



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN PERİFERAL NÖROPATİ MODELİNDE  
FİSETİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

CANSEL ADIGÜZEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Fizyoloji Yüksek Lisans Programı

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. CANER YILDIRIM

Gaziantep

2025



T. C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN PERİFERAL NÖROPATİ MODELİNDE  
FİSETİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Cansel ADIGÜZEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI  
Fizyoloji Yüksek Lisans Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Caner YILDIRIM

Gaziantep

2025

T.C.  
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN PERİFERAL NÖROPATİ MODELİNDE  
FİSETİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Cansel ADIGÜZEL

Tez Savunma Tarihi: 09.01.2025

**Prof.Dr .Davut Sinan KAPLAN**  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışmasının bir “Yüksek Lisans / Doktora” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

**Prof.Dr.Ramazan BAL**  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans / Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Doç.Dr.Caner YILDIRIM**  
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans / Doktora” tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Jürisi**

**İmzası**

**Prof.Dr.Ramazan BAL**

**Dr.Öğr.Üyesi Mehmet GÖL**

**Doç.Dr.Caner YILDIRIM**

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Cansel ADIGÜZEL

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamdaki desteklerinden ötürü tez danışmanım Doç. Dr. Caner Yıldırım hocama ders dnemimdeki desteklerinden ötürü Zeynep Sav Tunca hocama ve deneyler esnasındaki desteklerinden dolayı sevgili arkadaşım Sena evik'e teşekkür ederim. Bu alışma, Gaziantep Üniwersitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından [proje numarası: TF.YLT.24.02] desteklenmiştir. Araştırmanın gerçekleştirilmesi ve başarılı bir Şekilde sonuçlanmasında sağladıkları maddi destek ve teşvik için Gaziantep Üniwersitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne iten teőekkürlerimizi sunarız. Bu süreçte değerli katkıları ve destekleriyle bizi yönlendiren BAP birimi çalışanlarına, çalışmanın her aşamasında sağlanan iş birliği ve özveri, bu projenin tamamlanmasında kilit rol oynamıştır. Ayrıca, bilimsel gelişimimize katkıda bulunan ve bu proje boyunca yanımızda olan Gaziantep Üniwersitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi birimine ve teknik ve idari personele teőekkürlerimizi iletmek isteriz.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SEMBOLLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
RESİMLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
EKLER LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
1.1. KANSER.....	3
1.1.1 Kanserde Ağrı.....	3
1.1.2. Kanser Ağrısının Yaşam Kalitesine Etkisi.....	4
1.1.2.1. Platin Antikanser İlaçları.....	5
1.1.2.2. Platin Bileşiklerinin Toksisitesi.....	6
2. GENEL BİLGİLER.....	10
2.1. Sisplatinin Kimyasal Yapısı.....	10
2.1.1. Sisplatin kaynaklı nöropatinin patofizyolojisi.....	11
2.1.2. Dorsal kök ganglionları.....	13

2.1.2.1. Kanser Kemoterapisinde Sisplatin ve Diğer Farmakolojik Doğal Ürünlerin Kombinasyonunun Etkileri.....	15
2.1.2.2. Sisplatin Bazlı Tedavilerde Yeni Sonuçlar.....	16
2.1.2.3. Sisplatin'in Neden Olduğu Sistemik Toksisitelerin Temeli Oksidatif Stres...16	
2.1.2.4. Sisplatinin Nöronal İnflamasyona Etkisi.....	17
2.2. Flavonoidler.....	17
2.2.1. Flavonoidler ve Kanser Önlenmesi.....	18
2.3.Fisetinin yapısı ve temel özellikleri.....	19
2.3.1. Fisetinin biyoaktif özellikleri.....	19
2.3.1.2. Fisetin'in Kronik Hastalıklar Üzerindeki Etkisi.....	21
2.3.1.3. Fisetin'in Yaşam Süresi Üzerine Etkisi.....	21
2.3.1.4. Fisetin'in Nörolojik bozuklukların Tedavisindeki Rolü.....	21
2.3.1.5. Fisetin'in Kanser Üzerindeki Rolü.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Deney Hayvanları ve grupların oluşturulması.....	24
3.2. Hayvanların beslenmesi ve barındırma koşulları.....	24
3.3. İlaçlar ve Kimyasallar.....	25
3.4. Deney Protokolü.....	25
3.5. İn Vivo Davranış Deneyleri.....	27
3.5.1. Motor Performansın Değerlendirilmesi.....	27
3.5.1.1. Rota Rod.....	27
3.5.2. Duyusal sistemin değerlendirilmesi.....	28

3.5.2.1. Hot Plate deneyi.....	28
3.5.2.2. Cold Plate Testi.....	29
3.5.3. Ağrı Değerlendirilmesi.....	30
3.5.3.1. Tail Flick Testi.....	30
3.5.3.2. Von Frey Filament Testi.....	30
3.6. Elektrofizyolojik Deneyler.....	31
3.6.1. Sinir İletim Hızının ölçülmesi.....	32
3.7.1. Lazer Taramalı Konfokal mikroskopi.....	33
3.8. İstatistiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Motor Koordinasyon ve Allodini Değerlendirmesi.....	35
4.1.2. Rota Rod ve Von Frey Sonuçları.....	36
4.2. Nosiseptif Hipoaljezi.....	37
4.3. Elektrofizyolojik değerlendirme.....	40
4.3.1. Siyatik sinirin motor iletim hızı.....	40
4.3.1.2. Konfokal mikroskopi bulguları.....	41
5. TARTIŞMA.....	46
5.1. İn Vivo Davranış Deneylerinin Değerlendirilmesi.....	47
5.1.1. Motor Performansın Değerlendirilmesi.....	47
5.1.2. Mekanik Ağrı Eşiğinin Değerlendirilmesi.....	50
5.1.3. Termal Hipoaljezi Değerlendirilmesi.....	49

5.1.4. Soğuk plaka ve Tail Flick sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	50
5.2. Elektrofizyolojik Ölçümlerin Değerlendirilmesi.....	50
5.3. Konfokal mikroskop bulgularının değerlendirilmesi.....	52
5.4. Miyelin Basic Protein.....	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
7.KAYNAKLAR.....	56
8. ETİK KURUL.....	66
9. ÖZGEÇMİŞ.....	67

## KISALTMALAR VE SEMBOLLER

$\alpha$	alfa plakası
B	beta plakası
Ca <sup>2+</sup>	Kalsiyum
CMAP	Bileşik Kas Aksiyom Potansiyeli
CİS	Sisplatin
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
DRG	Dorsal Kök Gangliyon
€	Avrupa Para Birimi
FDA	Gıda Tarım Örgütü
GFAB	Glial Fibriler Asidik Protein
IL-1B	İnterlökin 1 beta
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz
MBP	Miyelin Basic Protein
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
MNCV	Sinir İletim Hızı
Nf	Nörofilament
NF-Kb	Nükleer Faktör Kappa
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
PNS	Periferik Sinir Sistemi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TNF-a	Tümör Nekroz Faktörü- alfa

VEGF

Vasküler Endotel Büyüme Faktörü



## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Platin ajanlar.....	5
Şekil 2: Platinlerin moleküler görüntüsü.....	6
Şekil 3: Sisplatinin kimyasal yapısı .....	10
Şekil 4: Sisplatinin moleküler mekanizması.....	15
Şekil 5. Sisplatinin etkilediği yerler.....	16
Şekil 6:Nöropati ve deney grupları arasında fisetinin terapötik etkisi için motor koordinasyon ve mekanik ağrı eşiği duyarlılığı.....	36
Şekil 7:Deney grupları arasında sıçanlarda termal noisepsiyonun değerlendirilmesi için kuyruk çevirme, sıcak plaka ve soğuk plaka testlerinin sonuçları.....	38
Şekil 8:MBP, GFAP ve nörofilament grupları.....	41
Şekil 9:MBP, GFAB, Nörofilament yoğunlukları.....	44

## RESİMLER LİSTESİ

Resim 1:Rotarod cihazında çekilmiştir.....	28
Resim 2 :Hot plate testi yapılırken çekilmiştir.....	29
Resim 3:Cold plate testi yaparken çekilmiştir.....	29
Resim 4:Tail flick ölçümü yapılırken çekilmiştir.....	30
Resim 5:Von frey filamentleri uygulanırken çekilmiştir.....	31
Resim 6:Von frey filamentleri.....	31
Resim 7:Sinir ileti hızı ölçümü.....	33
Resim 8:Grafik, elektrofizyolojik parametreleri ve temsili bileşik kas aksiyon potansiyeli(CMAP)verileri.....	42
Resim 9:Şekilde miyelin bazik protein (MBP) için boyanmış siyatik sinir kesitleri.....	44
Resim 10:GFAB, Nörofilament boyama.....	45

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1:Deney grupları.....	26
Tablo 2:Motor Fonksiyon Testinin Tanımlayıcı İstatikleri.....	36
Tablo 3:Von frey Testinin Tanımlayıcı İstatikleri.....	37
Tablo 4:Tail Flick Testi Tanımlayıcı İstatikleri.....	39
Tablo 5:Sıcak Plaka Testinin Tanımlayıcı İstatikleri.....	39
Tablo 6:Cold Plate Testinin Tanımlayıcı İstatikleri.....	40

## EKLER LİSTESİ

Ek 1. Etik Kurul.....	66
-----------------------	----



## ÖZET

### SİSPLATİN İLE İNDÜKLENEN PERİFERAL NÖROPATİ MODELİNDE FİSETİNİN PROTEKTİF ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Cansel ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı :Doç.Dr. Caner YILDIRIM

Aralık 2024, 67 sayfa

Yaygın olarak kullanılan bir kemoterapi ilacı olan sisplatin, periferik nöropatiye neden olarak hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır. Bu çalışmada, sisplatin kaynaklı periferik nöropati sıçan modelinde doğal bir flavonoid olan fisetinin nöroprotektif etkileri araştırılmıştır. Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle bilinen fisetin, nöropati patofizyolojisinde nöroinflamasyonu ve oksidatif stresi azaltma yeteneği nedeniyle bu çalışmada seçilmiştir. Bu çalışmada erkek Wistar Albino sıçanları altı gruba ayrıldı: sham, nöropati (5 hafta süresince, haftada bir defa, 3 mg/kg sisplatin uygulandı), fisetin tedavi grupları (nöropati +10 mg/kg fisetin ve nöropati+20 mg/kg fisetin) ve sadece fisetin uygulanan sağlıklı hayvanlardan oluşan pozitif kontrol grupları (10 mg/kg ve 20 mg/kg). Motor koordinasyon, duyu sistem fonksiyonları ve siyatik sinirlerin yapısal bütünlüğünü değerlendirmek amacıyla davranışsal deneyler, sinir iletim çalışmaları ve konfokal mikroskopi analizleri yapılmıştır. Bulgulara göre sisplatin uygulaması hayvanlarda motor inkoordinasyon, duyu disfonksiyon ve mekanik alodinide neden olmuştur. Ayrıca sinir iletim hızını azaltmıştır. Miyelin yapısında yer alan MBP ekspresyonunu azaltırken siyatik sinir dilimlerinde nöroinflamasyonu gösteren GFAP ekspresyonunu artırmıştır. Ayrıca özellikle fisetinin 10 mg/kg dozunda uygulanması sisplatin uygulanan sıçanlarda motor koordinasyonda belirgin iyileşme, alodinide azalma ve sinir iletim hızında düzelme sağlamıştır. İmmüno Floresan boyama fisetinin, nörofilamentlerin yapısını korunması, miyelin yapısının korunmasında ve akson bütünlüğünün korunmasında oynadığı rolü ortaya koymuştur. Ayrıca, fisetin GFAP ekspresyonunu azalttı ve bu da glial hücre aktivasyonunda ve nöroinflamasyonda bir azalma anlamına geliyor. Sonuç olarak, Fisetin, glial ve aksonal yapıların stabilizasyonuna katkıda bulunan antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle sisplatin kaynaklı nöropatiyi hafifletmek için umut vadeden bir adaydır.

**Anahtar kelimeler:** Fisetin, sisplatin, nöropati, sinir iletim hızı, nöroprotektif davranış deneyi.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF FICETIN IN CISPLATIN-INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY MODEL

Cansel ADIGÜZEL

Master's Thesis, Department of Physiology

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Caner YILDIRIM

December 2024, 67 page

Cisplatin (cis), a commonly used chemotherapeutic drug, significantly reduces the quality of life for patients by inducing peripheral neuropathy. This study investigated that the neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid, in a rat model of cisplatin-induced peripheral neuropathy. Fisetin, known for its antioxidant and anti-inflammatory properties, was selected in the present study for its ability to diminish neuroinflammation and oxidative stress in the pathophysiology of neuropathy. Male Wistar rats were divided into six groups: sham, neuropathy (3 mg/kg cis, 5 weeks, once a week), fisetin treatment groups (cis+10 mg/kg fisetin and cis+20 mg/kg fisetin), and positive control groups consisting of healthy animals administered only fisetin (10 mg/kg and 20 mg/kg). In order to assess motor coordination, sensory system functionalis, and the structural integrity of the sciatic nerves, behavioural experiments, nerve conduction studies, and confocal microscopy analyses were carried out. According to the findings, cisplatin administration caused motor incoordination, sensory dysfunction and mechanical allodynia in animals. It also decreased the nerve conduction velocity. While it decreased the expression of MBP, which is involved in the myelin structure, it increased the expression of GFAP, which indicates neuroinflammation in sciatic nerve slices. In addition, especially the application of fisetin at a dose of 10 mg/kg , caused a significant improvement in motor coordination, a decrease in allodynia, and a restoration of nerve conduction velocity in cisplatin-treated rats. Immunofluorescence staining revealed fisetin's role in maintaining myelin structure and protecting axonal integrity, as indicated by the preservation of neurofilaments. Furthermore, fisetin reduced GFAP expression, signifying a decrease in glial cell activation and neuroinflammation. Consequently, Fisetin is a promising candidate to alleviate cisplatin-induced neuropathy due to its antioxidant and anti-inflammatory properties that contribute to the stabilization of glial and axonal structures.

**Key words:** Fisetin, cisplatin, neuropathy, nerve conduction velocity, nociceptive behaviour experiment.

# 1.GİRİŞ

## 1.1. KANSER

Kanser latince'den türetilmiş bir kelimedir ve ilk kez Hipokrat tarafından kullanılmıştır, canker ve ya carcinos kelimelerinden türetilen kanser kelimesini daha sonra Yunan doktor Galen' in de kullandığı ifade edilmiştir (1). Kanser belli bir organizmadaki hücrelerin bölünmesi, gelişmesi, farklılaşması ve programlanmış bir şekilde ölümünün gerçekleşmesinde rol alan proteinleri kodlayan genlerin mutasyon geçirmesi sebebiyle hücrelerin apoptoza uğramadan kontrolsüz bir şekilde bölünmesi olarak tanımlanmıştır (2). Günümüzde kanser hastalığının tedavisinde cerrahi ile birlikte radyoterapi ve kemoterapi seçenekleri bulunmaktadır. Kemoterapi etkili bir seçenek olmakla birlikte sağlıklı vücut hücrelerine de zarar vererek toksisiteye sebep olabilmektedir. Bu sebeple araştırmacılar genellikle sadece kanserli hücreleri yok etmenin yollarını araştırmaktadır (3).

Kanserin önemli ağrılara sebebiyet verebilen ve de yaşam standartlarını azaltabilen çok çeşitli ve karışık bir durum olduğu belirtilmektedir. Ağrı, kanser hastalarında en sık görülen semptomlardan biridir. Ağrı, kanser, kanser tedavisi veya bu faktörlerin bir kombinasyonundan kaynaklanabilir. Hastaların önemli bir çoğunluğu kanser ağrısını yada tedaviye bağlı olarak gelişen ağrıyı kontrol edebilmektedir fakat bu olumsuz durum sağlık hizmetleri tarafından hala önemli bir sorun olarak görülmektedir ve bu ağrı maalesef tam olarak tedavi edilememektedir. Bu durumun sebepleri arasında hastanın yaşı, etnik kökeni, genetik yapısı, cinsiyeti vb. durumlardan ötürü ağrı yönetimini etkilemektedir (4).

