<0,05$) azaltırken, G2/M fazındaki hücre sayısını, kontrole kıyasla 2,5 kat arttırmıştır ($p<0,05$). Ligandrol ile muamelede bu fazlardaki hücre sayıları önemli bir değişikliğe uğramamıştır. Sisplatin ile ligandrolün artan konsantrasyonlarının kombinasyon uygulamaları ile G0/G1 fazındaki hücre sayısı, sisplatine kıyasla sırasıyla 1,28; 1,68 ve 2,2 oranında önemli derecede ($p<0,05$) artarken, G2/M fazındaki hücre sayısı ise 1,05; 1,32 ve 1,7 oranında önemli derecede azaltmıştır ($p<0,05$).



Şekil 4.6. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edildiğinde G0/G1, S ve G2 evrelerindeki hücre sayısı (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

4.7. Kaspaz 3/7 Ekspresyonu

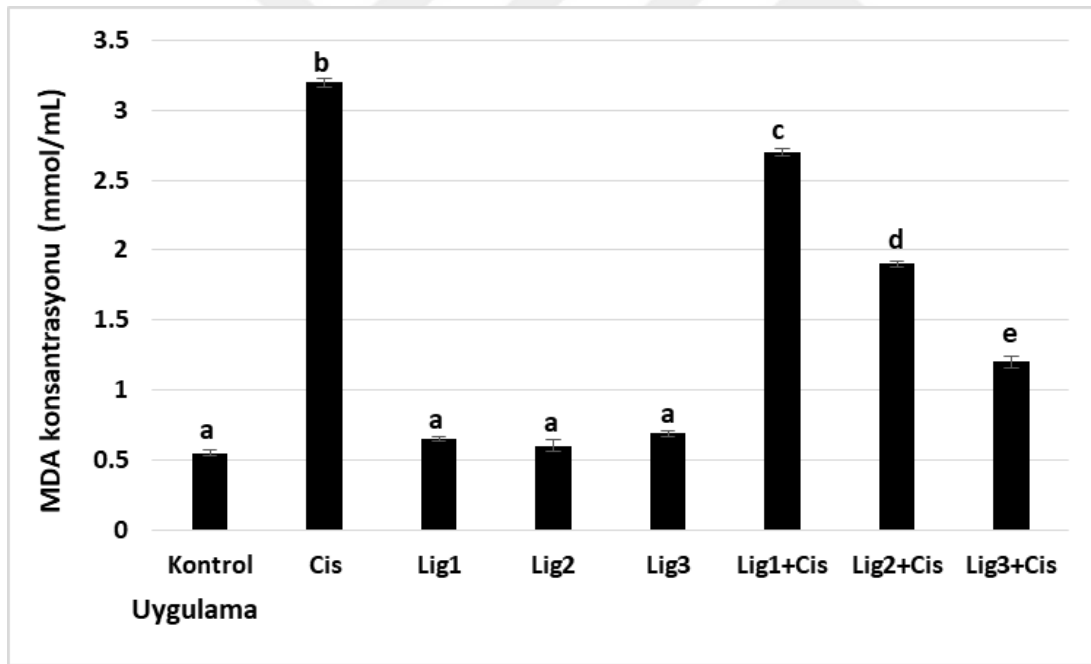
Kaspaz 3/7 ekspresyon değişimi incelendiğinde sisplatin ile muamelede değer kontrole göre 2,14 oranında azalırken, ligandrol ile muamelede artan konstantrasyona bağlı olarak sırasıyla 1,18; 1,48 ve 1,7 oranında önemli derecede ($p<0,05$) artmıştır. Sisplatin ve ligandrolün kombinasyonunda ligandrolün konsantrasyon artışına bağlı olarak değer kontrole yaklaşmış ve sisplatine kıyasla Kaspaz 3/7 ekspresyonunda sırasıyla 1,25; 1,6 ve 1,96 oranında önemli derecede ($p<0,05$) artış meydana gelmiştir (şekil 4.7).



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

4.8. Lipid Peroksidasyonu

Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile uygulamada lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan son ürün malondialdehit (MDA) konsantrasyonunun değişimi ise Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Sisplatin ile muamelede MDA konsantrasyonu kontrole göre 5,8 oranında önemli derecede ($p<0,05$) artarken, ligandrol ile muamelede kontrole kıyasla önemli bir değişim gözlenmemiştir. Sisplatinin ligandrol ile kombinasyonunda, artan ligandrol seviyesine bağlı olarak MDA konsantrasyonu sisplatine kıyasla sırasıyla 1,18; 1,68 ve 2,6 oranında önemli derecede ($p<0,05$) azaltmıştır.



Şekil 4.8. Hücrelerin sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilmesiyle malondialdehit (MDA) seviyelerinin değişimi (cis: sisplatin, lig: ligandrol). Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

4.9. İntrasellüler Kalsiyum Konsantrasyonu

Tablo 4.1’de gösterildiği üzere hücre içi kalsiyum salınımı sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamelede en yüksek değer sisplatin ile muamelede elde edilmiştir. Ligandrolün tek başına hücre içi kalsiyum salınımına etkisi kontrol ile karşılaştırıldığında önemli bir değişime neden olmazken, sisplatin ile kombinasyonunda artan ligandrol konsantrasyonuna bağlı olarak sisplatine göre anlamlı derecede düşüşler ($p<0,05$) gözlenmiştir.

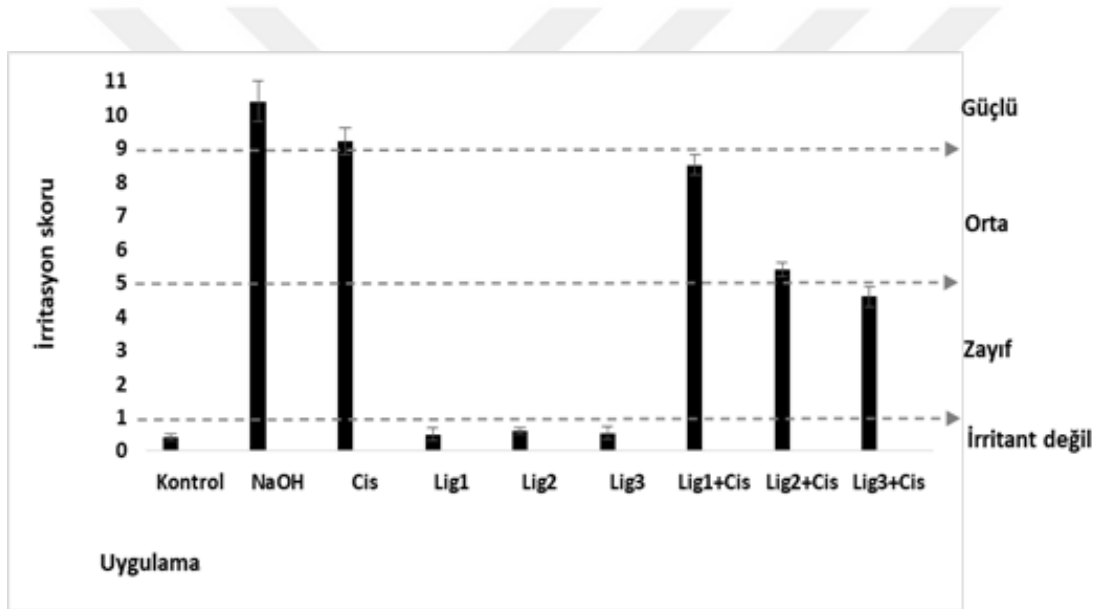
Tablo 4.1. Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerden salınan hücre içi kalsiyum konsantrasyonu.