### 1.1.1 Kanserde Ağrı

Kanser hastaları, hastalık süreci boyunca mutlaka ağrı hissi duyarlar. Tedavi ve tanıya bağlı olarak akut ağrı ve hastalığın kendisinden veya tedavi süreçlerinden kaynaklı oluşan kalıcı ağrılar söz konusudur (5). Kanser ağrısının yönetiminde hastaların neredeyse % 90'ında bu hastalığın etkilerinin düzeltilip kontrol altına alınabilmesine karşın sağlık hizmetlerinde hala güncel olarak etkili bir sorun olarak görülmektedir. Bu hastalıkla ilişkili olarak sosyal, maddi, manevi acılar bu hastalığı daha da karmaşık hale

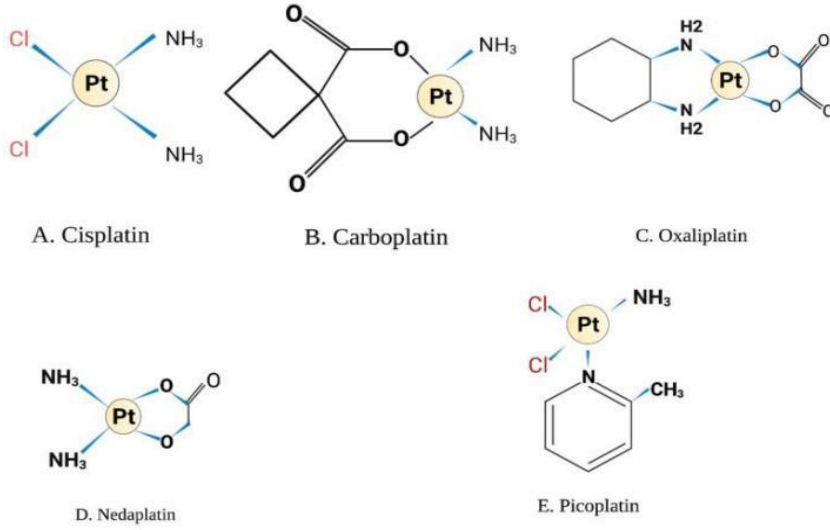
getirmektedir. Sağlık açısından ağrı şiddeti ölçekleri tamamlayıcı ve alternatif yöntemler, bakım ekibinin rolü ve hem hastaya hem de aileye manevi destek vermek amacıyla ele alınmıştır (6).

Kanser ağrısının yönetimi, altta yatan patofizyolojik mekanizmalara bağlıdır ve mevcut güncel ağrı tedavisi hala Dünya Sağlık Örgütü'nün kılavuzlarına dayanmaktadır (7). Kanser Amerika'da hala en sık ikinci ölüm sebebi olarak görülmektedir. Bu hastalığın sebep olduğu ağrı, kanserin en korkulan komplikasyonlarından biridir. Pek çok çalışma Dünya Sağlık Örgütü'nün tedavi kılavuzlarına uyulduğunda hastaların %90'a yakınının ağrıyı hissetmediğini göstermektedir (7).

### **1.1.2. Kanser Ağrısının Yaşam Kalitesine Etkisi**

Ağrı, kanser hastalarının yaklaşık yarısında, ileri derece kanser hastalarının neredeyse %90'ında görülen kişide duyuşsal, duygusal, bilişsel, davranışsal etkilere sahip olan karışık, çok yönlü bir olgudur. Dünya Sağlık Örgütü, kanserin sebep olduğu ağrıyı uluslararası bir sorun olarak belirtmiş ve ağrının kontrolünü pek çok kanserli hastanın geniş kapsamlı bakımında önemli bir unsur haline getirmiştir. Ağrı, daimi ve kontrol edilemez olduğunda kanser hastasının yaşamının neredeyse her noktasında zararlı, hastanın durumunu psikolojik olarak kötüye sürükleyen bir etkiye neden olarak kaygı, ve duygusal stres oluşturmaktadır. Orta şiddetli ya da çok şiddetli ağrısı olan kanser hastalarında, uyku, günlük yaşam aktiviteleri, hayattan zevk alma, yaşama hevesi, çalışma hırısı ve sosyal aktivitelere katılma gibi rutinlerde isteksizlikler görülmektedir (8). Kanser tedavisi gören hastalarda ağrı genellikle şiddetli olduğundan dolayı bu hastalarda ağrının tedavisi zor olabilmektedir ve analjezik merdiven yöntemi ile tedavisi gerçekleştirilemeyen hastalar en düşük düzeyde invazif analjezik müdahale yöntemleri ile tedavi edilebilmektedir (9). Günümüzde kanser hastalarının palyatif bakımında çok çeşitli yaklaşım mevcuttur ve bu hastaların tedavisinde asıl hedef, ağrı ve diğer belirtilerin kaldırılması, yok edilmesi psikososyal ve şahsın duygularının, hislerinin düzeltilip yaşam standartlarının yükseltilmesidir (10).

### 1.1.2.1. Platin Antikanser İlaçları

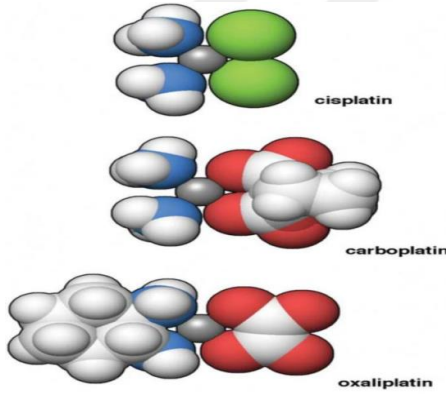


Şekil 1: Platin ajanlar

Sisplatin 1979 'da onaylandıktan sonra yumurtalık, testis, akciğer, mesane kanserlerine ilaveten lenfomalar, miyelomlar, melanomun tedavisine yönelik kemoterapi rejimlerinde önemli yer aldı. Fakat ciddi yan etkilere sahip olduğu gerçeği gün geçtikçe ortaya çıktı. Son yıllarda yirmi üç farklı platin bazlı ilaçlar klinik deneylerde yer aldı fakat bunlardan sadece ikisi (karboplatin ve okzaliplatin) uluslararası pazarlama onayı aldı, diğer üç tanesi ise (nedaplatin ,lobaplatin,heptaplatin) farklı farklı ülkelerde onay aldı (11).

Şans eseri keşfedilen sisplatin kanser tedavisinde oldukça önemlidir. 1965 senesinde Rosenberg, elektrik alanının Escherichia coli bakterisinin gelişmesi üzerindeki etkisini araştırırken bakterilerin elektrik alanına yerleştirildiğinde bölünmeyi durdurduğunu fark etti fakat Rosenberg'in asıl fark ettiği şey, bakteri boyutunun 300 kat arttıydı. Bunu, platin iletken plakaların hücre büyümesine sebebiyet verdiğine fakat hücre bölünmesini durdurduğu sonucuna bağladı. Sonrasında bundan sorumlu platin türünün sisplatin olduğu sonucuna vardı. Rosenberg, sisplatinin bakteriyel hücre bölünmesini durdurduğu zaman tümör hücre bölünmesini de durduracağını ileri sürdü. Bu ihtimalin doğruluğu kanıtlanmış ve kanser tedavisinde sisplatinin kullanımına teşvik etmiştir. 1978 'de NCI ve Bristol Myers -Squibb vasıtasıyla yapılan klinik deneylerden altı yıl

sonra, FDA metastatik testis ya da ovaryum kanseri hastalarının iyileştirilmesinde Platinol adı altında sisplatini onayladı (12). Sisplatinin, testis kanserine karşı son derece etkin olan antitümöral özelliği yaygın olarak kullanımını sağlamıştır. Sisplatin, testis, yumurtalık, mesane, baş ve boyun, özofagus, mide ve akciğer kanserleri ile lenfoma ve osteosarkom gibi solid tümör ve hematolojik malignitelerin tedavisinde en yaygın kullanılan antineoplastik ajanlardan birisi olmuştur. Spesifik olmayan hedeflemesi, standart dozlarda uygulandığında bile gastrointestinal, renal, nörolojik ve hematolojik sistemleri etkileyen yan etkilere ve toksisitelere neden olduğu da zaman içerisinde anlaşılmıştır. Sisplatinin yaklaşık olarak 40 özelleşmiş toksisitesi vardır ve bunlar içerisinde en yaygın olanı nefrotoksisitedir. Bu yan etkiler ilacın dozajının azaltılmasını yada tedavi rejiminin durdurulmasını gerektirmektedir. Sisplatin kaynaklı yan etkilerin net mekanizmaları hala tam olarak anlaşılmadığından, yan etkilerine karşı klinik olarak az miktarda önlem bulunmaktadır. Bu sebeple sisplatin toksikolojisinde bulunan karışık mekanistik süreçleri araştırmak ve toksisitesini azaltmak veya yok etmenin etkin yollarını bulmayı amaç edinen önemli çabalar verilmiştir (13).



Şekil 2: Platinlerin moleküler görüntüsü

### 1.1.2.2. Platin Bileşiklerinin Toksisitesi

Platin temelli kombinasyon kemoterapisinin, bilhassa da sisplatinin kullanımından sonra pek çok solid tümörün tedavisinin neticesi değişti. Kanser kemoterapisinde en etkili platin bileşikleri sisplatin, karboplatin ve oksaliplatinidir. Bu bileşikler arasında yapısal bazı benzerlikleri vardır fakat terapötik kullanım, farmokinetik ve yan etki profilleri bakımından önemli ölçüde farklılıklar gösterirler. Sisplatin ile karboplatin karşılaştırıldığında, karboplatin'in germ hücreli tümör, baş boyun kanseri, mesane ve

özofagus karsinomunda etki düzeyi olarak sisplatinin daha üstün olduğu, her iki ilacın da ilerlemiş küçük hücreli olmayan ve küçük hücreli akciğer kanserinde ve ovaryum kanserinde de benzer etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (14).

Sisplatinin şiddetli yan etkilerinin varlığından dolayı yeni nesil platin bileşikler sentez edilerek yan etkilerinin hafifletilmesi amaçlanmıştır. Sisplatinin prelinik olarak etkilerini gösteren ilk raporlardan sonra, terapötik indeksini artıracak pek çok platin analogu kimyasal olarak sentezlenmiş ve hem deneysel çalışmalarda hem de klinik uygulamalarla test edilmiştir. Bugün bu analogların yaklaşık 13'ü klinik çalışmalarda değerlendirilmektedir(15). Sisplatin pek çok solid tümörün tedavisinde kullanılan platinyum bazlı kanser önleyici birinci nesil ilaçtır (16). Sisplatin meme, yumurtalık ve kolorektal kanserler gibi birçok kötü huylu tümör üzerinde tedavi edici etkiye sahiptir. Bununla birlikte, tümör hücrelerini öldürmesinin yanı sıra, sistemik toksisiteye (17) ve uzun süreli kullanımda sağlıklı dokular üzerinde ciddi hasara yol açan non-spesifik terapötik bir ilaçtır (18). Bu olumsuz durumlardan dolayı kliniğe ulaşması 10 yıldan fazla süren ikinci nesil platin ajanlardan karboplatin geliştirildi. 1989 yılında, ilaç FDA tarafından ileri yumurtalık kanserinde kullanım için onaylandı ve kısa sürede dünya çapında onay aldı (19). Sisplatine kıyasla, karboplatinin en büyük avantajı azaltılmış yan etkileriydi. Özellikle nefrotoksik etkileri ortadan kaldırması en dikkat çekici avantajlarından biriyken; mide bulantısı, kusma, ve immunsupresyon gibi ciddi yan etkileri de bulunmaktaydı (15, 20, 21). Sisplatinle karşılaştırıldığında karboplatinin antitümoral etkinliğinin kanserin tipine bağlı olarak değişmekle beraber genel olarak sisplatinin 1/8'i ile 1/45'i arasında bir etkinliği bulunduğu ifade edilmiştir. Karboplatin dozajının literatür verilerine göre klinik standardı, sisplatine kıyasla genellikle 4:1 dir. bu oran aynı antitümoral etkinliği sağlayabilmek amacıyla dört kat daha fazla karboplatin kullanılması demektir (15). İkinci nesil platin ajanlardan nedaplatin sisplatin analogu olarak bilinir. Nedaplatin, sisplatin tarafından indüklenen nefrotoksikite ve gastrointestinal toksisite gibi toksisiteyi azaltmak için geliştirilmiştir. Nedaplatin dozu vücut yüzey alanına göre belirlenir. Önerilen terapötik doz 80–100 mg/m<sup>2</sup>'dir, ancak nedaplatinin farmakokinetik profili karboplatine benzerdir. Platin içeren diğer ilaçlardan daha fazla bulantı, kusma ve nefrotoksisiteye neden olmaktadır (20). Bununla birlikte platin kemoterapisinde ana endişe platinyum ilaç direncidir (22). Sisplatin ve karboplatin uygulamaları sırasında ilaç direnci geliştirir. Bu nedenle, üçüncü nesil platin ajanların öncüsü olan oksaliplatin geliştirildi. Oksaliplatin kolorektal kanser

tedavisinde etkinlik gösteren ilk platin bazlı bileşiktir (23). Oksaliplatin metastatik kolorektal kanserlerde fluorourasil ve folinik asit ile birlikte kullanılmaktadır. Oksaliplatinin de nöropati, yorgunluk, nötropeni, ototoksisite ve hipolösemi gibi ciddi yan etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (20). Diğer bir platin ajan olan lobaplatin kronik miyeloid lösemide, ameliyat endikasyonu olmayan metastatik meme kanserinde ve tek hücreli akciğer kanserinde kullanılmaktadır. Loboplatinin de anemi ve lökopeni gibi ciddi yan etkileri bulunmaktadır (24). Diğer bir ajan olan heptalatin ise gastrik kanserlerde kullanılır yan etkileri hepatotoksisite ve nefrotoksisitedir (20). Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin dünya genelinde uygulanırken; nedaplatin Japonya’da; heptalatin Kore’de; lobaplatin Çin’de uygulanmaktadır (20, 21, 24). JM216 diğer bir platin türevidir ve oral olarak uygulanma özelliğine sahip olan tek platin türevidir (25).

Bu bilgilerden de anlaşılacağı üzere birincil nesil platin ajan olan sisplatinde sonra yeni platin türevleri sentezlenmiş olsa da hala antitümoral ilaçlar içerisinde özellikle de solid tümörlerin tedavisinde sisplatin akla ilk gelen anti tümöral ilaçtır. Sisplatinde sonra sentezlenen diğer platin ajanların hem sisplatin kadar güçlü antitümoral etkilerinin olmaması hem de en az sisplatin kadar ve farklı farklı yan etkilere sahip olmalarından dolayı sisplatin bazı tümör tipleri dışında geniş kullanım alanına sahiptir. Platin bazlı yeni anti-kanser ilaçları geliştirmek için çok çaba harcanmasına rağmen, şimdiye dek dünya çapında klinik bir uygulamaya ulaşılamamıştır. Bundan dolayı platin ajanların çeşitli stratejiler ile toksisitesinin azaltılması için çok fazla çalışma yapılmaktadır. Bu yüzden son yıllarda sisplatinle ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunun sisplatinle kombine tedavi seçenekleri ile sisplatinin yan etkilerini azaltmak üzerine olduğu görülmektedir. Farklı etki mekanizmaları ile anti-tümoral aktiviteye sahip olduğu bulunan doğal bileşiklerin; sisplatin ile kombine kullanılarak bir yandan anti-tümöral etkinliği arttırıp diğer yandan sisplatin toksisitesini azaltabilme potansiyeli bulunmasından dolayı bu bileşikler hem deneysel hem de klinik uygulamalarda önemli bir yere sahiptir.

Bu çalışmada platin ajanlar içerisinde nöropati modeli oluşturulmak için sisplatin seçilmesinin sebebi diğer platin ajanlara göre daha düşük uygulama dozu ile nöropati oluşturabilmesidir. Karboplatin ile de nöropati geliştirilebilir, fakat sisplatin nöropatisi ile kıyaslandığında bu durum ihmal edilebilir düzeydedir. Nöropati gelişebilir ama çok yüksek dozlarda karboplatin uygulanması gereklidir. Sisplatin ile oluşturulan

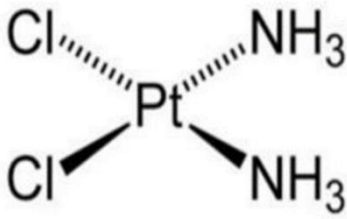
nöropatiye benzeri derecede nöropati indüklemek için karboplatin 10 katı yüksek dozda uygulanmalıdır. Platin kaynaklı nörolojik semptomlar, eşik değerde kümülatif ilaç dozları uygulandığında belirgin hale gelir. Sırasıyla 350 mg/m<sup>2</sup> ve 550 mg/m<sup>2</sup> kümülatif sisplatin ve oksaliplatin dozları, nörotoksisite gelişimi için eşik değerler olarak kabul edilmiştir. Dolayısıyla daha düşük doz uygulaması gerektirdiği için sisplatin seçilmiştir (26, 27).



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sisplatinin Kimyasal Yapısı

Suda oldukça az çözünen ve oda sıcaklığında kristal toz halinde bulunan beyaz, koyu, sarı ile turuncu arasında renktedir. 301,1 gm/mol moleküler ağırlığında olup özgül ağırlığı 3.74 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 270 °C 'dir (15). Çift yüklü platinin iyonunun 4 ligandla birleşmesinden meydana gelir. Sol tarafında platin iyonunun DNA bazlarıyla bağ kurmasını sağlayacak klorür ligandları, sağ bölgede platin iyonu ile etkili bağ oluşturan amin ligandları bulunur (28).



Şekil 3: Sisplatinin kimyasal yapısı .

Sitotoksik özelliklerinin 1960'lı yılların başlarında keşfedilmesiyle beraber sisplatin 1970'lerden itibaren küçük hücreli akciğer, over, testis, baş-boyun ve endometriyum gibi pek çok solid tümörün tedavisinde en çok kullanılan, en etkili tedavi ajanlarından birisi olmuştur (15). Sisplatinin oral absorpsiyonu olmadığından intravenöz ya da intraperitoneal (deneysel) olarak uygulanması gerekmektedir. Dolaşıma katıldıktan sonra yüksek bir oranda (% 90) plazma proteinlerine bağlanarak taşınır. Hızlı bir şekilde dokulara diffüze olur. Sisplatinin metabolize olan miktarının % 90' nın dan fazlası ise idrar ile itrah edilir (29, 30).

Sisplatinin hücre içerisine giriş mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. İlk çalışmalar sisplatinin hücreye temel olarak pasif difüzyonla girdiğini göstermiştir çünkü alımının 60 dakikadan daha uzun bir süre boyunca lineer bir şekilde ilerlediği bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise bakır transport proteini olan “copper transporter 1” (CTR1) ve “organik katyon taşıyıcıları” (OCT1 ve OCT2) ile sisplatinin hücre içine aktif olarak giriş yaptığı gösterilmiştir (31, 32). Sisplatin hücreye girdikten hemen sonra aktive olur ve üzerinde bulunan klorür atomları sitoplazmada su moleküllerinin etkisiyle yer değiştirir. Bu hidrolize olmuş madde, proteinler üzerindeki sülfhidril grupları ve nükleik asitler üzerindeki azot verici atomlar da dahil olmak üzere

herhangi bir nükleofil ile reaksiyona girebilecek kadar güçlü bir elektrofildir. Sisplatin kanser hücrelerinde pürin kalıntıları üzerindeki N7 reaktif merkezine bağlanır daha sonra deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına neden olarak hücre bölünmesini bloke eder ve apoptotik hücre ölümüne neden olur (15). Sisplatinin kan-beyin bariyerini geçemediği fakat dorsal kök ganglion (DKG) nöronları da dahil olmak üzere pek çok periferik dokuda kolayca tutunduğu bilinmektedir (33). Sisplatinin merkezi sinir sistemine penetrasyonunun sınırlı olduğu ifade edilmiştir. Nadir olmasına rağmen, sisplatinin MSS'deki nörotoksitesisi, örneğin posterior reversible ensefalopati sendromu (PRES), tıbbi literatürde iyi belgelenmiştir. DKG nöronlarının yanısıra medulla spinalis, testisler, karaciğer, akciğer, ve bağırsaklarda yüksek konsantrasyonda bulunarak bu organlarda toksisiteye ve fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır.

Kemoterapotik ajanların kullanımına bağlı olarak gelişen periferik nöropati prevalansı oldukça yüksektir. 2014 yılında yapılan bir araştırmaya göre bu oran yaklaşık olarak % 68 olarak bulunmuştur. Hatta kemoterapinin kesilmesinden 6 ay sonra bile bu oranın hala % 30 civarında olduğu rapor edilmiştir (34). Kenya'da yapılan bir araştırmaya göre ise sisplatin temelli periferik nöropati oranı yaklaşık olarak %83 oranında bulunmuştur. Bu araştırmada sisplatine maruz kalan 67 hastanın 56'sında nöropatik belirtilerin görüldüğü rapor edilmiştir (35).

### **2.1.1. Sisplatin kaynaklı periferik nöropatinin patofizyolojisi**

Kanser kemoterapisinde ciddi doz sınırlayıcı etkenlerden biri de periferik nöropatidir (36). Kemoterapi kaynaklı hasar yalnız dozun azaltılmasına ya da tedavinin durdurulmasına sebep olmaz, bunun yanında hastaların yaşam kalitesinde düşüşe neden olur (37, 38). Kemoterapi alan hastaların neredeyse %30-40 kadarında periferik nöropati meydana gelmiştir (39). Tedavinin kesilmesindeki en önemli sebeplerden birinin periferik nöropati olduğu bildirilmiştir ve genel olarak, sisplatin sebepli nöropati, 350 mg /m<sup>2</sup> üstünde kümülatif dozdan sonra oluşmaktadır ve hastaların %92 'sinde kümülatif 500-600 mg/m<sup>2</sup> sisplatin dozlarında karıncalanma hissi, uyuşma vb. nöropatik belirtiler görüldüğü rapor edilmiştir (40). Sisplatin kaynaklı gelişen periferik nöropatide, duyuşsal, motor, otonomik işlevler etkilenmektedir (40, 41). Periferik sinir hasarının duyuşsal belirtileri sensorimotor yoksunluklarda çeşitli fonksiyonel eksikliklere kadar farklılık göstermektedir (41). Platin ağırlıklı olarak duyuşsal aksonal periferik nöropati ile karakterize edilir, tipik olarak çorap ve eldiven tipi bir dağılımda

meydana gelir ve ilk önce daha uzun aksonlar etkilenir (42). Şiddetli vakalarda bu belirtiler duygusal algı kaybına kadar gelişebilir (43). Motor belirtiler güçsüzlük, yürüme ve dengede bozulma ve hareketlerde bozulmaya sebep olur. Duyusal semptomlara göre daha az olmakla birlikte motor bozukluk önemli fonksiyonel bozulmalara sebep olabilir (44). Bunun karşısında otonomik semptomlar daha az meydana gelir ve ortostatik hipotansiyon, kabızlık, değişen cinsel veya idrar fonksiyonu kapsayabilir. Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati'de patofizyolojik süreçler çok faktörlüdür. Oksidatif stres, inflamasyon, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, DNA hasarı, apoptik mekanizmalar, farklılaşmış kalsiyum homeostazı, akson dejenerasyonu ve zarın yeniden şekil alması gibi durumları barındırmaktadır (45).

Sisplatin kaynaklı nöropatinin; oksidatif hasar, inflamasyon, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu, DNA hasarı ve sinir sistemi hücrelerinin apoptozu yoluyla meydana geldiği rapor edilmiştir (46). Sisplatin, nöronal ve non-nöronal hücrelere girdikten sonra nükleer ve mitokondriyal DNA'ya bağlanarak DNA eklentileri 'adduct' oluşturmaktadır. Bu DNA eklentileri anormal protein sentezine yol açarak katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim aktivitelerini düşürdüğü bilinmektedir. Mitokondriyal fizyolojik fonksiyon bozulması, hücre metabolizmasının azalmasına, artan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine ve oksidatif strese yol açar (47). Artmış olan hücre içi ROS seviyesi antioksidan savunmanın yetersiz kalmasına neden olur (48). Bu da periferik sinirlerin hücre iskeletinin demiyelinizasyonuna ve sinyal iletim süreçlerinin hassaslaşmasına neden olur. Sonuç olarak sisplatin enzim, protein ve lipitlere zarar vererek periferik sinirlerde yapısal değişiklikleri indükleyerek periferik nöropati gelişimine katkıda bulunurlar (49).

Sisplatin kullanımına bağlı olarak gelişen periferik nöropatiye nöroinflamatuvar bir süreç de eşlik eder. Nöropati meydana geldiğinde, Schwann hücrelerinin ve yerleşik makrofajların aktivasyonuna yanıt olarak hasar görmüş sinirlerin etrafında çok sayıda inflamatuvar hücre birikir ve Tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ), interlekin 6 (IL-6), IL-1 $\beta$ , IL-8 gibi çok sayıda sitokin ve kemokin üretilir. Bu salgılanan inflamatuvar sitokinler bazı iyon kanallarının ekspresyon seviyelerini up regüle ederek veya mekanik ve termal hiperaljezide yer alan nosiseptif nöronları doğrudan etkileyerek nöropatik semptomların gelişmesine sebep olduğu rapor edilmiştir (50).

### 2.1.2. Dorsal kök ganglionları

Dorsal kök gangliyonları (DKG), yakın ilişki içindeki duyu nöronları ve satellit glial hücrelerin kümeleridir. Periferik sinir sisteminde kan beyin bariyerinin olmaması nedeniyle özellikle farklı köken ve yoğunluktaki strese karşı oldukça savunmasızdırlar. Periferik nöropati, heterojen nedenlerden dolayı artan prevalansı ile erişkinlerde en sık görülen periferik sinir sistemi bozukluğudur. Bu durumdan mustarip hastalar için etkili bir tedavi mevcut olmadığından hastalık mekanizmalarını aydınlatmak ve nöroprotektif tedaviler için yeni hedefleri belirlemek adına moleküler yolların tanımlanması zorunludur. Dorsal kök gangliyon (DKG) nöronları, periferik sistemden orijin alan somatik ve visseral duysal bilgileri spinal korda taşıyan pseudo-unipolar tipteki primer duysal nöronlardır. Nosiseptif nöronların hücre gövdeleri dorsal kök gangliyonlarda bulunur ve bu nöronların hücre gövdesi boyutu, nörokimyasal fenotip, fonksiyonel fizyolojik özellikler, periferik dalların miyelinasyon derecesi ve spinal dorsal boynuzdaki merkezi sonlanma modeline dayalı olarak yıllar boyunca farklı şekilde sınıflandırmaları önerilmiştir (51). Bu sınıflandırmalardan birisi nöronların çaplarına göre olan sınıflandırmadır. Bu sınıflandırmaya göre nöronlar küçük çaplı ve büyük çaplı olmak üzere ikiye ayrılmıştır. DKG'de küçük çaplı (çapı<20 µm) hücre gövdesine sahip nöronlar genellikle miyelinsiz C liflerine sahiptir. Bu nöronlar ağrı, sıcaklık ve kaşınma gibi duysal bilgilerin spinal kordun nosiseptif laminasında (lamina I-II) taşınmasından sorumludur (52). Büyük çaplı DKG nöronları (çapı>25 µm) genellikle A alfa ve A beta liflerine sahiptir, bu nöronlar genel olarak kasların duyu sinyallerinin iletilmesinden sorumludur (53). Yani büyük çaplı DKG nöronları miyelinli lifleri yoluyla periferik sistemden spinal kordun lamina III-V'sine nosiseptif olmayan (non-nosiseptive) sinyalleri iletir (52). Burada bulunan nosiseptif nöronların cisplatin maruziyetinden sonra hasarlanması periferik nöropati gelişiminin en temel sebeplerinden birisini oluşturmaktadır.

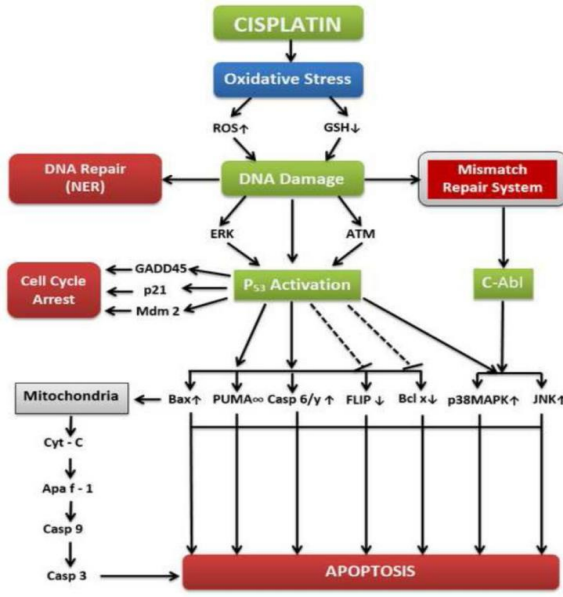
Cisplatin, kemoterapik bir ajandır ve kanser çeşitlerinin tedavisinde kullanılır ancak belirli yan etkileri sebebiyle kullanımı sınırlıdır. Bu yan etkiler, reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi ve sinir hücrelerinin ölümü olarak belirtilebilir. Bu sebeple de cisplatin kaynaklı  $Ca^{2+}$  girişi kanser hücrelerinde mitokondriyal oksidatif stresin ve hücre ölümünün sebebi olabileceği belirtilir (54).

Sisplatinin klinik kullanımı, doğal nefrotoksisite sebebiyle kısıtlıdır ve bu nefrotoksisitenin patogenezi karışıktır, tam aydınlığa ulaşamamıştır. Sisplatinin sebep olduğu böbrek hasarını engellemek için etkili ilaçların araştırılmasına ihtiyaç vardır. Berberin, resveratrol gibi doğal bileşikler sisplatin kaynaklı nefrotoksisite tedavisi için kullanılmaktadır (55).

Sisplatinin tedavisi ile farklı hücrel tepkiler tetiklenir ve bununla eş olarak sitotoksik etkilerini DNA'da zincirler arası, zincir içi çapraz bağlantılar yaparak ortaya çıkarır. Tümör hücreleri, genellikle sisplatin kaynaklı lezyonları düzelterek tolerans mekanizmaları geliştirir ve ya hasarı düzeltmeye çalışır. Çeşitli çalışmalar, sisplatin tedavisiyle ilgili ana kısıtlamaları anlamaya özen gösterdi. Şimdiye dek kesin bir çözüm bulunmadı. Bu sebeple, platin tedavisinden yarar görececek şahısları seçmek için daha geniş yelpazeli moleküler ve genetik profiline ihtiyaç duyar (56).