Uygulama	İntrasellüler kalsiyum konsantrasyonu (ng/10 ⁶ hücre)
Kontrol	8,78 ± 0,78 ^a
Cis	13,14 ± 1,21 ^b
Lig1	8,75 ± 0,8 ^a
Lig2	8,81 ± 0,85
Lig3	8,83 ± 0,93 ^a
Lig1+Cis	12,54 ± 1,2 ^c
Lig2+Cis	11,64± 1,05 ^d
Lig3+Cis	10,26 ± 1,02 ^e

Farklı harflerle (a, b, c, d, e) gösterilen barlar $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir.

4.10. HET-CAM İrritasyon Denemesi

Sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonunun antianjiyojenik etkileri araştırılmıştır (Şekil 4.9). Herhangi bir işlem görmemiş hücrelerde ve ligandrol ile muamele edilen CAM yüzeyinde irritasyona neden olmamıştır. Sisplatin ile muamelede bu etki güçlüyken, ligandrol ile kombinasyonunda artan ligandrol konsantrasyonuna bağlı olarak 0,5 ve 5 mg/L orta irritasyon etki gözlenirken, sisplatinin ligandrolün 50 mg/L konsantrasyonu ile kombinasyonu zayıf irritant etkilere neden olmuştur.



Şekil 4.9. Hücrelerin sisplatin, ligandrol ve kombinasyonlarının muamele edilmesiyle oluşan irritasyon skoru (cis: sisplatin, lig: ligandrol)

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sisplatin lösemi, lenfoma, meme, testis, yumurtalık, baş ve boyun, rahim ağzı kanserleri ve sarkomlar gibi çeşitli malignite teşhisi konan hastalarda birinci basamak kemoterapi tedavisi için kullanılmaktadır (Loehrer ve Einhorn, 1984). Sisplatin ve diğer platin bazlı bileşikler DNA sentezini ve mitozu inhibe ederek ve apoptotik hücre ölümünü indükleyerek kanser hücrelerini öldüren sitotoksik ilaçlardır. Bununla birlikte sisplatin kemoterapisi hepatotoksik, nefrotoksik, kardiyotoksik, nörotoksik ve hematotoksik önemli yan etkilerle de ilişkilidir (Schlaeffer ve ark., 1983; Berliner ve ark., 1990). Sisplatin tedavisinde karşılaşılan en yaygın yan etkilerden biri kas toksisitesidir. Bu yan etkileri en aza indirmek, ilaç direncini önlemek ve bu tedavileri geliştirebilmek için SARM'ler ile tedavi önerilmiştir (Narayanan ve ark., 2008). Yapılan bu çalışmada kanser tedavisinde kullanılan ve kemoterapötik bir antikanser ajanı olan sisplatinin, kas üzerindeki sitotoksik etkisi ve yol açtığı toksisitenin en aza indirilebilmesi için kullanılan ligandrolün yarattığı etkiler araştırılmıştır.

Sisplatin hücreye girdiği anda aktive olur. Sitoplazmada sisplatin üzerindeki klorür atomlarının yerini su molekülleri alır. Bu hidrolize ürün, proteinler üzerindeki sülfhidril grupları ve nükleik asitler üzerindeki nitrojen donör atomları dâhil olmak üzere herhangi bir nükleofille reaksiyona girebilen güçlü bir elektrofildir. Sisplatin, pürin kalıntıları üzerindeki N7 reaktif merkezine bağlanır. Bu nedenle kanser hücrelerinde deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına, hücre bölünmesinin blokesine ve sonuç olarak apoptotik hücre ölümüne neden olur (Dasari ve Bernard Tchounwou, 2014). Mevcut çalışmada, sisplatinin tek başına kullanımı hücre canlılığını önemli derecede inhibe ettiği görülmüştür. Kaslarda, doku seçici aktiviteyle androjen reseptörleri bağlayarak anabolik etkiyi arttıran ligandrolün (Flores ve ark., 2020) tek başına kullanımında hücre canlılığını neredeyse etkilemediği; sisplatin ile kombinasyonunda artan ligandrol konsantrasyonu ile hücre canlılığı oranını, sisplatinin tek başına kullanımında gerçekleşen duruma göre önemli derecede arttırdığı

bulunmuştur. Roch ve ark., (2020) yapmış olduğu çalışmada, ligandrolün kas hücreleri üzerinde nispeten düşük riskli bir profil çizerek kas kütlesini arttırdığı; kas lifleri üzerinde hipertrofik bir etkiye sahip olmadığı; kas vaskülarizasyonunu ve kas enzimlerinin aktivitesi arttırarak iyileşmeye yardımcı olduğu bulunmuştur fakat ligandrolün yüksek dozlarının, seçiciliği azalttığı ve bu sebeple kullanımda doza dikkat edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Ligandrolün sağlıklı hücelere zarar vermeden kas yapısını koruduğu bizim çalışmamız ile de desteklenmektedir.

Hücresin enerji metabolizmasında yer alan LDH, hücre yıkımı veya hasarlanması ya da doku hasarlanması ile hücre dışına salınır. Bu çalışmada, sisplatin ile muamele sonucunda ekstrasellüler LDH aktivitesi, kontrole göre önemli oranda artmıştır. Bu durum, sisplatinin kardiyotoksik etkisini işaret etmektedir (Demkow ve Stelmaszczyk-Emmel, 2013). Tek başına ligandrolün en yüksek konsantrasyonda bile ekstrasellüler LDH aktivitesini etkilemediği bulunmuştur. Sisplatinin, artan konsantrasyona sahip ligandrol ile kullanımında ise ekstrasellüler LDH aktivitesinin giderek doğal hücre ortamındaki seviyelerine yaklaştığı tespit edilmiştir. Bu durum ligandrolün hücre membran defektlerini koruyup LDH aktivitelerini inhibe ederek sitotoksiteyi engellediğini düşündürmüştür.

Oksidatif stres, sisplatin toksisitesinde rol oynayan en önemli mekanizmalardan biridir. Normal fizyolojik koşullar altında hücrelerde reaktif oksijen türlerinin yapımı ve yıkımı arasında bir denge vardır. Ancak eksojen ve endojen kaynaklar tarafından uyarılan aşırı reaktif oksijen türleri hücrel proteinlere, lipidlere ve DNA'ya zarar verebilir ve bu da hücrelerde karsinogeneze katkıda bulunan ölümcül lezyonlara yol açabilir (Ames, 1983). Kanser hücreleri kısmen onkogenik uyarılma, artan metabolik aktivite ve mitokondriyal işlev bozukluğu nedeniyle normal hücelere göre daha fazla reaktif oksijen türü stresi sergiler (Storz, 2005). Sisplatin, DNA hasarının yanı sıra hücre ölümünü tetikleyen reaktif oksijen türlerini de indükler. Reaktif oksijen türlerinin üretimiyle artan oksidatif stres ise antioksidan savunma sisteminde azalmaya neden olur (Kart ve ark., 2010). Çalışma sonuçlarında görüldüğü üzere sisplatin ile muamelede toplam antioksidan kapasitesinin kontrole göre azaldığı bulunmuştur. Waly ve ark., (2011) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada sisplatinin ortamdaki

reaktif oksijen türlerinin toksik özelliklerinden koruyan glutasyon miktarında ve total antioksidan kapasitesinde azalmaya yol açtığı, böylece oksidatif stresi arttırdığı bulunmuştur. Total antioksidan kapasitesi için elde edilen sonuçların tam tersi şekilde, sisplatin ile muamelede toplam oksidan seviyesinin kontrole göre ciddi oranda arttığı gözlemlenmiştir. Sisplatin kaynaklı nefrotoksisite sonucu ortamdaki total antioksidan ve total oksidan durumunun incelendiği bir çalışmada oksidatif stresi engelleyen total tiyol ile glutasyon miktarındaki azalma ile total antioksidan miktarında bir azalma ve antioksidan sisteminde bir hasar olduğunun belirteçleri total antioksidan kapasitesinde, oksidatif stres indeksinde ve MDA seviyelerinde artma meydana geldiği bulunmuştur (Verma ve ark., 2016). Ligandrolün tek başına kullanımında, artan konstantrasyon ile total antioksidan kapasitesi artış gösterse de total oksidan durumu üzerinde neredeyse etkisi bulunmamaktadır. Ligandrol, sisplatin ile kullanımında artan konstantrasyon ile sisplatinin TAK üzerindeki etkisini azaltmakta, normale yakınlaştırmaktadır. Kombinasyonları ile muamelede total oksidan durumu, artan ligandrol konsantrasyonu ile azalmaktadır. Bu veriler, serbest oksidan radikallerin artışıyla müsküler toksisiteye yol açan sisplatin bu etkileri, antioksidan etkili ligandrolün oksidatif radikalleri süpürerek oksidatif strese karşı kas hücrelerini koruduğunu göstermiştir.

Kemoterapötik ajanlar, reaktif oksijen türlerinin üretimine ve oksidatif strese yol açarlar. Dolayısıyla oksidan/antioksidan durum arasında dengesizliğe neden olurlar. Serbest radikal üretimi ile antioksidan savunma aktivitesi arasındaki herhangi bir dengesizlik, DNA parçalanmasına neden olur (Phaniendra ve ark., 2015). Sisplatin ile muamele edilen kas hücrelerinde, DNA fragmentasyonunun kontrole göre çok yüksek oranda arttığı bulunmuştur. Ligandrolün tek başına kullanımında bu durum değişmezken veya çok az değişirken, sisplatin ile kombinasyonunda sisplatinin sitotoksik etkisini azaltarak DNA fragmentasyonunun normal seviyeye yaklaşmasını sağlamıştır. Burada ligandrol serbest radikalleri baskılayarak DNA materyalindeki muhtemel zararları engellediği ve sisplatinin negatif etkilerini normalleştirdiği ortaya konulmuştur. Wozniak ve ark., (2004), sisplatinin DNA ile çapraz bağların indüksiyonunun yanı sıra normal ve kanser hücrelerinde serbest radikal kaynaklı DNA fragmentasyonunu tetikleyebileceğini, serbest radikal yakalayıcılarının kombinasyonu ile kemoterapötik tedavilerin modifikasyonunun mümkün olduğunu öne sürmüştür. Bu

sonuçlar ligandrolün koruyucu etkisinin hem serbest radikalleri süpürücü hemde antioksidan enzimleri destekleyicisi olarak görev gördüğünü düşündürmüştür.

DNA hasar gördükten sonra hücre döngüsü kontrol noktaları aktive olur fakat bu süreçte hücre döngüsünü bloke edici ajanlar, hücrelerin onarılmasını veya apoptozise sürüklenmesini engelleyerek DNA hasarlarının artışı üzerinden toksik etkilere neden olmaktadır. Sisplatinin sitotoksik etkisi ile ortaya çıkan hücre hasarının G1 (büyüme) kontrol noktasında belirlenmesi ile S evresine geçiş gecikmiştir. Bu sebeple sisplatin, ligandrol ve bunların kombinasyonu ile muamelede bu evreye geçiş geciktiğinden S evresindeki hücre sayısı değişmemiş veya çok az değişmiştir. Yine G1 kontrol noktasında belirlenen hasar ile hücreler direkt olarak döngüde iken ya da G0 evresine geçerek apoptoza uğratılmıştır. G2 evresinde akümüle olan hücreler ise bu fazda ilaç direnci geliştirildiğini göstermektedir. Velma ve ark., (2016) tarafından promiyelositik lösemi hücrelerinin sisplatin ile indüklenmiş gen değişiklikleri, hücre döngüsü ve apoptozu üzerine yapılan çalışmada hücrelerin önce G1 öncesi (sentez), S ve G2 fazında akümüle olmaya başladıkları; deney süresi ve sisplatin dozu arttıkça G0/G1 fazındaki hücrelerinde sayısında azalma olduğu ve G1 öncesi, S ve G2 fazında akümüle olan hücrelerin sayısının arttığı bildirilmiştir. Bu çalışma, sisplatinin toksik etkisine dair elde etmiş olduğumuz sonuçlara benzerdir. Mevcut çalışmamızda ligandrol, sisplatinin DNA'ya verdiği hasara zıt olarak artan konsantrasyonu ile hücre döngüsünün devamını sağlamaktadır. G2/M kontrol noktasında hücrelerin apoptoza uğraması ligandrol ile muhtemeldir.