Şu ana kadar geliştirilen en etkili ilaç olan sisplatinin, kanser tedavisindeki rolü çok büyüktür ve analogu olan karboplatin, sisplatine göre daha üstün olmasına rağmen karboplatin ile alakalı trombositopeni, bilhassa büyüme faktörlerinin varlığı ya da yokluğundan bağımsız sadece hücrel destek yoluyla önlenmesi sebebiyle bir sorun olmaya devam etmektedir. İlerleyen süreçlerde sisplatinden kaynaklanan toksisiteyi azaltmak için daha farklı bileşiklere tedavide yer alacaktır (57). Fakat ilaç direnci ve kanserin ilerlemesi, yaygın olarak kullanılan platin temelli kemoterapinin önündeki en düşündürücü engeldir (58).

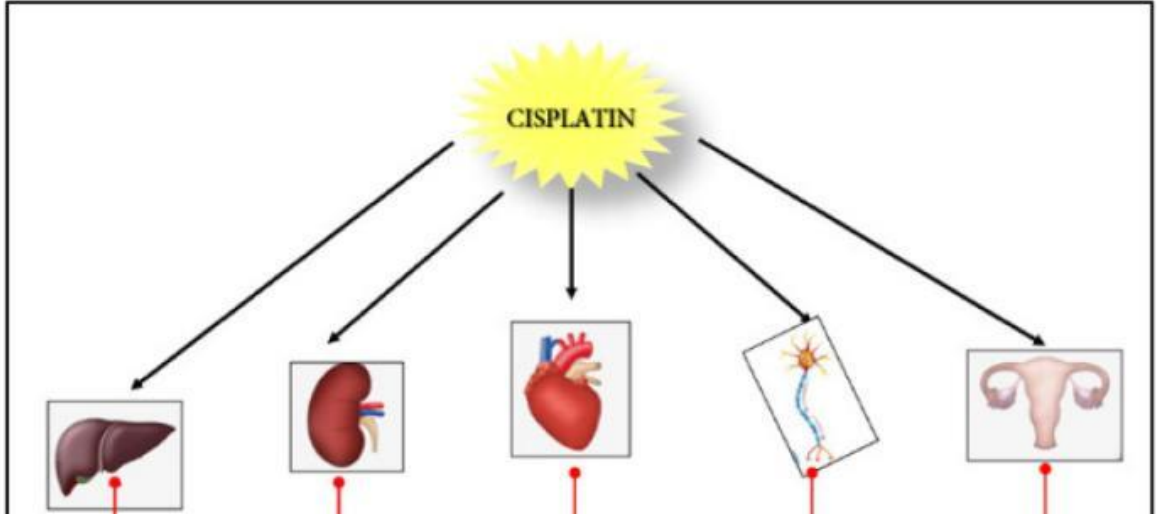
Oksiplatin, satraplatin benzeri stabilize ligandları farklılaştırılmış platin ilaçlar, sisplatine oranla değişik bir DNA eklenti profili doğurur. Bu, değişik bir terapötik görüntüyle sonuçlanır ve bu ajanlarla yapılan klinik deneyler, kolorektal ve prostat kanserlerinin yanında daha öncesinde tedavisi gerçekleşmiş yumurtalık ve germ hücreli kanser benzeri sisplatine doğuştan gelen ya da sonradan kazanılmış direnci olan hastalıklarda değerli antikanser özellikleri gösterir. Platin terapisiyle ilişkili etkinliğin artırılması amacıyla alternatif bir yaklaşım, platin ilaçlarının bir polimerle birleştirilmesi veya ajanın bir lipozom içinde kapsüllenmesi amacıyla tümör dağıtımını yükseltmektedir. Bu yeni dağıtımın formülasyonlarının ilk klinik olarak yapılmış deneyleri ümit vaat etmektedir ancak şimdilik platinin tümör hücresi DNA'sına dağıtımının arttığını doğrulamamıştır (59).



Şekil 4: Sisplatinin moleküler mekanizması

### 2.1.2.1. Kanser Kemoterapisinde Sisplatin ve Diğer Farmakolojik Doğal Ürünlerin Kombinasyonunun Etkileri

Kanser tedavisinde kullanılan sisplatin, karboplatin, ormaplatin, oksaliplatin, platin esaslı ilaçlardır ve birçok insan kanserinin tedavisinde etkili olarak kullanılır. Aynı zamanda kanserli hastaların büyük bir kısmı ilaç direnci yahut karaciğer ,böbrek, gastrointestinal sistem ve kardiyovasküler, sinir sistemini içermek üzere pek çok organdaki toksisite sebebiyle sık sık kendini göstermektedir. Çalışmalar sonucunda sisplatin ve doğal ürünlerin kombinasyon tedavisi yöntemleri ile alakalı kanser tedavisi amaçlı yaklaşımları belli bir miktarda başarı elde etmiştir. Doğal ürünler, farklı gen transkripsiyon faktörlerini düzenleyerek ve apoptoz nekroz yoluyla hücre ölümünü indükleyerek sisplatin sebepli organ hasarına karşı korur. Hidrojellerin kanser hücrelerini gözüne kestirdiği ve tümörün gelişmesini durdurmaya çalıştığı bildirilmiştir (60).



Şekil 5. Sisplatinin etkilediği yerler

### 2.1.2.2. Sisplatin Bazlı Tedavilerde Yeni Sonuçlar

Dünya çapında geniş yelpazede kullanılan kemoterapilerden biri sisplatinidir. Çok güçlü antikanserler ilaçlardan biri olan sisplatinin biyolojik aktivitesi 30 yıldan fazla bir süre önce şans eseri fark edildi ve o günden bu yana araştırma çabaları sisplatinin etki mekanizmasını belirtmeyi hedef aldı. Devam etmekte olan çalışmaların kanser kemoterapisinin düzeltilmesine yönelik yeni ilaçların ve kombinasyonların araştırılmasına ön ayak olması beklenen sisplatinin sistem tümörlerini iyileştirmek için etkili kullanılan güçlü bir antikanser olduğu belirtildi (61).

### 2.1.2.3. Sisplatin'in Neden Olduğu Sistemik Toksisitelerin Temeli Oksidatif Stres

Platinyumun inorganik bir karmaşası olan sisplatin 45 yılı aşkın süredir kullanılan kemoterapik tedavi amaçlı bir ilaçtır. Farmasötik bilimler ve tıptaki gelişmelere ve başka platin komplekslerinin aynı hedefli başarılı bir şekilde uygulanmasına karşın platin, halen pek çok kanserde tercih edilen tedavi basamaklarından ve onun yanı sıra platinin pek çok yan etkisi bilinmektedir. Bunlardan en önemlisi akut böbrek yetmezliğine sebep olan nefrotoksite, nörotoksite ve ototoksitedir (62). Mekanistik çalışmalar platin sebepli toksisitelerin ilerlemesinde rolü olan etkilere birinin oksidatif stres olduğunu göstermiştir. Oksidatif stresi düşürmek, bu sayede hücresel düzeyde doku hasarlarını, organ yetmezliğini ve apoptozu düşürmek için pek çok sayıda antioksidanın kullanılabileceği gerçeğini bilen birçok çalışma ,antioksidanları yardımcı

tedavi olarak araştırmayı bir öncelik olarak tanımlamıştır (62). (Antineoplastik ajanlar kanserli hücrelerde apoptozu indüklemek amacıyla reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturmaktadır ve üretilen bu ROS'lar normal hücre ve dokularda, kardiyotoksisite, nefrotoksisite , nörotoksisite benzeri farklı toksik olaylara sebebiyet vermektedir (63).

#### **2.1.2.4. Sisplatinin Nöronal İnflamasyona Etkisi**

Omurilikte sisplatin sebepli nöroinflamasyona ait çok az bilgi bulunmaktadır fakat sisplatin kaynaklı periferel nöropatiyle alakalı olarak Park ve arkadaşları, sisplatin ile iyileştirilen farelerde immünohistokimyasal olarak astrosit veyahut mikroglia aktivasyon durumlarında hiçbir değişlik meydana gelmeyecek fakat DKG 'de aktiveştirilmiş transkripsiyon faktörü 3 'te ele alınabilecek düzeyde artışa sebep olacaktır (64). Sisplatin bağışıklık sisteminin üstünde, mikroglialarda ve periferel nöronlarda birkaç değişliğe sebep olabilmektedir. Sisplatin, bağışıklık hücrelerinin aktiveşmesini gerçekteştirerek, proinflamatuvar sitokinlerin dağılmasını ve bağışıklık hücrelerinin iyon kanallarında fonksiyon bozukluklarına sebep olarak bağışıklık hücrelerinin fonksiyonlarının değişlik göstermesine sebep olur. Mikroglialar aktif olduğunda TNF -a 'nın serbestleşmesine sebep olur ve bu durum bağışıklık sistemi hücrelerinin aktivasyonuna sebep olur . Sisplatin hem bağışıklık sisteminin üzerinde hem de mikroglialar da gerçekteşen bu değişlikler ile interlökin salınımına, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktiveşmesine ve inflamasyona neden olmaktadır Sonuç olarak tüm bu etkiler nöronal inflamasyona sebep olmaktadır (40).

#### **2.2. Flavonoidler**

Platin bazlı yeni anti-kanser ilaçları geliştirmek için çok çaba harcanmasına rağmen, şimdiye dek dünya çapında klinik bir uygulamaya ulaşılamamıştır. Bundan dolayı platin ajanların çeşitli stratejiler ile toksisitesinin azaltılması için çok fazla çalışma yapılmaktadır. Bu yüzden son yıllarda sisplatinle ilgili yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunun sisplatinle kombine tedavi seçenekleri ile sisplatinin yan etkilerini azaltmak üzerine olduğu görülmektedir. Farklı etki mekanizmaları ile anti-tümoral aktiviteye sahip olduğu bulunan doğal bileşiklerin; sisplatin ile kombine kullanılarak bir yandan anti-tümörel etkinliği arttırıp diğer yandan sisplatin toksisitesini azaltabilme potansiyeli bulunmasından dolayı bu bileşikler hem deneysel hem de klinik uygulamalarda önemli bir yere sahiptir.

Bitkisel besinlerin diyetle fazla bulunmasının kronik hastalık görülme olasılığını azalttığı bilinmektedir. Etki mekanizması tam olarak bilinmese de son zamanlarda bilim dünyası, dikkatini ikincil metabolit sınıfa odaklama kararı verdi. Özellikle turunçgil flavonoidlerinin özelliklerinin çoğunun kan ve mikrovasküler endotel hücreleri etkisi altına aldığı görülür ve turunçgil flavonoidlerinin biyolojik etkisinin iki temel araştırma konusunun iltihaplanma ve kanser olması yanıtıcı değildir. Hayvan çalışmaları flavonoidlerin kardiyovasküler hastalıklara ve birkaç kanser türlerine karşı olabilecek koruyucu etkilerini göstermektedir. Turunçgil flavonoidlerinin farmakolojik etkinliklerinin çoğu bu bileşiklerin hücre aktivasyonunda bulunan enzimleri durdurma yetenekleriyle alakalı olabilir. Kanseri kontrol altına alma, girişimleri baskılama, bloke etme ve dönüştürücü ajanların kullanımını da içeren çeşitli araçları bulundurur. Bastırıcı ajanlar, prokarsinogenlerden yeni kanserlerin meydana gelmesini engeller ve bloke eden ajanlar kanserojen bileşiklerin kritik başlangıç bölgelerine ulaşmasını durdururken dönüştürme ajanları kanserojen bileşenlerin daha az toksik materyallere dönüşmesini kolaylaştırma veya biyolojik etkilerini durdurma işlevi görür. Bazı çalışmalar düzenli flavonoid alımının kalp damar hastalıklarındaki riski azalttığını gösterir, koroner kalp hastalığında koruyucu etkisi görülen flavonoidlerin etkileri antitrombotik anti-iskemik antioksidan ve vazorelaksandır. Turunçgil flavonoidlerinin antiinflamatuvar, antioksidan özelliği, çeşitli dejeneratif hastalıklara karşı etki gösterir (65).

### **2.2.1. Flavonoidler ve Kanserin Önlenmesi**

Flavonoidlerin alt sınıfları; flavonoller, flavonlor, flavanonlar, flavan-3-oller, antosiyanidinler ve izoflavonlardır. Araştırmalar flavonoidlerin diyet ile vücuda alınmasının, meme, kolon, akciğer, prostat, pankreas tümörleri gibi rahatsızlıklara karşı hastalık riskini azalttığını ifade etmektedir (50). Fakat bazı çalışmalar da bunun tam tersini göstermektedir. Sonuç olarak flavonoidlerin kanseri önlenmesi hakkında daha kesin sonuçlar elde etmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (66).

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda, farklı kronik hastalıkları tedavi etmek için doğal ürünler tercih edilmektedir. Pek çok ülkenin, bilhassa gelişmekte olan ülkelerin, ilaçlar için geleneksel doğal ürünlere güven duyduğu bildirilmiştir (67). Doğal ürünlerin kullanımının artması, artan kronik hastalık vakaları nedeniyledir. Farmasötik bakış açısından, bitkisel maddeler, iltihaplanma, kanser, metabolik ve dejeneratif hastalıkları

da içermek üzere kronik hastalıklarda pek çok süreci düzenleme özelliği göstermiştir (68).

Sinir sistemi, kalp rahatsızlıkları, şeker hastalığı, osteoartrit, obezite ve kanser türleri çok çeşitli kronik rahatsızlıklar artık uygun fiyatlı bitkisel ilaçlarla tedavi edilmektedir. Sentetik ilaçlar oldukça pahalı ve maliyetli olduğundan dolayı, gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde bulaşıcı özellik göstermeyen hastalıkların iyileştirilmesinde uygun maliyetli ilaçların bulunması için araştırmalar yapılmıştır. Doğal yollarla elde edilen biyoaktif ilaçların altında yatan mekanizmaları keşfetmek için, sadece bilim dünyasına ve ilaç endüstrisine bulaşıcı özelliği olmayan hastalıkların tedavisi için yeni ilaç molekülleri keşfetme yolunda yeni ufuklar açmakla yetinmeyip, aynı zamanda kronik hastalıkların yönetimine yönelik farklı tedavi yolları için bilgi toplanmasına da yardım edecektir (69).

Diyet vücut düzeninin korunmasında önemli bir rol alır. Flavonoid bulunduran bitki ve baharatlar yüzlerce yıldır geleneksel tıpta büyük oranda kullanılır. Diyetimizin içerdiği flavanoller, çoğalma, farklılaşma, apoptoz, iltihaplanma, anjiyogenez, metastaz ve ilaç direncinin tersine çevrilmesi ile alakalı sinyal iletim yollarındaki değerli enzimleri ve reseptörleri düzenleyerek kanserin başlamasını, ilerlemesini önleyebilir ve gerilemesini sağlayabilir. Eldeki çalışmalara dayanarak fisetinin kanserli durumların önüne geçmesi ve iyileştirmesini tamamlayıcı bir ilaç haline gelebilecek bir potansiyele sahip olduğu görülmüştür (70).

### **2.3.Fisetinin yapısı ve temel özellikleri**

Fisetin (3,3' , 4', 7 - tetrahidroksiflavon ), özellikle çilekte bulunan (160 µg/g) suda çözülmeyen bir polifenolik bileşiktir (moleküler formül: C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>; moleküler ağırlık: 286.24 g/ mol ). Elma, yaban mersini, üzüm, hurma, kivi, soğan ve salatalık da fisetin içerir (71, 72).

#### **2.3.1. Fisetinin biyoaktif özellikleri**

Yapılan çalışmalar fisetin'in insan sağlığındaki biyolojik aktivitesini ve hastalığın önlenmesi, iyileştirilmesini, gelişmeleri hedeflemektedir. Pek çok araştırma, çilek ve bazı meyveleri bulunduran diyetlerin antioksidan etki gösterebileceğini ortaya çıkarmıştır. Bazı çalışmalar, fisetin'in 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-

bis(3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit diamonyum tuzu) serbest radikallerini yok eden antioksidan özelliklerini göstermiştir (73).