Kaspaz aktivasyonu, apoptozun başlangıcındaki anahtar adımdır. Plazma membran ölüm reseptörlerini aktive eden (kaspaz 8) ve mitokondriyal disfonksiyona neden olanlar (kaspaz 9) da dâhil olmak üzere birçok uyarıcı, kaspazları aktive eder. Kaspazlar apoptozun başlatıcıları veya uygulayıcılarıdır. Başlatıcı kaspazları, kaspaz 8 ve 9'u içerir. Bu kaspazların aktivasyonu, aşağı düzenleme veya kaspaz 3 ve 7 gibi kaspazların aktivasyonu ile sonuçlanır. 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). Kaspaz aktivasyonunun hatalı

olması ve apoptozun yeterli derecede gerçekleşmemesi tümör oluşumuna sebep olacağı gibi aşırı aktivasyonu ve ortaya çıkan aşırı hücre ölümü, nörodejeneratif koşulları teşvik edebilir (McIlwain ve ark., 2013). Bu sebeple aktive edilmiş bir kaspazın, inaktif zimojen haline dönüştürülebilmesi gerekmektedir. Mevcut çalışmada, kas hücrelerinin sisplatin ile muamelesi, kaspas 3/7 ekspresyonu seviyesini düşürmüştür. Bu gen ekspresyonlarındaki azalışlar hücrelerin apoptoza uğramasını engellemektedir. Güner ve ark., (2019b) kanser hücreleri üzerine yaptığı çalışmada, kaspas bağımsız yollardaki genetik değişikliklerin apoptik hücre ölümünde hayati bir rol taşıdığı ortaya konmuştur. Ligandrolün artan konsantrasyonları ile sisplatin kombinasyon uygulamalarında kaspas 3/7 ekspresyonunda sisplatine kıyasla önemli derecede artışlar tespit edilmiştir. Bu durum sisplatinin neden olduğu gen ekspresyonlarındaki inhibisyonların ligandrol ile normale yakın artışlar sergileyerek hücrelerin apoptoza sürüklenmesiyle açıklanabilir.

Lipid homeostazi, enerji metabolizmasında ve vücut ağırlığı kontrolünde kritik bir rol oynar. Kanser genellikle yağ metabolizmasının değişmesine neden olur ancak yağ atrofisini indükleyen, lipolizi ve lipid oksidasyonunu arttıran, lipojenezde azalmaya yol açan sisplatin gibi kemoterapötik ajanlar bunu daha da kötüleştirir (Conte ve ark., 2020). Oksidatif stres ile indüklenen lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA konsantrasyonunun, sisplatin ile muamele sonucunda kontrole göre arttığı bulunmuştur. Benzer olarak sisplatin kaynaklı akut böbrek hasarı üzerine yapılan bir çalışmada, sisplatinin oksidatif DNA hasarına yol açarak lipid peroksidasyonu yoluyla ortamdaki MDA konsantrasyonunun arttırdığı bulunmuş ve alınan sonuçlara göre sisplatinin oksidatif strese yol açtığı belirtilmiştir (Soni ve ark., 2018). Ligandrolün konsantrasyon artışına bağlı olarak sisplatin ile kombinasyonu MDA konsantrasyonu önemli derecede azalmıştır. Bu durum, serbest reaktif oksijen türlerinin ligandrol tarafından ortamdaki uzaklaştırılmasıyla hücrelerin oksidatif stresten korunduğunu, hücre yapısının bozulmasının engellendiğini göstermektedir.

Düşük hücre içi klorür iyon konsantrasyonları altında sisplatin, çeşitli yüklü reaktif türlere hidrolize olmaktadır. Bu hidrolize sisplatin formları, normal sisplatinden çok daha reaktif olmak üzere oksidatif fosforilasyonu durdurarak mitokondriyal solunumun

inhibisyonu yoluyla etki göstermektedir (Aggarwal, 1993). Bu durum mitokondriden bir kalsiyum akışına ve dolayısıyla normal kalsiyum homeostazında ve hücre fonksiyonunun bozulmasına yol açarak kalsiyum seviyelerinde önemli bir artışa neden olur. Bunun yanında hücre hasarı veya yıkımında da kalsiyum seviyelerinde artış gerçekleşir. Bu çalışmada, sisplatinin sitotoksik etkileri sonucu hücre hasara uğrayarak hücrelerarası kalsiyum salınımı artmıştır. Kawai ve arkadaşlarının sisplatin kaynaklı böbrek hücreleri hasarında intrasellüler kalsiyum ve oksijen radikalleri arasındaki ilişki üzerine yaptığı çalışmada, hücre hasarına bağlı olarak $[Ca^{+2}]$ ve LDH salınımının artması ile serbest oksijen radikalleri seviyesinde artış gözlenmiştir; sisplatinin NADPH oksidaz yolu ile serbest radikal üretimini arttırmak için intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Kawai ve ark., 2006). Ligandrol intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunun çok az bir etkiye sahipken sisplatin ile kombinasyonunda artan ligandrol konsantrasyonu ile sisplatinin yarattığı etkiyi normale yakın bir seviyede koruduğu görülmüştür. Bu durum sisplatin kaynaklı membran defektlerinin ligandrol ile önemli derecede engellenerek hücre için iyon dengesinin sağlanmasıyla gerçekleştiğini düşündürmüştür.