Ayrıca Basu ve ark. obeziteli yetişkinlerde dolaşımdaki antioksidan düzeyini, bilhassa plazma antioksidanını, plazma katalaz enzimini, glutatyon peroksidaz ve redüktaz enzimlerini, tam kan glutatyon konsantrasyonunu ve serum lipidlerini artırarak antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmiştir (74). Polifenollerin antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu genel olarak bilinmektedir. Fisetin'in, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-a) ile indüklenen HaCaT hücrelerinde proinflamatuvar sitokinler, interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) ve IL-6 üretimini etkili biçimde azalttığı bildirildi. Fisetin'in indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve siklooksijenaz-2 ekspresyonlarının yanı sıra NF- $\kappa$ B sinyal transdüksiyon aktivasyonunu doza bağlı olacak biçimde durdurduğu belirlendi (75).

NF- $\kappa$ B aktivasyonunun iltihaplanma ile ilişkili olduğu genel olarak bilinmektedir; bundan ötürü, doğal bileşiklerin NF- $\kappa$ B ile ilgili gen ekspresyonunu aşağı doğru düzenleme özelliği, bunların bir anti-inflamatuvar ajan olarak etkinliklerini gösterir. Pek çok araştırma, bitkisel ürünlerden, özellikle güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu öne atılan diyet polifenolik maddelerden antimikrobiyal ajanlar üretmek için bir strateji sağlar. Bir dizi araştırma, fisetin'in antimikrobiyal özelliğini göstermiştir. Fisetin, Gram-pozitif bakterileri özellikle *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) ATCC 19115 ve *Streptococcus suis*'i baskılar (76).

Birkaç çalışma, fisetin'in sadece kanser hücrelerinin gelişmesini ve ilerlemesini inhibe etmekle kalmayıp, aynı anda çoklu sinyal yolları yoluyla apoptozunu da indüklediğini belirtilmiştir. Kang ve ark. fisetin'in insan küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücre hattında (NCI-H460) mitokondriyal bağımlı yolak yoluyla apoptoza sebep olduğunu bildirdi. Fisetin'in kemik kaybındaki etkisi üzerine yapılan araştırmalar, kemik kaybına bağlı rahatsızlıkları yenmek için harika bir alternatif yol sağlayabilir. Kim ve ark. fisetin'in osteoprotektif potansiyelini kanıtlamıştır (77).

Birçok in vitro ve in vivo çalışmadan sağlanan veriler, yenilebilir bitkilerden fisetin tüketiminin vazorelaksant aktivite yoluyla hipertansiyonla alakalı kalp hastalıklarının oluşumunun durdurulması ile alakadar olduğunu belirtmektedir (78, 79).

### **2.3.1.2. Fisetin'in Kronik Hastalıklar Üzerindeki Etkisi**

Diyabet, kardiyovasküler rahatsızlıklar, nörolojik rahatsızlıklar, obezite, immünolojik hastalıklar gibi yaşamı tehlike altına alan durumlar kronik inflamasyona sebep olabilir. Bu sebeple kalıcı inflamasyonun durdurulması, inflamasyonla alakalı kronik hastalık riskini düşürecektir. İnflamasyon sonucu oluşan hastalıklar, yan etki göstermeyen kronik tedavi ister. Geleneksel ilaçların kullanımı ve sınırlı beslenme insanlar tarafından değişik kronik hastalıkları engellemek ya da iyileştirmek için uzun sürelerdir kullanılmaktadır. Meyvelerde, sebzelerde, baklagillerde, tahıllarda, liflerde görülen biyoaktif diyet maddeleri ve birkaç baharatın, inflamatuvar özellikleri ve kronik inflamasyonla alakalı değişik kronik rahatsızlıkları durdurma ihtimali olduğu belirtilmiştir. Fisetin(3,3',4',7-tetrahidroksiflavon), pek çok meyvede ve sebze bulunan bir flavonoiddir. Anti-inflamatuvar, antioksidan, antitümörejenik, anti-anjiyogenik, nöroprotektif, kardiyoprotektif, anti-diyabetik etkiler gösterir (80).

### **2.3.1.3. Fisetin'in Yaşam Süresi Üzerine Etkisi**

Yaşlılık, hasar almış DNA'nın replikasyonu engellemek için stresli hücrelerde etki gösteren tümör baskılayıcı mekanizmadır. Yaşlanan hücreler, genetik ve farmakolojik yaklaşımlar ile yaşlanmaya ve yaşa bağımlı hastalıklara sebep olur. Doğal bir ürün olan fisetin, fare ve insan dokusunda senoterapötik özelliğe sahiptir (81).

### **2.3.1.4. Fisetin'in Nörolojik bozuklukların Tedavisindeki Rolü**

Önemli bir sağlık yükü olan nörodejeneratif bozukluklar, yaşam kalitesini düşüren etkiye sahiptir. Dünya nüfusunun artışıyla birlikte bu rahatsızlığın artışı meydana gelmektedir. Son yıllarda fisetin, nörodavranışsal ve zihinsel anormallikleri konu alan potansiyel mucize moleküllerden biri olarak meydana çıktı. Pek çok meyvede bulunan fisetin aynı zamanda sebzelerde de bulunur ve alzheimer, vasküler demans ve de şizofreni gibi nörodejeneratif rahatsızlıkların klinik öncesi modellerinde sağlık bakımından çeşitli yararlar meydana çıkarmıştır [81].

Parkinson hastalığı, ALS, Huntington hastalığı, inme, travmatik beyin hasarı aynı zamanda yaş ilerlemesiyle ortaya çıkan değişiklikler üzerinde fisetin olumlu etkilerine rastlanmıştır [82]. Ayrıca fisetin sepsis ile alakalı ensefalopati görülen sıçanlarda mitofajiyi aktifleştirerek nöroinflamasyonu inhibe edip bilişsel bozukluğu düzelttiği biliniyor [83].

### 2.3.1.5. Fisetin'in Kanser Üzerindeki Rolü

Tümör içi ve tümörler arasındaki heterojenlik sebebiyle ilaca direnç gösteren kanserlerin, farmasötik olarak hedef alınmasının zor olduğu gitgide daha anlaşılır duruma geliyor. Doğal yollarla üretilen biyoaktif bileşikler, yaygın kapsamlı, düzeni olmayan onkogenik hücre sinyal yollarını düzenleyerek alanında benzersiz yeteneğe sahiptir. Fisetinin ayrıca tümör taşıyan fareler üzerinde, kanser hücrelerinin metastatik yayılmasını durdurduğu belirtilmiştir [84].

Nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, osteoartrit, ve kanser türlerinin artık uygun fiyatlı bitkisel ürünlerle tedavi edildiği görüldü. Sentetik ilaçların maliyeti çok olduğu için gelişmekte olan ülkelerde bulaşıcı olmayan hastalıkların tedavisi için çaba sarf edilmektedir. Fisetin flavonoidi, polifenolik bir maddedir ve hücre bölünmesi anjiyogenez, metastaz, oksidatif stres gibi çoklu sinyal yollarını durduran biyoaktif fitokimyasallara aittir. Elde edilen kanıtlar, fisetin farklı insan malignitelerinin önüne geçilmesi ve düzeltilmesinde yararlı olabileceği düşündürmektedir. Karaciğer, meme, yumurtalık ve diğer kanser çeşitlerinin önlenmesi ya da tedavi edilmesi amacıyla oral uygulamadan sonra fisetin biyoyararlanımını yükseltmek için emek verilmektedir [69].

Hastalığın teşhisi ve tedavisine yönelik sağlık merkezlerindeki ilerlemelere karşın kanser meydana gelen ölümlerin en büyük nedeni olmaya devam ediyor. Kanserin önüne geçmek tedavi etmekten daha önemli olduğu için, kanserle mücadele edebilmek için farklı yollar gerekmektedir.

Son yıllarda heterojen insan karsinomlarında fitokimyasalların adjuvan kemoterapötik ajanlar olarak kullanımı yaygın bir artışa gitmiştir. Flavonoidler, maligniteler, bağışıklık sistemi rahatsızlıkları, kalp rahatsızlıkları, sinirsel bozukluklar üzerinde olumlu etkiye sahip fitokimyasallar olarak etki göstermiştir.

Mevcut çalışmalar, fisetin ve quercetin'in biyoaktif özelliğine, bilhassa da kanser sinyal yolunun düzenlenmesine ilişkin çalışmaların pek çoğunun birleştirilmesi için çabalamaktadır. Bir de, etkili tedavi yöntemlerinin tasarlanmasında yardımcı olabilecek kanser başlangıç yolları ve ilerlemesinin anlaşılması için quercetin ve fisetin etkisinin belirtilmesi daha çok değer kazanmıştır [85].

Diyet kaynaklı antioksidanlar, kanserin kimyasal yolla engellenmesi ya da durdurulmasındaki etkisi bakımından giderek daha çok araştırılıyor. Yaygın olarak bitkisel antioksidanlar, herhangi olumsuz bir etki görülmesizin daha uzun zaman tüketilebildikleri için ilgi görürler [86].

Doğal bitkisel bir çözüm sunan fisetin, farklı hastalıklarda geniş yelpazede araştırılan çok sayıda biyolojik özelliğe sahiptir. Kanser denince fisetin, hücre büyümesini durdurmak, programlanmış hücre ölümünü tehdit etmek, yeni kan damarları oluşumunu bitirmek, oksidatif strese karşı koymak, hücre göçünü baskılamak gibi pek çok biyolojik etkiye sahiptir. Bunun yanı sıra fisetinin kemoterapinin etkilerini artırma özelliği de vardır. Fisetinin kanser düşmanı özelliği, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK), nükleer faktör-kappa B (NF-kB), PI3K /Akt içermek üzere farklı molekül ve sinyal yollarına atfedilebilir. Yani fisetin, antikanser tedavisinde iyileştirici bir ajan olarak kabul edilebilir [87].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul (GAUN-HADYEK) başkanlığının 2023/19 karar ve 312 protokol numarası ile onayının ardından, etik yönergelere uygun olarak Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (GAUNDAM) gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Deney Hayvanları ve grupların oluşturulması

Etik kurul onayı alındıktan sonra 8-10 haftalık yaşta,  $250 \pm 20$  g ağırlığında 42 adet Wistar Albino erkek sıçan Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilerek bu çalışma için feda edilmiştir. Çalışmada seçilen bu hayvan sayısı örneklemin evreni temsil etmesi adına G\*Power analizi ile belirlendi (21 Aralık 2023). Yapılan analiz sonucunda total hayvan sayısı 42 olarak belirlendi (etki büyüklüğü 0,46, Df=40 ve gerçek güç=0,9510 (kritik t=1,684,  $\alpha$  err prob=0,05,  $1-\beta$  err prob=0,95)). Daha sonra erkek wistar sıçanların kuyrukları farklı renklerle işaretlenerek etiketlenmiştir. Daha sonra çalışma dizaynını bilmeyen çalışmaya kör gönüllü bir araştırmacı tarafından hayvanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde basit rastgele atama yöntemi ile 6 gruba ayrılmıştır. Oluşturulmuş yeni gruplardaki hayvanların ağırlıkları tartılarak kaydedilmiştir. Tek yönlü varyans analizi ile hayvan ağırlıkları açısından gruplar arasında bir farklılık olmadığı tespit edilmiş olup tanımlayıcı istatistiksel özellikleri tablo 1 de verilmiştir. Daha sonra hayvanlar birbirlerine alışmaları için bir hafta süresince yeni kafeslerinde herhangi bir uygulamaya maruz bırakılmadan bekletilmiştir.

#### 3.2. Hayvanların beslenmesi ve barındırma koşulları

Tüm hayvanlar yatak olarak mısır koçanı ile örtülü standart polikarbon kafeslerde tutuldu. Sıçanlara (DSA Tarım Ürünleri A.Ş., Yahşihan/Kırıkkale, Türkiye) temin edilen ticari pelet yem *ad libitum* olarak verildi ve içme suyu herhangi bir ek işleme tabi tutulmadan otomatik sistemle sağlandı. Tüm hayvanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyoduna sahip, sabit sıcaklık  $21 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  ve nem %45-50 olan otomatik olarak sabit sıcaklığın korunduğu klimalı odalardaki kafeslerde tutuldu.

### **3.3. İlaçlar ve Kimyasallar**

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Santa Cruz Biotechnology'den (Santa Cruz, California, ABD) temin edildi. Fisetin, fizyolojik salin solusyonu ile seyreltilen %0,1 dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözdürüldü [88]. Hayvanlara verilen DMSO hacminin %10'u geçmemesine dikkat edildi. Fisetin beş haftalık süre boyunca hergün saat 16-17 arasında intragastrik gavaj iğnesi kullanılarak uygulandı. Sisplatin ise fizyolojik salin içerisinde çözdürüldü. Deney süresince her hafta pazartesi günleri, haftada 1 defa tek doz olarak saat 10 gibi hayvanlara intraperitoneal olarak uygulandı. Tüm solusyonlar hayvanlara ilaç uygulamaları yapılmadan önce taze olarak hazırlandı.

### **3.4. Deney Protokolü**

Gruplar oluşturulduktan sonra, deney boyunca haftada bir defa ve deneyler tamamlandıktan sonra gruplardaki bütün hayvanların ağırlıkları ölçüldü. 42 adet sıçanın 21 tanesine nöropatiyi indüklemek amacıyla sisplatin uygulandı. Sisplatinin uygulanma dozu ve süresi literatürdeki çalışmalar dikkate alınarak belirlendi. Fisetin dozu da literatürdeki çalışmalar baz alınarak belirlendi. Daha önce yapılan bir çalışmada Parkinson hayvan modelinde fisetin nöroprotektif etkinliğini göstermek için başlangıç dozu olarak 10 mg/kg seçilmiştir [89]. Aslında fisetin literatürde farklı dozlarda kullanıldığı çalışmalarda bulunmaktadır. Fakat bahsedilen çalışma sonunda bu dozun motor koordinasyonu geliştirdiği, antioksidan kapasitesiyi önemli ölçüde yükselttiği tespit edilmiştir. Ayrıca, doza bağlı etkisinin olup olmadığını değerlendirmek için de ikincil doz olarak 20 mg/kg seçildiği bildirilmiştir. Benzer bir yaklaşımı izleyerek bizde deneysel grup dizaynını ve fisetin dozu seçimini bu çalışmaya göre literatüre uygun şekilde oluşturduk.

**Tablo 1:**Deney grupları

<b>GRUPLAR</b>	<b>n</b>
<b>Sham Grubu:</b> Fizyolojik tuzlu su çözeltisi beş hafta boyunca haftada bir kez intraperitoneal olarak uygulandı. Ayrıca, %0,1 DMSO 5 hafta boyunca her gün intragastrik olarak verildi [90].	7
<b>Nöropati grubu:</b> Tek doz sisplatin (3 mg/kg) 5 hafta boyunca haftada bir kez intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı[91]. 5 hafta süresince haftada bir kere bir doz sisplatin(3mg/kg)intraperitoneal (i.p) [91].	7
<b>Tedavi grubu (10 mg /kg):</b> 5 hafta boyunca haftada bir kere tek doz sisplatin (3 mg/kg) ve 5 hafta boyunca her gün intragastrik olarak fisetin (10 mg/kg) şeklinde verildi[89].	7
<b>Tedavi grubu (20 mg/kg):</b> 5 hafta boyunca haftada bir kere, tek doz sisplatin (3 mg/kg) intraperitoneal [91]. ve 5 hafta boyunca her gün intragastrik olarak fisetin (20 mg/kg) uygulandı [89].	7
<b>Fisetin grubu: (20 mg/kg):</b> 5 hafta boyunca her gün intragastrik olarak fisetin (20 mg/kg) verildi [89].	7
<b>Fisetin Grubu(10 mg/kg):</b> 5 hafta boyunca her gün intragastrik olarak fisetin (10 mg/kg) uygulandı [89].	7
<b>Kullanılacak toplam hayvan sayısı</b>	42

### **3.5. İn Vivo Davranış Deneyleri**

Sisplatin uygulamasından sonra hayvanlarda davranış deneylerinde ne gibi değişiklikler görüldüğünün anlaşılması ve fisetinin bu davranış değişikliklerine ne oranda ve nasıl bir etkisinin olduğunun tespiti amacıyla için sıçanlar bazı davranış deneylerine tabii tutulmuştur. Bu amaç doğrultusunda hayvanların motor performansını değerlendirmek için rotarod testi, duyu sisteminin nasıl etkilendiğini değerlendirmek için tail flick ve hot/cold plate testleri, taktil sensasyonun ve mekanik ağrı eşiğinin değerlendirildiği Von Frey deneyi yapılmıştır. Tüm deneyler hayvanların ortama ve cihaza alıştırmalarıyla stres oluşturulmadan, gürültüsüz, günün aynı saatinde, gün ışığı ile (ışıklar açılmadan), aynı araştırmacı tarafından yapılmıştır. Davranış deneyleri günde bir deney yapılacak şekilde planlanmış deneyler arasında 24 saat ara verilmiştir.

#### **3.5.1. Motor Performansın Değerlendirilmesi**

##### **3.5.1.1. Rota Rod**

Deney hayvanlarında motor performansın değerlendirilmesi için rotarod cihazı kullanıldı (Ugo Basile, Comerio, İtalya). Hayvanlar deney odasına alındıktan sonra 5 rpm hızdan kademeli olarak artarak 5 dakika sürede 40 rpm hıza ulaşan dönen bir silindire bırakılarak alıştırma denemesi yaptırıldı. Bu alıştırma denemesinden sonra aynı ramp protokolü kullanılarak gerçek deneyler yapıldı [92, 93]. Hayvanlarda 3 deneme yapıldı, denemeler arasında 5 dakika ara verildi. Her hayvan denemesinden sonra ortam %70'lik etanol ile silinerek temizlendi. Hayvanların silindir üzerinde kaldığı süre kaydedildi. 3 denemenin ortalaması alınarak rod üzerinde kalma süreleri belirlendi. Rotarod testi sabah (09:00-12:00) ve ışıklar kapalıyken gerçekleştirildi. Bu deney için cut-off süresi 300 sn olarak belirlendi.



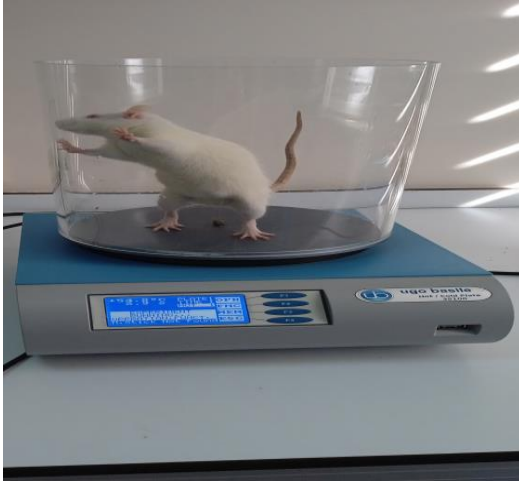
**Resim 1:**Rotarod cihazında çekilmiştir.

### **3.5.2. Duysal sistemin değerlendirilmesi**

Hayvanların duysal sistemlerinin değerlendirilmesi için nosiseptif deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda termal uyanların etkilerini test etmek için hot/cold plate ve duysal uyanların santral etkilerini değerlendirmek için tail flick deneyleri yapılmıştır.

#### **3.5.2.1. Hot Plate deneyi**

Hot plate deneyinde cam ya da pleksiglas silindir ile kısıtlanan şeffaf bir silindir kullanılmaktadır (Model 35100, Ugo Basile, Comerio, Italy). Silindirin zemini 55°C sıcaklığa ayarlandıktan sonra, silindir içerisine hayvan bırakılır. Silindire bırakıldığı anda eş zamanlı olarak pedala basılarak cihazın kronometresi çalıştırılır. Hayvan ağrıyı hissettiği anda ayak yalama, zıplama, ayak çekme gibi stereotipik hareketlere sergiler ve bu hareketlerin görüldüğü anda tekrar pedala basılarak süre durdurulur. Bu şekilde hayvanların hot plate testindeki reaksiyon süreleri ölçüldü. Sıçanların normal tepki verme süresi 5 ile 20 saniye arasında değişmekle birlikte ayaklarında doku hasarı olmaması için genellikle 30 saniyeden fazla zemin üzerinde bırakılmamaya dikkat edildi (cut-off) [94, 95].



**Resim 2 :**Hot plate testi yapılırken çekilmiştir.

### 3.5.2.2. Cold Plate Testi

Bu test ile hayvanlarda soğuk allodini ve soğuk hiperaljezi durumları test edilmektedir (model 35100, Ugo Basile, Comerio, Italy). Literatürde 10 °C’de sıcaklıkta yapıldığında soğuk allodini, 4 °C’de sıcaklıkta yapıldığında ise soğuk hiperaljezi değerlendirmesi yapıldığı belirtilse de, bu çalışmada biz 10°C sıcaklıkta bu deneyi gerçekleştirdik [96]. Cold plate deneyinin yapılma prensibi hot plate testi ile birebir aynıdır. Cihaz 10 °C sıcaklığa ayarlandıktan sonra deneyler gerçekleştirilmiştir. Sıçanlarda doku hasarı gerçekleşmesin diye 50 saniyeden uzun zemin üstünde tutulmadı.



**Resim 3:**Cold plate testi yaparken çekilmiştir.

### 3.5.3. Ağrı Değerlendirilmesi

#### 3.5.3.1. Tail Flick Testi

Tail-flick testi sıçanlarda ve farelerde nosisepsiyonun değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan bir testtir ve hayvanlarda en sık kullanılan nosiseptif davranış testidir [97], ilk olarak 1941'de tanımlanmıştır. Standart yöntemde, radyant ısı kuyruğa odaklanır ve hayvanın kuyruğunu ışıktan uzağa fırlatmasına kadar geçen süre ölçülür. Bu kuyruk-flick gecikmesi, hayvanın nosiseptif duyarlılığının bir ölçüsü olarak bilinmektedir. Laboratuvarımızda Tail flick cihazında (Ugo Basile 37360 Comerio, İtalya) bulunan fotosensör alan üzerine sıçanın kuyruğunun distal 3-4 cm lik kısmı gelecek şekilde bırakıldı. Daha sonra fotosensör alandan yayılan termal ışıktan (235 mW/cm<sup>2</sup> ve 50°C) kaynaklanan ağrıyı hissettiğinde kuyruğunu geri çekene kadar gene süre ölçülerek kaydedildi. Hayvanda aşırı ağrının olmaması için süre 10 saniyeyle sınırlandırıldı [95]. Bu test, sıcak/soğuk plaka testinden bir gün sonra gerçekleştirildi.

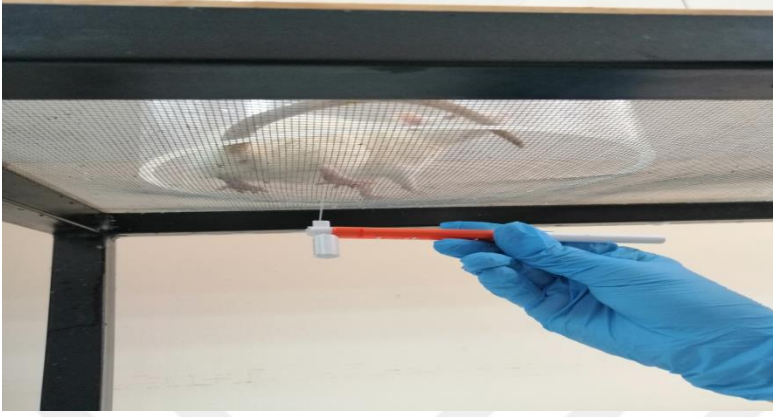


**Resim 4:** Tail flick ölçümü yapılırken çekilmiştir.

#### 3.5.3.2. Von Frey Filament Testi

Mekanik ağrı eşiğini belirlemek için kullanılır. Sıçanlar, pleksiglastan yapılmış ve delikli metal tel tabanla desteklenen bir aparatın içine bırakılarak öncelikle bu yeni alana alışmaları sağlandı. Her sıçanın arka ayağının orta plantar yüzeyindeki çekilme eşiğini değerlendirmek için mekanik bir uyarıcı olarak Von Frey filamentleri (0,4–15 g, logaritmik olarak artan sertlikte; Bioseb, Vitrolles, Fransa) kullanıldı. Hayvanların arka

ayak çekme tepkileri, her değerlendirme arasında en az 10 saniyelik bir dinlenme süresi olacak şekilde üç kez üst üste tekrarlandı. Mekanik ağrı eşiği, bu üç ölçümün ortalaması olarak belirlendi [98-100]. Bu test, tail flick testinden bir gün sonra gerçekleştirildi.



**Resim 5:** Von frey filamentleri uygulanırken çekilmiştir.



**Resim 6:** Von frey filamentleri

### 3.6. Elektrofizyolojik Deneyler

Davranış deneylerinin tamamlanmasının ardından, hayvanlara 10 mg/kg ksilazin ve 80 mg/kg ketamin kombinasyonu kullanılarak anestezi uygulandı. Hayvanların vücut sıcaklıkları rektal bir prob kullanılarak izlendi, anestezinin komplikasyonlarından birisi olan hipotermiye girmemeleri amacıyla da vücut sıcaklıkları bir ısıtma plakasıyla 36–37°C'de tutuldu. Her hayvanın sağ siyatik siniri, birbirinden 10 milimetre uzaklıktaki iki noktada (proksimal ve distal) (Powerlab 4/25 t-276 modelleri) bir hayvan stimulasyon

elektrodu (AD cihazı, ürün kodu: MLA0320) yardımıyla non invaziv bir şekilde uyarıldı. Femur shaftını palpe ettikten sonra bu noktanın distalinde biceps femoris kasının altındaki bölgenin uyarımı proksimal uyarı olarak kaydedildi. Daha sonra, distal latans süresini belirlemek için ilk uyarım bölgesinden 10 mm distale ikinci bir uyarım daha uygulandı. Siyatik sinirin doğru şekilde uyarıldığını anlamak için CMAP monitörize edilerek optimum görüntü elde edilene kadar uyarılma küçük oynamalarla devam ettirildi. Optimum görüntü elde edildiğinde uyarı verme sonlandırıldı. Artefaktlardan kaçınmak için bacak gergin olarak konumlandırıldıktan sonra zert bir zemine flaster yardımıyla tutturuldu, böylece bacağın bükülmesi dolayısıyla sinirin bükülmesinin önüne geçildi. Ayrıca yüzey elektrotları kullanarak, elektrotları standart anatomik dönüm noktalarına yerleştirilerek uygun yönelimin korunduğundan emin olundu. Bu da artefaktları azaltmaya yardımcı oldu. Ayrıca, anesteziyenin sona ermesinden sonra hayvanın bacağı siyatik sinirin seyri boyunca tıraş edildi ve artefaktları en aza indirmek için elektrotlar ile deri arasına jel uygulandı. Yüksek kaliteli elektrotların ve uygun sinyal işlemenin kullanılmasıyla, veri toplama sırasında olası herhangi bir parazit yada artefaktlardan kaçınıldı.

### **3.6.1. Sinir İleti Hızının ölçülmesi**

Proksimal ve distal bölgelerden verilen elektriksel uyarının frekansı 0,5 Hz'e ve süresi 0,1 ms'ye ayarlandı. Kayıt elektrodlarından negatif elektrot gastrocnemius kasının maksimum çapta olduğu yere, pozitif elektrot ise arka ayağın ikinci ve üçüncü parmakları arasındaki interosseöz kasa yerleştirildi. Referans elektrot ise diğer ekstremitelere yada kuyruğa yerleştirildi. Siyatik sinirin motor dalının iletim hızını belirlemek için, proksimal ve distal olmak üzere iki farklı noktadan uyarılmayla ortaya çıkan bileşik kas aksiyon potansiyelinin (CMAP) latans süreleri arasındaki fark, iki nokta arasındaki mesafeye bölünerek m/sn cinsinden hız hesaplandı. Bir diğer parametre olan CMAP amplitüdü; CMAP'IN baseline noktasından CMAP'ın yükselme fazının pik noktasına kadar olan yükseklik olarak (mV cinsinden) belirlendi. Proksimal noktadan uyarıldıktan sonra CMAP oluşuncaya kadar geçen süre ise latens süresi olarak kaydedildi. Sinir ileti hızı ölçülürken önemli parametreler ve değerleri şunlardır; range 20uV, low pass 2 kHz, High pass 0,3 Hz, anti alias; off, rate 40 k/s, powerlab 4/25 t-276 models, software labchart v8.1.16) [101]. Bu ölçümlerden sonra gruplar arasında bir farklılığın olup olmadığı değerlendirildi. Nöropati gelişen hayvanlarda latens süresinin uzaması, bileşik kas aksiyon potansiyeli amplitüdünün azalması ve sinir ileti

hızının yavaşlaması beklenir. Elektrofizyolojik ölçümler, Von Frey filament testinden bir gün sonra gerçekleştirildi.



**Resim 7:** Sinir ileti hızı ölçümleri sırasında çekilmiştir.

### **3.7. İmmunofloresan Boyama**

#### **3.7.1. Lazer Taramalı Konfokal mikroskopi**

Davranış deneyleri ve elektrofizyolojik iş paketi tamamlandıktan sonra sıçanlar servikal dislokasyon yoluyla ötanazi edildi. Siyatik sinirler hızlıca izole edilerek rezeke edildi. Daha sonra 4 °C'de %4 paraformaldehit içinde 2 saat boyunca muhafaza edildi. Sinir örnekleri dondurulmuş kesit için hazırlık olarak %30 sakaroz solüsyonunda kriyoprotekte edildi. Proksimal segment immünohistokimyasal değerlendirme için kullanıldı. Dondurulmuş sinirler koronal olarak 20-30 µm kalınlığında dilimlere ayrıldı ve poli-L-lizin (PLL) ile kaplanmış mikroskop slicelara yerleştirildi. Spesifik olmayan bloklama için, mikroskop slaytlarındaki kesitlere 1:20 oranında seyreltilmiş keçi serumu (ab7481, Abcam, Cambridge, İngiltere) uygulandı ve bir gece boyunca 4 °C'de inkübe edildi. Alternatif kesitler, miyelinli aksonları tespit etmek ve gruplar arasındaki miyelinleşmenin kapsamını veya bozulmasını ölçmek için Myelin Basic Protein/MBP'ye (1:100, AF4085; Affinity Biosciences) Tavşan poliklonal antikorunu ile inkübe edildi. Bir diğer alternatif kesit seti, nörofilament için bir belirteç olarak kullanılan fare poliklonal anti-nörofilament H (NF-200) antikorunu (1:50, NeuN Poliklonal Antikor, PA5-78639, Invitrogen) ile inkübe edilirken, aynı kesitler GFAP'ye (1:200, AF6040; Affinity Biosciences) karşı Tavşan poliklonal antikorunu ile 4 °C'de 24 saat boyunca ayrı ayrı 0,1% Triton X-100 (Sigma X100) içeren fosfat tamponlu salin

(PBS) içinde çift boyandı.Slaytlar üç kez PBS ile durulandı ve ardından ikincil bir antikor (anti-MBP ve anti-GFAP için; Keçi anti-Fare IgG (H+L) Süperklonal™ İkincil Antikoru, Alexa Fluor™ 488 [1:500, A28175, invitrogen] ve anti-NF200 için; Alexa Fluor 647-konjuge eşek anti-tavşan antikorunu [1:500, ab150075 Abcam) ile 4 °C'de 2 saat inkübe edildi. PBS ile üç ek yıkamadan sonra, slaytlara Fluoro-KEEPER anti-solma reaktifi (Nacalai Tesque, Kyoto, Japonya) kullanılarak lamel camları yapıştırıldı. Ayrıca, spesifik olmayan bulguları ortadan kaldırmak için gerekli maruz kalma süresini belirlemek amacıyla slaytları negatif kontrol için yürüttük. Bu slaytları inceledik ve değerlendirdik ve görüntüler Carl Zeiss LSM 900 konfokal lazer mikroskobu kullanılarak elde edildi. Görüntüler Zen yazılımı (Black Edition ve Blue 3.0, Zeiss) ile analiz edildi. Negatif kontroller primer antikorları çıkararak hazırlandı (veriler gösterilmemiştir). Dışa aktarılan görüntüler grafikleri elde etmek için Adobe Illustrator yazılımıyla işlendi.