Kanser tedavisinde sisplatinin yan etkilerinden birisi antianjiyogenik aktivite göstererek damar oluşumunu inhibe etmesidir. Fakat sisplatin uygulamalarında sadece kanserli dokular etkilenmemekte, normal hücre gelişimi de olumsuz etkilenmektedir. HET-CAM yöntemi, bir kimyasal maddenin potansiyel tahriş edici etkilerini gösteren başarılı bir araçtır ve oküler toksisite, ilaç uygulamaları, doku mühendisliği ve anjiyo/antianjiyogenik aktivitelerde yaygın olarak tercih edilir (Kishore ve ark., 2008). Mevcut araştırmamızda sisplatin uygulamaları CAM yüzeyinde şiddetli irritant etkiler gösterirken, artan konsantrasyonlara bağlı ligandrol ile kombine uygulamaları sonucunda bu durum önemli oranda iyileştirilerek zayıf irritasyon etkiler sergilemiştir. Bu durum sisplatinin neden olduğu kasın disfonksiyonu ya da toksisitesinde önemli bir yer tutan antianjiyogenik aktivitelerin ligandrol ile önemli derecede telafi edilerek kasın fonksiyonuna önemli katkılar sunduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda, sisplatinin kas hücrelerinde moleküler düzeyde sitotoksik etkilerini ve ligandrolün bu etkilere yönelik koruyucu etkileri ilkk defa ortaya konmuştur. Özellikle sisplatinin neden olduğu oksidatif stres aracılığıyla membran zararlarında, DNA kırıklarında, hücre içi kalsiyumların yüksek oranda salınımında, hücre döngüsü bozulmalarında, lipid peroksidaz artışlarında ve apoptotik gen ekspresyonunda azalışlara neden olmuştur. Bununla birlikte, sisplatinin ligandrol ile kombinasyon uygulamaları sisplatinin neden olduğu oksidatif stres artışları, DNA fragmentasyonu, MDA üretimi, hücre döngüsü bozuklukları ve kas irritasyonlarını önemli ölçüde inhibe ederek sisplatinin toksisitesini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Aynı zamanda, tek başına ligandrol uygulamaları herhangi bir toksisiteye yol açmayıp kas hücrelerinde antioksidan seviyeleri arttırmıştır. Bu bilgiler ışığında, ligandrolün sağlıklı hücre üzerinde toksik etkilerinin olmadığı göz önüne alındığında, ligandrolün sisplatin ile uyarılan kas toksisitesine karşı potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceği bu çalışma ile ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- 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.
- Al-Sarraf, M., Fletcher, W., Oishi, N., Pugh, R., Hewlett, J.S., Balducci, L., McCracken, J., Padilla, F. 1982. Cisplatin hydration with and without mannitol diuresis in refractory disseminated malignant melanoma: A southwest oncology group study. *Cancer Treatment Reports*, 66(1), 31–35.
- Ames, B.N. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221(4617), 1256–1264.
- 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.
- Avendaño, C., Menéndez, J.C. 2015. *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs: Second Edition*. In *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs: Second Edition*.
- Basaria, S., Collins, L., Dillon, E.L., Orwoll, K., Storer, T.W., Miciek, R., Ulloor, J., Zhang, A., Eder, R., Zientek, H., Gordon, G., Kazmi, S., Sheffield-Moore, M., Bhasin, S. 2013. The safety, pharmacokinetics, and effects of LGD-4033, a novel nonsteroidal oral, selective androgen receptor modulator, in healthy young men. *Journals of Gerontology-Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 68(1), 87–95.
- 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.
- 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.
- Berliner, S., Rahima, M., Sidi, Y., Teplitsky, Y., Zohar, Y., Nussbaum, B., Pinkhas, J. 1990. Acute coronary events following cisplatin-based chemotherapy. *Cancer Investigation*, 8(6), 583–586.
- 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.
- Bhasin, S., Jasuja, R. 2009. Selective androgen receptor modulators as function promoting therapies. In *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 12(3), 232-240.

- Blagosklonny, M.V. 2005. How Avastin potentiates chemotherapeutic drugs: Action and reaction in antiangiogenic therapy. In *Cancer Biology and Therapy*, 4(12), 1307–1310.
- Boffetta, P., Hashibe, M., La Vecchia, C., Zatonski, W., Rehm, J. 2006. The burden of cancer attributable to alcohol drinking. *International Journal of Cancer*, 119(4), 884–887.
- Breglio, A.M., Rusheen, A.E., Shide, E.D., Fernandez, K.A., Spielbauer, K.K., McLachlin, K.M., Hall, M.D., Amable, L., Cunningham, L.L. 2017. Cisplatin is retained in the cochlea indefinitely following chemotherapy. *Nature Communications*, 8:1654, 1-9.
- Brock, P.R., Knight, K.R., Freyer, D.R., Campbell, K.C.M., Steyger, P.S., Blakley, B. W., Rassekh, S.R., Chang, K.W., Fligor, B.J., Rajput, K., Sullivan, M., Neuwelt, E.A. 2012. Platinum-induced ototoxicity in children: A consensus review on mechanisms, predisposition, and protection, including a new International Society of Pediatric Oncology Boston ototoxicity scale. In *Journal of Clinical Oncology* 30(9), 2408–2417.
- Burmeister, M.A., Fincher, T.K., Graham, W.H. 2020. Recreational use of selective androgen receptor modulators. *U.S. Pharmacist*, 45(6), 15–18.
- Burnet, F.M. 1970. The concept of immunological surveillance. In *Progress in experimental tumor research. Fortschritte der experimentellen Tumorforschung. Progres de la recherche experimentale des tumeurs*, 13, 1–27.
- Carbone, A. 2020. Cancer classification at the crossroads. *Cancers*, 12(4), 980, 1-6.
- Cedar, H., Bergman, Y. 2009. Linking DNA methylation and histone modification: Patterns and paradigms. In *Nature Reviews Genetics*, 10(5), 295–304.
- Chen, J., Kim, J., Dalton, J.T. 2005. Discovery and therapeutic promise of selective androgen receptor modulators. In *Molecular Interventions*, 5(3), 173–188.
- Chen, M.C., Chen, Y.L., Lee, C.F., Hung, C.H., Chou, T.C. 2015. Supplementation of magnolol attenuates skeletal muscle atrophy in bladder cancer-bearing mice undergoing chemotherapy via suppression of FoxO3 activation and induction of IGF-1. *PLoS ONE*, 10(11).
- Conte, E., Bresciani, E., Rizzi, L., Cappellari, O., De Luca, A., Torsello, A., Liantonio, A. 2020. Cisplatin-induced skeletal muscle dysfunction: Mechanisms and counteracting therapeutic strategies. In *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1242, 1-19.
- Cooper, C., Burden, S.T., Cheng, H., Molassiotis, A. 2015. Understanding and managing cancer-related weight loss and anorexia: Insights from a systematic review of qualitative research. In *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 6(1), 99–111.
- 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

- η -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.
- Dalton, J.T., Barnette, K.G., Bohl, C.E., Hancock, M.L., Rodriguez, D., Dodson, S.T., Morton, R.A., Steiner, M.S. 2011. The selective androgen receptor modulator GTx-024 (enobosarm) improves lean body mass and physical function in healthy elderly men and postmenopausal women: Results of a double-blind, placebo-controlled phase II trial. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2(3), 153–161.
- Dasari, S., Bernard Tchounwou, P. 2014. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. In *European Journal of Pharmacology*, 740, 364–378.
- De Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D., Plummer, M. 2012. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: A review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, 13(6), 607–615.
- Demkow, U., Stelmaszczyk-Emmel, A. 2013. Cardiotoxicity of cisplatin-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients. In *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 187(1), 64–67.
- Dobs, A.S., Boccia, R.V., Croot, C.C., Gabrail, N.Y., Dalton, J.T., Hancock, M.L., Johnston, M.A., Steiner, M.S. 2013. Effects of enobosarm on muscle wasting and physical function in patients with cancer: A double-blind, randomised controlled phase 2 trial. *The Lancet Oncology*, 14(4), 335–345.
- Dunn, G.P., Bruce, A.T., Ikeda, H., Old, L.J., Schreiber, R.D. 2002. Cancer immunoediting: From immunosurveillance to tumor escape. In *Nature Immunology*, 3(11), 991–998.
- 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., Zaubler, 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-Awady, E.S.E., Moustafa, Y.M., Abo-Elmatty, D.M., Radwan, A. 2011. Cisplatin-induced cardiotoxicity: Mechanisms and cardioprotective strategies. *European Journal of Pharmacology*, 650(1), 335–341.
- Evans, W., Smith, M.R., Morley, J.E., Barnette, K.G., Rodriguez, D., Steiner, M.S., Dalton, J.T. 2007. Ostarine increases lean body mass and improves physical performance in healthy elderly subjects: Implications for cancer cachexia patients. *Journal of Clinical Oncology*, 25(18), 9119–9119.

- Falzone, L., Salomone, S., Libra, M. 2018. Evolution of cancer pharmacological treatments at the turn of the third millennium. In *Frontiers in Pharmacology*, 9(1300), 1-26.
- Fearon, K., Strasser, F., Anker, S.D., Bosaeus, I., Bruera, E., Fainsinger, R.L., Jatoi, A., Loprinzi, C., MacDonald, N., Mantovani, G., Davis, M., Muscaritoli, M., Ottery, F., Radbruch, L., Ravasco, P., Walsh, D., Wilcock, A., Kaasa, S., Baracos, V.E. 2011. Definition and classification of cancer cachexia: An international consensus. In *The Lancet Oncology*, 12(5), 489–495.
- Flores, J.E., Chitturi, S., Walker, S. 2020. Drug-Induced Liver Injury by Selective Androgenic Receptor Modulators. *Hepatology Communications*, 4(3), 450–452.
- Forouzanfar, M.H., Afshin, A., Alexander, L.T., Biryukov, S., Brauer, M., Cercy, K., Charlson, F.J., Cohen, A.J., Dandona, L., Estep, K., Ferrari, A.J., Frostad, J.J., Fullman, N., Godwin, W.W., Griswold, M., Hay, S.I., Kyu, H.H., Larson, H.J., Lim, S.S., Zhu, J. 2016. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1659–1724.
- Frank, S.A. 2007. Dynamics of Cancer. Incidence, Inheritance, and Evolution. In *Dynamics of Cancer. Incidence, Inheritance, and Evolution*.
- Frezza, M., Hindo, S., Chen, D., Davenport, A., Schmitt, S., Tomco, D., Ping Dou, Q. 2010. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 16(16), 1813–1825.
- Gage, A.A., Baust, J. 1998. Mechanisms of Tissue Injury in Cryosurgery. In *Cryobiology*, 37(3), 171–186.
- Gage, A.A., Baust, J.G. 2007. Cryosurgery for Tumors. In *Journal of the American College of Surgeons*, 205(2), 342–356.
- Gao, W., Kearbey, J.D., Nair, V.A., Chung, K., Parlow, A.F., Miller, D.D., Dalton, J.T. 2004. Comparison of the pharmacological effects of a novel selective androgen receptor modulator, the 5 α -reductase inhibitor finasteride, and the antiandrogen hydroxyflutamide in intact rats: New approach for benign prostate hyperplasia. *Endocrinology*, 145(12), 5420–5428.
- Garcia, José M., Cata, J.P., Dougherty, P.M., Smith, R.G. 2008. Ghrelin prevents cisplatin-induced mechanical hyperalgesia and cachexia. *Endocrinology*, 149(2), 455–460.
- Garcia, Jose M., Scherer, T., Chen, J.A., Guillory, B., Nassif, A., Papusha, V., Smiechowska, J., Asnicar, M., Buettner, C., Smith, R.G. 2013. Inhibition of cisplatin-induced lipid catabolism and weight loss by ghrelin in male mice. *Endocrinology*, 154(9), 3118–3129.
- Gilman, A. 1963. The initial clinical trial of nitrogen mustard. *The American Journal of Surgery*, 105(5), 574–578.
- Gonzalez, H., Hagerling, C., Werb, Z. 2018. Roles of the immune system in cancer: From tumor initiation to metastatic progression. In *Genes and Development*, 32(19-20), 1267–1284.

- Goodman, L.S., Gilman, A., Gilman, A.G., Koelle, G.B. 1975. The Pharmacological Basis of Therapeutics, Fifth Edition. Bailliere Tindall, £ 18.00.
- Goodman, Louis S., Wintrobe, M.M., Dameshek, W., Goodman, M.J., Gilman, A., McLennan, M.T. 1946. Nitrogen mustard therapy: Use of Methyl-Bis (Beta-Chloroethyl)amine Hydrochloride and Tris (Beta-Chloroethyl)amine Hydrochloride for Hodgkin's Disease, Lymphosarcoma, Leukemia and Certain Allied and Miscellaneous Disorders. Journal of the American Medical Association, 132(3), 126–132.
- Greifzu, S. 1996. Chemo quick guide. Antitumor antibiotics. Rn, 59(4), 35–36.
- Güner, A. 2020. Toxic and irritant effects induced by zearalenone: prevention by taurine. Toxin Reviews, 40(1), 1-10.
- 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. 2019b. Apoptosis-inducing activities of *Halopteris scoparia* L. Sauvageau (Brown algae) on cancer cells and its biosafety and antioxidant properties. Cytotechnology, 71(3), 687–704.
- Güner, A., Polatli, E., Akkan, T., Bektaş, H., Albay, C. 2019a. Anticancer and antiangiogenesis activities of novel synthesized 2-substituted benzimidazoles molecules. Turkish Journal of Chemistry, 43(5), 1270–1289.
- Hanigan, M.H., Deng, M., Zhang, L., Taylor, P.T., Lapus, M.G. 2005. Stress response inhibits the nephrotoxicity of cisplatin. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 288, 125-132.
- Hartmann, J.T., Lipp, H.P. 2003. Toxicity of platinum compounds. In Expert Opinion on Pharmacotherapy, 4(6), 889–901.
- Hayes, D.M., Cvitkovic, E., Golbey, R.B., Scheiner, E., Helson, L., Krakoff, I.H. 1977. High dose Cis-platinum diammine dichloride. Amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer, 39(4), 1372–1381.
- Himes, R.H. 1991. Interactions of the catharanthus (Vinca) alkaloids with tubulin and microtubules. In Pharmacology and Therapeutics, 5(2), 257–267.
- Hoffmann, N.E., Bischof, J.C. 2002. The cryobiology of cryosurgical injury. Urology, 60(2), 40-49.
- 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.
- IARC. International Agency for Research on Cancer. 2020. World cancer report 2020. In World Health Organization. <http://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications>.
- Jefford, C.E., Irminger-Finger, I. 2006. Mechanisms of chromosome instability in cancers. In Critical Reviews in Oncology/Hematology, 59(1), 1-14.