### **3.8. İstatistiksel Analiz**

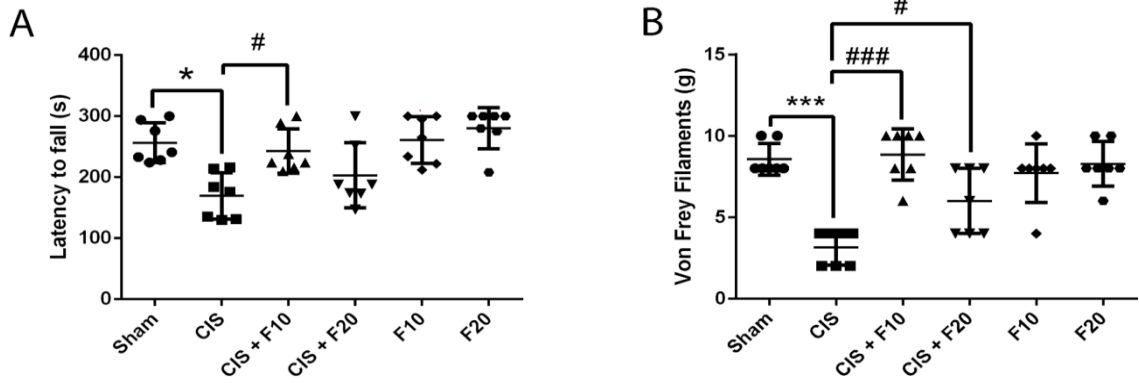
Bu çalışmada istatistiksel analiz yapmak için Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paket (SPSS) Sürüm 23.0 (SPSS Inc., Chicago, ABD) paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki anlamlılık Tek Yönlü ANOVA ile test edildi ve ortalamalar arasındaki farklar Tukey post hoc ile değerlendirildi. Verilerin normallik analizinde Shapiro-Wilk kullanıldı. Varyansların homojenliği bağımsız örneklem t testi ile test edildi.  $P < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (iki kuyruklu). Her faktörün açıkladığı varyasyon eta kare ve kareler toplamı kullanılarak tahmin edildi. Derecelendirme küçük (0,01), orta (0,06) ve büyük (0,14) olarak sınıflandırıldı. Sayısal değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler grup ortalaması standart sapması olarak ifade edildi. İki grubu karşılaştırmak için Student t-testi (parametrik) veya Mann-Whitney U testi (parametrik olmayan) kullanıldı. Son olarak, grafikler Origin Lab (Origin Pro 2018 (64 bit; SR1 b9.5.1.195) kullanılarak çizildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Motor Koordinasyon ve Allodini Değerlendirmesi

Sisplatine tabi tutulan hayvanlar, hızlanan rotarodda dayanıklılık latansında kademeli bir düşüş gösterdi. İkinci haftanın (14. gün: 217 sn) ve üçüncü haftanın (21. gün: 210 sn) sonunda önemli bir azalma gözlemlenmedi; ancak, sonraki haftalarda sisplatine tabi tutulan hayvanlarda dayanıklılık latansında belirgin bir düşüş belirlendi. Önceki haftada, sham grubunun ortalama değerleri  $256,6 \pm 32,5$ , cisplatin grubunun  $169,4 \pm 37,9$  ve 10 mg/kg ve 20 mg/kg'da fisetin ile tedavi edilen grupların ortalama değerleri sırasıyla  $243 \pm 36,3$  ve  $205,7 \pm 58,1$  idi. Rotarod testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 1'de verilmiştir. Özellikle, 10 mg/kg fisetin alan tedavi grubu, nöropati grubuna kıyasla önemli ölçüde üstün motor koordinasyon ve denge becerileri sergiledi ( $p < 0,05$ ). Sağlıklı hayvanlara fisetin uygulanması, motor koordinasyon ve dengede hiçbir düşüş göstermedi, bu hayvanlar sham grubuna kıyasla marjinal olarak üstün performans sergiledi. Ancak, bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Şekil 6/A). Sisplatin uygulaması, beş ardışık hafta boyunca 3,0 mg/kg dozunda sisplatinin haftalık intraperitoneal enjeksiyonlarından sonra sıçanların arka pençelerinde azalmış bir von Frey filament eşik basıncı (pençe çekme eşiği; g cinsinden PWT) ile kanıtlandığı gibi mekanik allodini ile sonuçlandı. 10 mg/kg dozunda uygulanan fisetin, statik allodininin gelişimini inhibe ederek sisplatinin neden olduğu nosiseptif eşikte meydana gelen azalmayı hafifletti ( $p < 0,05$ ). 20 mg/kg dozunda uygulanan fisetin mekanik ağrı eşiğindeki azalmayı engelledi; ancak bu etki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ) (Şekil 6/B). Rotarod testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 2'de verilmiştir.

#### 4.1.2. Rota Rod ve Von Frey Sonuçları



**Şekil 6:**Nöropati ve deney grupları arasında fisetinin terapötik etkisi için motor koordinasyon ve mekanik ağrı eşiği duyarlılığı değerlendirildi (Şekil 6). Altı gruptaki motor performansı rotarod test sonuçlarıyla sergilendi: sham, nöropati, tedavi (10 mg/kg), tedavi (20 mg/kg), pozitif kontrol (10 mg/kg) ve pozitif kontrol (20 mg/kg). Tedavi dozundaki artışlar nöropati grubunda düşme latensi ile ölçülen motor eksiklikleri iyileştirdi. (B) Nöropati grubunda sham grubu eşikleriyle karşılaştırıldığında pati çekilmesi gözlemlendi ve tedavi gruplarındaki iyileşmeler mekanik duyarlılık için Von Frey testinde doza bağlı bir eğilim gösterdi. Özellikle 10 mg/kg dozunda, nöropati grupları karşılaştırılabilir eğilimler gösterdi. Verileri temsil etmek için ortalama  $\pm$  SEM kullanıldı ve  $*p < 0,05$ , sham veya nöropati gruplarıyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar olduğunu gösterdi. Nöropati ve tedavi grupları arasındaki karşılaştırma için # kullanıldı.

Rotarod testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 2'de verilmiştir (df=5, Mean square =11613.138, F=7.332)

**Tablo 2: Motor fonksiyon testinin tanımlayıcı istatistikleri (Tek Yönlü ANOVA).**

Deneysel Gruplar	Mean $\pm$ SD	SE	95% CI	P-Value
Sham	256.57 $\pm$ 32.51	12.29	226.51-286.63	<0.001*
CIS	169.43 $\pm$ 37.92	14.33	134.36-204.50	
CIS+F10	243.00 $\pm$ 36.35	13.74	209.38-276.62	
CIS+F20	205.67 $\pm$ 58.08	23.71	144.71-266.62	
F10	261.14 $\pm$ 38.44	14.53	225.59-296.69	
F20	280.43 $\pm$ 33.68	12.73	249.28-311.58	

\*P<0.05 is significant. SD; standard deviation, SE; standard error, CI; confidence interval.

Von Frey testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 3'te verilmiştir (df=5, Mean square =34,385, F=5,499).

**Tablo 3: Von Frey testinin tanımlayıcı istatistikleri (Tek Yönlü ANOVA).**

DeneySEL Gruplar	Mean±SD	SE	95% CI	P-Value
Sham	9.28±2.63	0.99	6.85-11.71	<b>&lt;0.001*</b>
CIS	3.14±1.07	0.40	2.15-4.13	
CIS+F10	8.71±4.03	1.52	4.99-12.44	
CIS+F20	6.00±2.19	0.89	3.70-8.30	
F10	6.57±1.90	0.72	4.81-8.33	
F20	7.71±2.14	0.80	5.74-9.69	

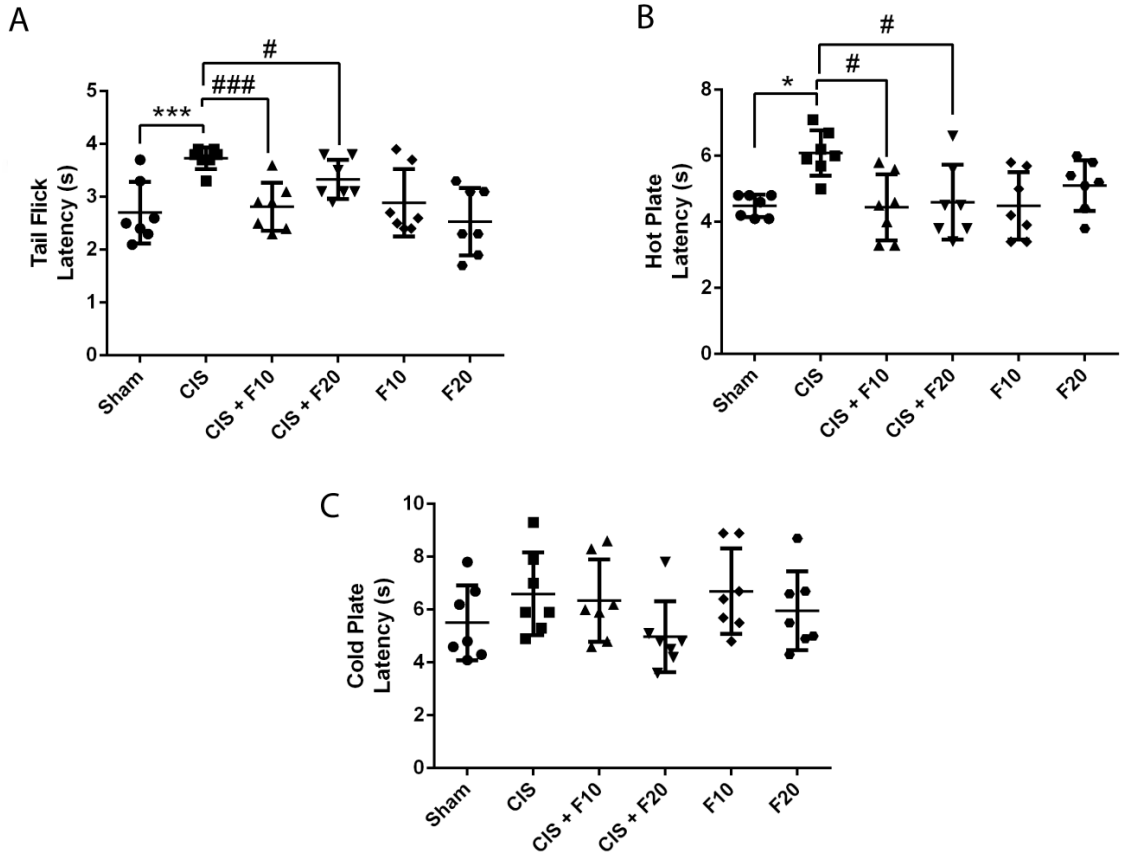
\*P<0.05 is significant. SD; standard deviation, SE; standard error, CI; confidence interval.

#### 4.2. Nosiseptif Hipoaljezi

Sisplatin uygulaması, hem kuyruk vuruşu hem de sıcak plaka testlerinde kontrol grubuna göre uzamış kuyruk vuruşu latensi ile kanıtlanan belirgin termal hipoaljezi ile sonuçlandı. Değişiklik, sisplatinin üçüncü uygulamasından sonra ve sonraki haftalarda istatistiksel olarak anlamlıydı. Son haftadaki kuyruk vuruşu testi sonuçları şu şekildeydi: sham;  $2,7 \pm 0,6$ ; nöropati grubu  $3,7 \pm 0,2$ ; Fisetin 10 mg/kg tedavi grubu;  $2,9 \pm 0,5$ ; Fisetin 20 mg/kg tedavi grubu;  $3,3 \pm 0,3$ ; ve pozitif kontrol grupları sırasıyla  $2,8 \pm 0,6$  ve  $2,5 \pm 0,6$  (Şekil 7/A). Tail Flick testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4'te verilmiştir. Bulgular, sisplatin kaynaklı hipoaljezinin fisetin uygulamasıyla, özellikle de 10 mg/kg dozunda, hafifletildiğini ve bunun faydalı bir etki gösterdiğini göstermiştir. Fisetin'in etkisi 10 mg/kg ve 20 mg/kg için istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,001$ ) ( $p<0,05$ ).

Sisplatinin intraperitoneal uygulaması, sıcak plakadaki termal uyaranlara karşı duyarlılığı azalttı. Sisplatin tarafından oluşturulan nöropatik termal hipoaljezi, üçüncü haftadan sonra belirginleşti. Sonraki haftalarda, sham grubu ile nöropati grupları arasında belirgin bir farklılık vardı. Sıcak plaka deneyinden elde edilen ortalama ölçümler, son haftada sham grubunda  $4,5 \pm 0,3$  ve CIS grubunda  $6,1 \pm 0,7$  idi. Ağrı duyarlılığındaki azalma, terapötik bir etki gösteren her iki fisetin dozunda da dengelendi. Tedavi gruplarının ortalamaları sırasıyla  $4.4 \pm 1.0$  ve  $4.7 \pm 1.2$  olarak

kaydedildi. Sıcak Plaka testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4'te verilmiştir. Etkiler istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.05$ ). Pozitif kontrol gruplarında fisetin herhangi bir değişiklik veya düşüşe neden olmadı (Şekil 7/B). Soğuk plaka deneylerinde sisplatin ağrı duyarlılığını azalttı, ancak bu etki istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ). Soğuk Plaka testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 6'da verilmiştir. Benzer şekilde, fisetin uygulamaları sisplatin grubunda terapötik görünürken, bu bulgu da anlamlı değildi ( $p > 0.05$ ) (Şekil 7/C).



**Şekil 7:** Deneysel gruplar arasında sıçanlarda termal nosisepsiyonun değerlendirilmesi için kuyruk çevirme, sıcak plaka ve soğuk plaka testlerinin sonuçları. Altı grup için veriler sağlanmıştır: sham, nöropati, 10 mg/kg'da tedavi, 20 mg/kg'da tedavi ve 10 mg/kg ve 20 mg/kg dozlarında pozitif kontrol grupları. Sonuçlar, termal ağrı eşiklerini yansıtan yanıt gecikme sürelerini göstermektedir. Gruplar arasındaki belirgin farklılıklar, tedavilerin analjezik etkinliğini vurgulamaktadır ve değerlendirmeler boyunca hem doza bağlı hem de pozitif kontrol etkileri belirgindir. \* sham ve nöropati grupları arasında bir karşılaştırmayı gösterirken, # nöropati ve tedavi grupları arasında bir karşılaştırmayı ifade eder.

Tail Flick testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 4'te verilmiştir (df=5, Mean square =1.318, F=5.159).

**Tablo 4: Tail Flick testinin tanımlayıcı istatistikleri (Tek Yönlü ANOVA).**

DeneySEL Gruplar	Mean±SD	SE	95% CI	P-Value
Sham	2.70±0.58	0.22	2.16-3.24	<b>0.001*</b>
CIS	3.73±0.21	0.08	3.54-3.92	
CIS+F10	2.81±0.46	0.17	2.39-3.24	
CIS+F20	3.25±0.33	0.14	2.90-3.60	
F10	2.89±0.64	0.24	2.30-3.47	
F20	2.53±0.64	0.24	1.94-3.12	

\*P<0.05 is significant. SD; standard deviation, SE; standard error, CI; confidence interval.