- Jin, B., Li, Y., Robertson, K.D. 2011. DNA methylation: Superior or subordinate in the epigenetic hierarchy? In *Genes and Cancer*, 2(6), 607–617.
- Jones, P.A., Laird, P.W. 1999. Cancer epigenetics comes of age. In *Nature Genetics*, 21(2), 163–167.
- Kart, A., Cigremis, Y., Karaman, M., Ozen, H. 2010. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) ameliorates cisplatin-induced hepatotoxicity in rabbit. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(1), 45–52.
- Kawai, Y., Nakao, T., Kunimura, N., Kohda, Y., Gemba, M. 2006. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to cisplatin-related renal cell injury. *Journal of Pharmacological Sciences*, 100(1), 65–72.
- Kelland, L. 2007. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. In *Nature Reviews Cancer*, 7(8), 573–584.
- Kishore, A.S., Surekha, P.A., Sekhar, P.V.R., Srinivas, A., Murthy, P.B. 2008. Hen egg chorioallantoic membrane bioassay: An in vitro alternative to draize eye irritation test for pesticide screening. *International Journal of Toxicology*, 27(6), 449–453.
- 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.
- Kushi, L.H., Byers, T., Doyle, C., Bandera, E.V., McCullough, M., Gansler, T., Andrews, K.S., Thun, M.J. 2006. American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for Cancer Prevention: Reducing the Risk of Cancer With Healthy Food Choices and Physical Activity. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 56(5), 254–281.
- Kwan, S.W., Bhargavan, M., Kerlan, R.K., Sunshine, J.H. 2010. Effect of advanced imaging technology on how biopsies are done and who does them. *Radiology*, 256(3), 751–758.
- Liao, Y., Lu, X., Lu, C., Li, G., Jin, Y., Tang, H. 2008. Selection of agents for prevention of cisplatin-induced hepatotoxicity. *Pharmacological Research*, 57(2), 125–131.
- Lilenbaum, R.C., Herndon, J.E., List, M.A., Desch, C., Watson, D.M., Miller, A.A., Graziano, S.L., Perry, M.C., Saville, W., Chahinian, P., Weeks, J.C., Holland, J.C., Green, M.R. 2005. Single-agent versus combination chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: The Cancer and Leukemia Group B (study 9730). *Journal of Clinical Oncology*, 23(1), 190–196.
- Liva, S.G., Tseng, Y., Dauki, A.M., Sovic, M.G., Vu, T., Henderson, S.E., Kuo, Y., Benedict, J.A., Zhang, X., Remaily, B.C., Kulp, S.K., Campbell, M., Bekaii-Saab, T., Phelps, M.A., Chen, C., Coss, C.C. 2020. Overcoming resistance to anabolic SARM therapy in experimental cancer cachexia with an HDAC inhibitor. *EMBO Molecular Medicine*, 12, e991, 1–21.
- Loehrer, P.J., Einhorn, L.H. 1984. Cisplatin. *Annals of Internal Medicine*, 100(5), 704–713.

- Luo, J., Solimini, N.L., Elledge, S.J. 2009. Principles of Cancer Therapy: Oncogene and Non-oncogene Addiction. *Cell*, 136(5), 823-837.
- Mattick, J.S., Makunin, I.V. 2006. Non-coding RNA. *Human Molecular Genetics*, 15, dd1046, 17-29.
- 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.
- McWhinney, S.R., Goldberg, R.M., McLeod, H.L. 2009. Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(1), 10–16.
- Nair, C.K.K., Parida, D.K., Nomura, T. 2001. Radioprotectors in Radiotherapy. *Journal of Radiation Research*, 42(1), 21–37.
- Narayanan, R., Ahn, S., Cheney, M.D., Yepuru, M., Miller, D.D., Steiner, M.S., Dalton, J.T. 2014. Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) negatively regulate triple-negative breast cancer growth and epithelial: mesenchymal stem cell signaling. *PLoS ONE*, 9(7), 1-12.
- Narayanan, R., Mohler, M.L., Bohl, C.E., Miller, D.D., Dalton, J.T. 2008. Selective androgen receptor modulators in preclinical and clinical development. *Nuclear receptor signaling*, 6, e010, 1-26.
- 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.
- Papac, R.J. 2001. Origins of cancer therapy. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 74(6), 391–398.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B., Periyasamy, L. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11–26.
- Poutiainen, P.K., Huhtala, T., Jääskeläinen, T., Petsalo, A., Küblbeck, J., Kaikkonen, S., Palvimo, J.J., Raunio, H., Närvänen, A., Peräkylä, M., Juvonen, R.O., Honkakoski, P., Laatikainen, R., Pulkkinen, J.T. 2014. Preclinical pharmacology of FL442, a novel nonsteroidal androgen receptor modulator. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 387(1–2), 8–18.
- Ralhan, R., Kaur, J. 2007. Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), 1061–1075.
- Robertson, K.D. 2005. DNA methylation and human disease. *Nature Reviews Genetics*, 6(8), 597–610.
- Roch, P.J., Henkies, D., Carstens, J.C., Krischek, C., Lehmann, W., Komrakova, M., Sehmisch, S. 2020. Ostarine and Ligandrol Improve Muscle Tissue in an Ovariectomized Rat Model. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 556581, 1-12.
- Rosai, J., Ackerman, L.V. 1979. The Pathology of Tumors, Part III: Grading, Staging Classification. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 29(2), 66-77.
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Krigas, T. 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, 205(4972), 698–699.

- Rottenberg, S., Disler, C., Perego, P. 2021. The rediscovery of platinum-based cancer therapy. In *Nature Reviews Cancer*, 21(1), 37–50.
- Röntgen, W.C. 1896. On a new kind of rays. *Science*, 3(59), 227–231.
- Rybak, L.P., Whitworth, C.A., Mukherjea, D., Ramkumar, V. 2007. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing Research*, 226(1–2), 157–167.
- Sakai, H., Sagara, A., Arakawa, K., Sugiyama, R., Hirosaki, A., Takase, K., Jo, A., Sato, K., Chiba, Y., Yamazaki, M., Matoba, M., Narita, M. 2014. Mechanisms of cisplatin-induced muscle atrophy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 278(2), 190–199.
- 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.
- Santoso, J.T., Lucci, J.A., Coleman, R.L., Schafer, I., Hannigan, E.V. 2003. Saline, mannitol, and furosemide hydration in acute cisplatin nephrotoxicity: A randomized trial. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 52(1), 13–18.
- Schena, E., Saccomandi, P., Fong, Y. 2017. Laser Ablation for Cancer: Past, Present and Future. *Journal of Functional Biomaterials*, 8(2), 1-15.
- Schlaeffer, F., Tovi, F., Leiberman, A. 1983. Cisplatin-induced bradycardia. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy*, 17(12), 899–901.
- Schmidt, A., Kimmel, D.B., Bai, C., Scafonas, A., Rutledge, S.J., Vogel, R.L., McElwee-Witmer, S., Chen, F., Nantermet, P.V., Kasparcova, V., Leu, C.T., Zhang, H.Z., Duggan, M.E., Gentile, M.A., Hodor, P., Pennypacker, B., Masarachia, P., Opas, E.E., Adamski, S.A., Ray, W.J. 2010. Discovery of the selective androgen receptor modulator MK-0773 using a rational development strategy based on differential transcriptional requirements for androgenic anabolism versus reproductive physiology. *Journal of Biological Chemistry*, 285(22), 17054–17064.
- Schmidt, A., Meissner, R.S., Gentile, M.A., Chisamore, M.J., Opas, E.E., Scafonas, A., Cusick, T.E., Gambone, C., Pennypacker, B., Hodor, P., Perkins, J.J., Bai, C., Ferraro, D., Bettoun, D.J., Wilkinson, H.A., Alves, S.E., Flores, O., Ray, W.J. 2014. Identification of an anabolic selective androgen receptor modulator that actively induces death of androgen-independent prostate cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 143, 29–39.
- Scholes, G. 1983. Radiation effects on DNA. The Silvanus Thompson Memorial Lecture, April 1982. *British Journal of Radiology*, 56(664), 221-231.
- Schrier, R.W., Wang, W., Poole, B., Mitra, A. 2004. Acute renal failure: Definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *Journal of Clinical Investigation*, 114(1), 5–14.
- Shen, D.W., Pouliot, L.M., Hall, M.D., Gottesman, M.M. 2012. Cisplatin resistance: A cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacological Reviews*, 64(3), 706–721.

- Shiraishi, F., Curtis, L.M., Truong, L., Poss, K., Visner, G.A., Madsen, K., Nick, H. S., Agarwal, A. 2000. Heme oxygenase-1 gene ablation or expression modulates cisplatin-induced renal tubular apoptosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 278(5), F726-F736.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A. 2019. Cancer statistics, 2019. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(1), 7–34.
- Solomon, Z.J., Mirabal, J.R., Mazur, D.J., Kohn, T.P., Lipshultz, L.I., Pastuszak, A.W. 2019. Selective Androgen Receptor Modulators: Current Knowledge and Clinical Applications. In *Sexual Medicine Reviews*, 7(1), 84–94.
- Soni, H., Kaminski, D., Gangaraju, R., Adebisi, A. 2018. Cisplatin-induced oxidative stress stimulates renal fas ligand shedding. *Renal Failure*, 40(1), 314–322.
- Storz, P. 2005. Reactive oxygen species in tumor progression. *Frontiers in Bioscience*, 10(2), 1881–1896.
- Sudhakar, A. 2009. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *Journal of Cancer Science & Therapy*, 1(2), 1-4.
- Suzuki, M.M., Bird, A. 2008. DNA methylation landscapes: Provocative insights from epigenomics. In *Nature Reviews Genetics*, 9(6), 465–476.
- Takimoto, B.C.H., Calvo, E. 2008. Principles of oncologic pharmacotherapy. *Cancer*, 2008, 23–42.
- Tchurikov, N.A. 2005. Molecular mechanisms of epigenetics. *Biokhimiya*, 70(4), 493–513.
- Türkez, H., Geyikoğlu, F., Tatar, A., Keleş, S., Özkan, A. 2007. Effects of some boron compounds on peripheral human blood. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(11-12), 889-896.
- UICC. 2017. The Union for International Cancer Control, TNM Classification of Malignant Tumours 2017. *Oncoline*.
- Üstün, R., Oğuz, E.K., Şeker, A., Korkaya, H. 2018. Thymoquinone prevents cisplatin neurotoxicity in primary DRG neurons. *Neurotoxicology*, 69, 68–76.
- Velma, V., Dasari, S.R., Tchounwou, P.B. 2016. Low doses of cisplatin induce gene alterations, cell cycle arrest, and apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. *Biomarker Insights*, 11, 113–121.
- Verma, P.K., Raina, R., Sultana, M., Singh, M., Kumar, P. 2016. Total antioxidant and oxidant status of plasma and renal tissue of cisplatin-induced nephrotoxic rats: Protection by floral extracts of *Calendula officinalis* Linn. *Renal Failure*, 38(1), 142–150.
- Vinay, D.S., Ryan, E.P., Pawelec, G., Talib, W.H., Stagg, J., Elkord, E., Lichter, T., Decker, W.K., Whelan, R.L., Kumara, H.M.C.S., Signori, E., Honoki, K., Georgakilas, A.G., Amin, A., Helferich, W.G., Boosani, C.S., Guha, G., Ciriolo, M.R., Chen, S., Kwon, B.S. 2015. Immune evasion in cancer: Mechanistic basis and therapeutic strategies. *Seminars in Cancer Biology*, 35, 185–198.
- Waldmann, T.A. 2003. Immunotherapy: Past, present and future. In *Nature Medicine*, 9(3), 269–277.

- Waly, M.I., Al Moundhri, M.S., Ali, B.H. 2011. Effect of curcumin on cisplatin- and oxaliplatin-induced oxidative stress in human embryonic kidney (HEK) 293 cells. *Renal Failure*, 33(5), 518–523.
- 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.
- WHO. 2020. WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. In World Health Organization, 1-160.
- Wozniak, K., Czechowska, A., Blasiak, J. 2004. Cisplatin-evoked DNA fragmentation in normal and cancer cells and its modulation by free radical scavengers and the tyrosine kinase inhibitor STI571. *Chemico-Biological Interactions*, 147(3), 309–318.
- Yao, X., Panichpisal, K., Kurtzman, N., Nugent, K. 2007. Cisplatin nephrotoxicity: A review. *American Journal of the Medical Sciences*, 334(2), 115–124.
- Yu, Z., He, S., Wang, D., Patel, H.K., Miller, C.P., Brown, J.L., Hattersley, G., Saeh, J.C. 2017. Selective androgen receptor modulator RAD140 inhibits the growth of androgen/estrogen receptor-positive breast cancer models with a distinct mechanism of action. *Clinical Cancer Research*, 23(24), 7608–7620.
- Zhu, J., Carozzi, V.A., Reed, N., Mi, R., Marmioli, P., Cavaletti, G., Hoke, A. 2016. Ethoxyquin provides neuroprotection against cisplatin-induced neurotoxicity. *Scientific Reports*, 6, 28861, 1-10.

ÖZGEÇMİŞ

Zişan Üstün İlk, orta ve lise eğitimini İzmir’de tamamladı. 2013 yılında Bergama Akif Ersezgin Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. 2013 yılında başladığı Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümünü 2018 yılında bitirdi. 2019 yılında Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başladığı yüksek lisans eğitimine halen devam etmektedir.