Sıcak Plaka testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 5'de verilmiştir (df=5, Mean square =2.830, F=3.764).

**Tablo 5: Sıcak Plaka testinin tanımlayıcı istatistikleri (Tek Yönlü ANOVA).**

DeneySEL Gruplar	Mean±SD	SE	95% CI	P-Value
Sham	4.48±0.34	0.13	4.17-4.80	<b>0.008*</b>
CIS	6.08±0.68	0.26	5.45-6.72	
CIS+F10	4.44±1.00	0.38	3.52-5.37	
CIS+F20	4.73±1.18	0.48	3.49-5.97	
F10	4.48±1.02	0.38	3.54-5.43	
F20	5.10±0.77	0.29	4.38-5.81	

\*P<0.05 is significant. SD; standard deviation, SE; standard error, CI; confidence interval.

Cold Plate testi için tanımlayıcı istatistikler Tablo 6'te verilmiştir (df=5, Mean square =1.787, F=0.541)

**Tablo 6: Cold Plate testinin tanımlayıcı istatistikleri (Tek Yönlü ANOVA).**

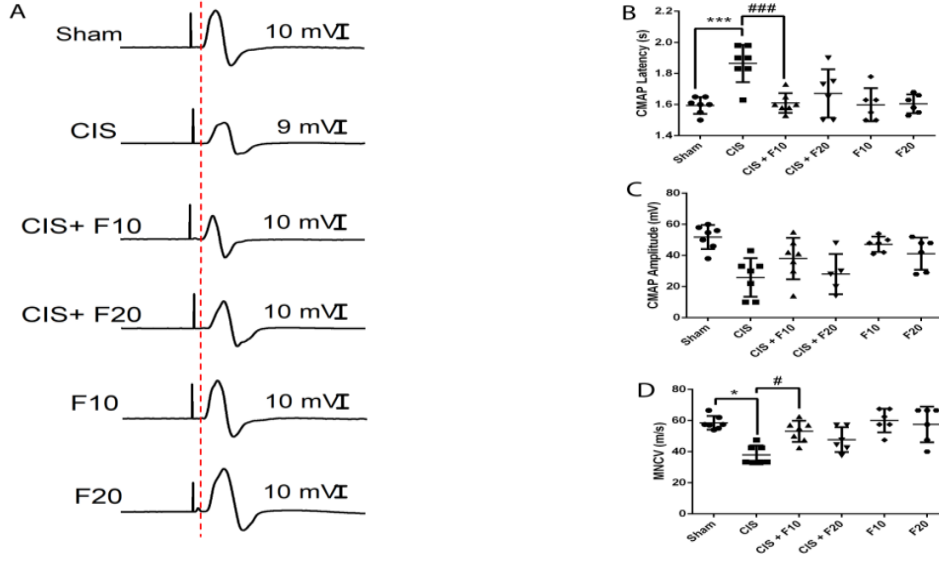
Deneysel Gruplar	Mean±SD	SE	95% CI	P-Value
Sham	5.78±1.83	0.69	4.09-7.48	0.744
CIS	6.03±1.51	0.57	4.63-7.42	
CIS+F10	6.63±2.08	0.78	4.70-8.55	
CIS+F20	5.00±1.46	0.60	3.46-6.54	
F10	6.06±2.30	0.87	3.93-8.18	
F20	5.96±1.50	0.57	4.57-7.34	

\*P<0.05 is significant. SD; standard deviation, SE; standard error, CI; confidence interval.

### 4.3. Elektrofizyolojik değerlendirme

#### 4.3.1. Siyatik sinirin motor iletim hızı

Siyatik sinirin motor iletim hızı (MNCV) ve bileşik kas aksiyon potansiyeli (CMAP) elektrofizyolojik değerlendirme yoluyla değerlendirildi. CMAP kayıtlarının alınmasının ardından, latentlik süresi, genlik ve MNCV değerleri çevrimdışı olarak hesaplandı. Daha sonra, elektrofizyolojik parametrelerin gruplar arasında değişip değişmediğini belirlemek için bir değerlendirme yapıldı. Değerlendirme, CIS grubunun latentlik sürelerinin kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde uzadığını ortaya koydu (p<0,001) (Şekil 8/B). 10 mg/kg dozunda fisetin, sisplatin tarafından uzatılan latentlik süresini önemli ölçüde azalttı (p<0,001). Sisplatin, hayvanlarda siyatik sinirin motor iletim hızını önemli ölçüde azalttı (p<0,05). 10 mg/kg fisetin uygulaması, sisplatin tarafından tehlikeye atılan siyatik sinirin MNCV değerlerini belirgin şekilde yükselterek, bunların başlangıç seviyelerine geri dönmesini kolaylaştırdı. Etkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (p<0,05) (Şekil 8/D). Sisplatinin CMAP genliğini olumsuz etkilediği gözlemlendi; ancak, bu etkiler istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05). Şekil 8/A, deneysel gruplardan CMAP kayıtlarının temsili örneklerini sunmaktadır.

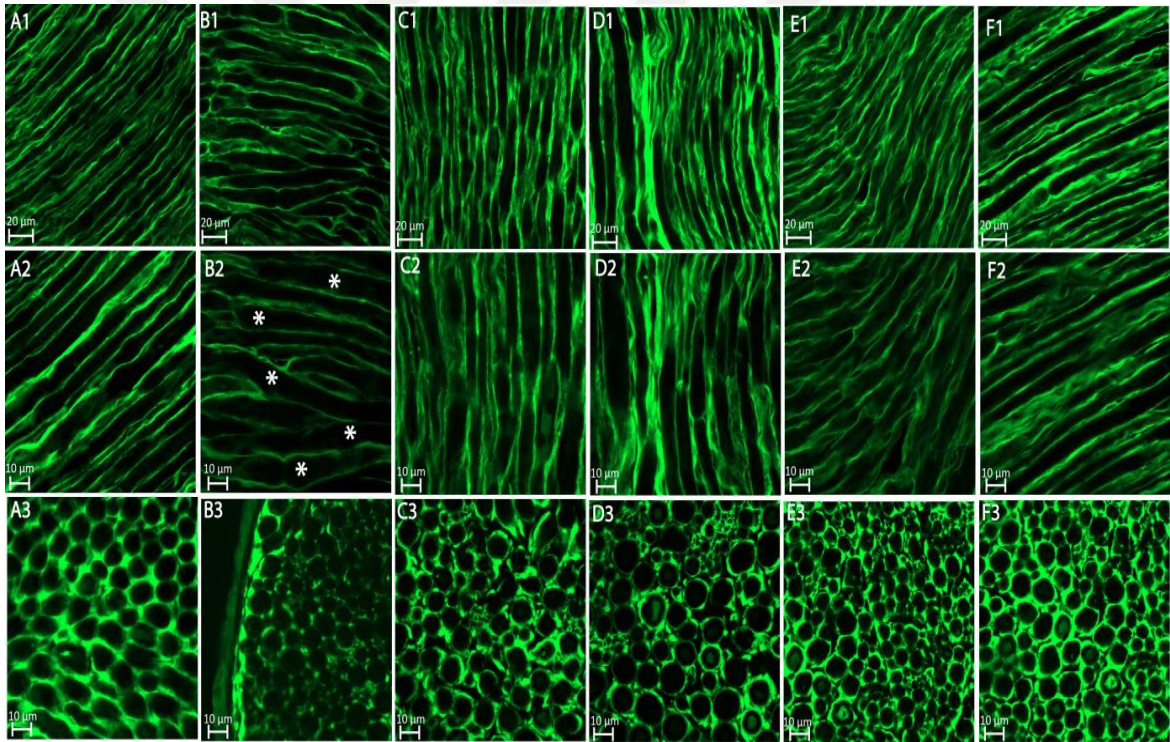


**Şekil 8:** Grafik, elektrofizyolojik parametreleri ve temsili bileşik kas aksiyon potansiyeli (CMAP) verilerini göstermektedir. Grafik, ortalama değerleri en doğru şekilde temsil eden CMAP izlerini göstermektedir. B; deney gruplarının ortalama gecikmesi sunulmaktadır. Grafik, CMAP'nin genliğini göstermektedir. D. Siyatik sinirin iletim hızı

#### 4.3.1.2. Konfokal mikroskopi bulguları

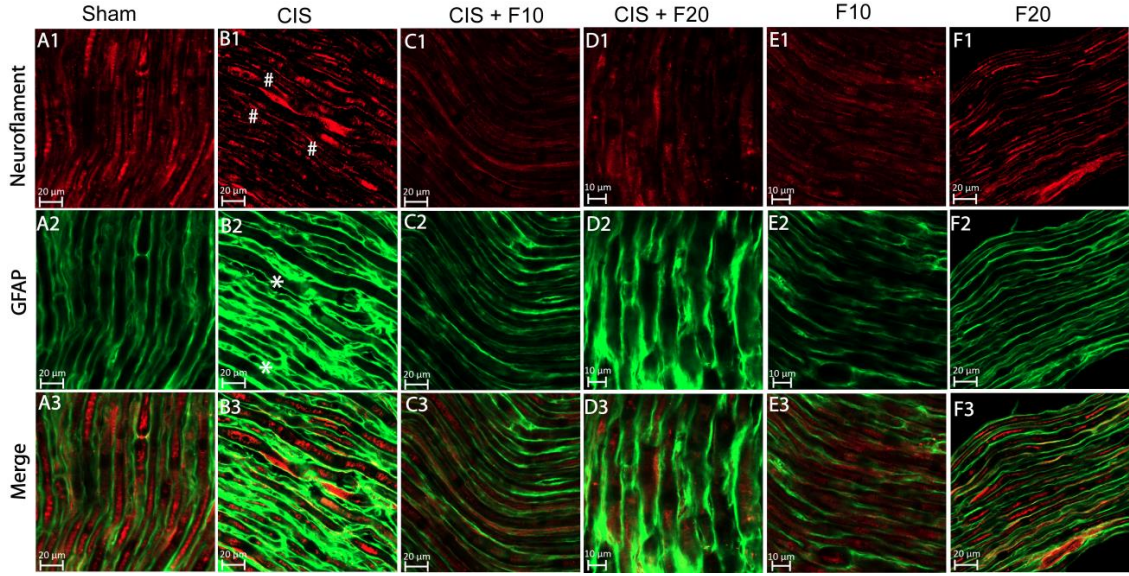
Miyelin bazik protein (MBP) için boyanmış siyatik sinir dilimleri kısmi demiyelinizasyon ve MBP ekspresyonunda belirgin bir azalma göstermiştir (Şekil 9). Görüntünün titizlikle incelenmesi üzerine, sahte grup görüntülerinde miyelin bazik protein (MBP) ile boyanmış miyelin yapısı belirgin şekilde düzenli ve sağlıklı görünmektedir. Sinir lifleri paralel ve kompakt bir şekilde organize olmuş, dejenerasyon veya kıvrılma göstermemektedir. Miyelin kılıflarının bütünlüğü korunmuştur ve sinir iletimine elverişli bir yapı sergilemektedirler. Bu grup sinir yapısının normal olduğunu ve patolojik bir süreçten etkilenmediğini gösterir (A1-2-3). Nöropati grubu kesitlerinde, sinir liflerinde belirgin düzensizlikler, kıvrılma ve parçalanma vardır. Sinir liflerinin belirli bölgelerinde yapısal bozulma belirgindir ve bu da MBP'nin parçalandığını ve demiyelinizasyonun başladığını gösterir. Sinir mimarisi düzensiz görünmektedir ve bu da miyelin kılıfının bozulması nedeniyle sinir iletiminin bozulmasına neden olur (B1-2-3). Tedavi gruplarından elde edilen kesitler üçüncü ve dördüncü sıralarda gösterilmektedir. Muayenede tedavi gruplarında nöropati grubuna göre belirgin bir iyileşme görülmektedir. Liflerin organizasyonu ve paralelliği nöropati grubuna kıyasla daha düzgün görünmektedir. Özellikle üçüncü sütundaki kesitlerde (CIS+10 mg/kg fisetin), lifler arasındaki düzensizlikler azalmakta ve miyelin yapısı daha belirgin hale

gelmektedir. Bununla birlikte, normal durumuna tam olarak geri dönmemiş gibi görünmektedir. Liflerde hala küçük bozulmalar ve bozulmalar var, ancak bunlar nöropati grubuna kıyasla daha az belirgin. 3. sütun tedavi grubu, 4. sütündakinden biraz daha fazla iyileşme gösterdi. Miyelin kılıfının organizasyonu daha iyiyfi, sinir lifleri daha hizalı ve bozulmalar daha sınırlıydı. MBP yapısının restorasyonu, tedavinin etkinliğini ve miyelin bütünlüğünün kısmen yeniden sağlandığını göstermektedir. Tedavi gruplarında demiyelinizasyon durmuş veya azalmış gibi görünüyordu, ancak sinir dokusunda tamamen bir iyileşme gözlenmemiştir. Bu, sinir mimarisinin tedaviden sonra yeniden kısmi olarak düzenlendiğini gösterebilir. Pozitif kontrol grubunda, miyelin kılıfında bozulma veya bükülme olmadan düzenli, paralel ve yakın düzenlenmiş sinir lifleri gözlemlendiği saptanmıştır. Miyelin kılıflarının bütünlüğü korunmaktadır (E/F-1-2-3).

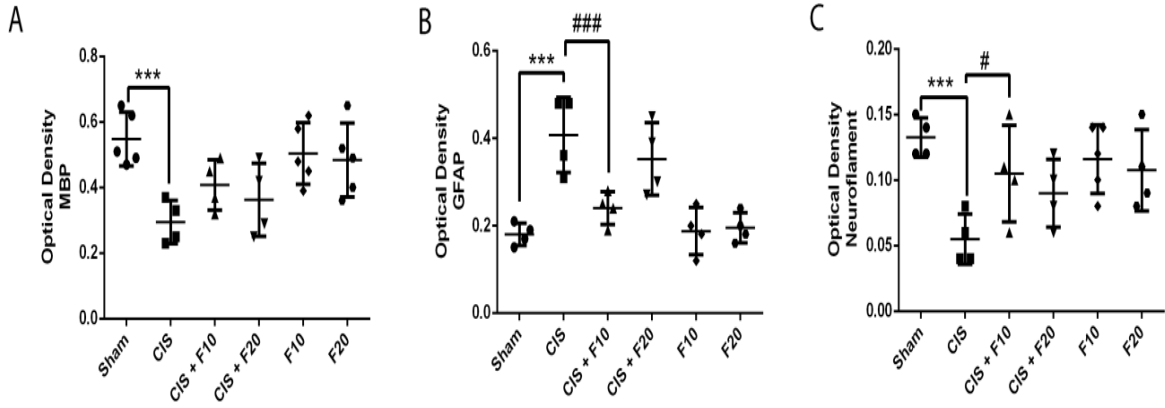


**Resim 8:** Şekilde miyelin bazik protein (MBP) için boyanmış siyatik sinir kesitlerinin görüntüleri sunulmaktadır. İlk iki sıra uzunlamasına kesitleri gösterirken, son sıra aynı gruptaki diğer siyatik sinir örneklerinden alınan koronal kesitleri göstermektedir. İlk sütun 40x objektifle yakalanmış kesitlerin görüntülerini içerir; ikinci sütun 63x objektifle yakalanmış kesitlerin görüntülerini içerir. Son sütun 63x objektifle yakalanmış kesitlerin koronal görüntülerini göstermektedir. Yıldız işareti genişlemiş sinir liflerini ve azalmış MBP yoğunluğunu temsil eder.

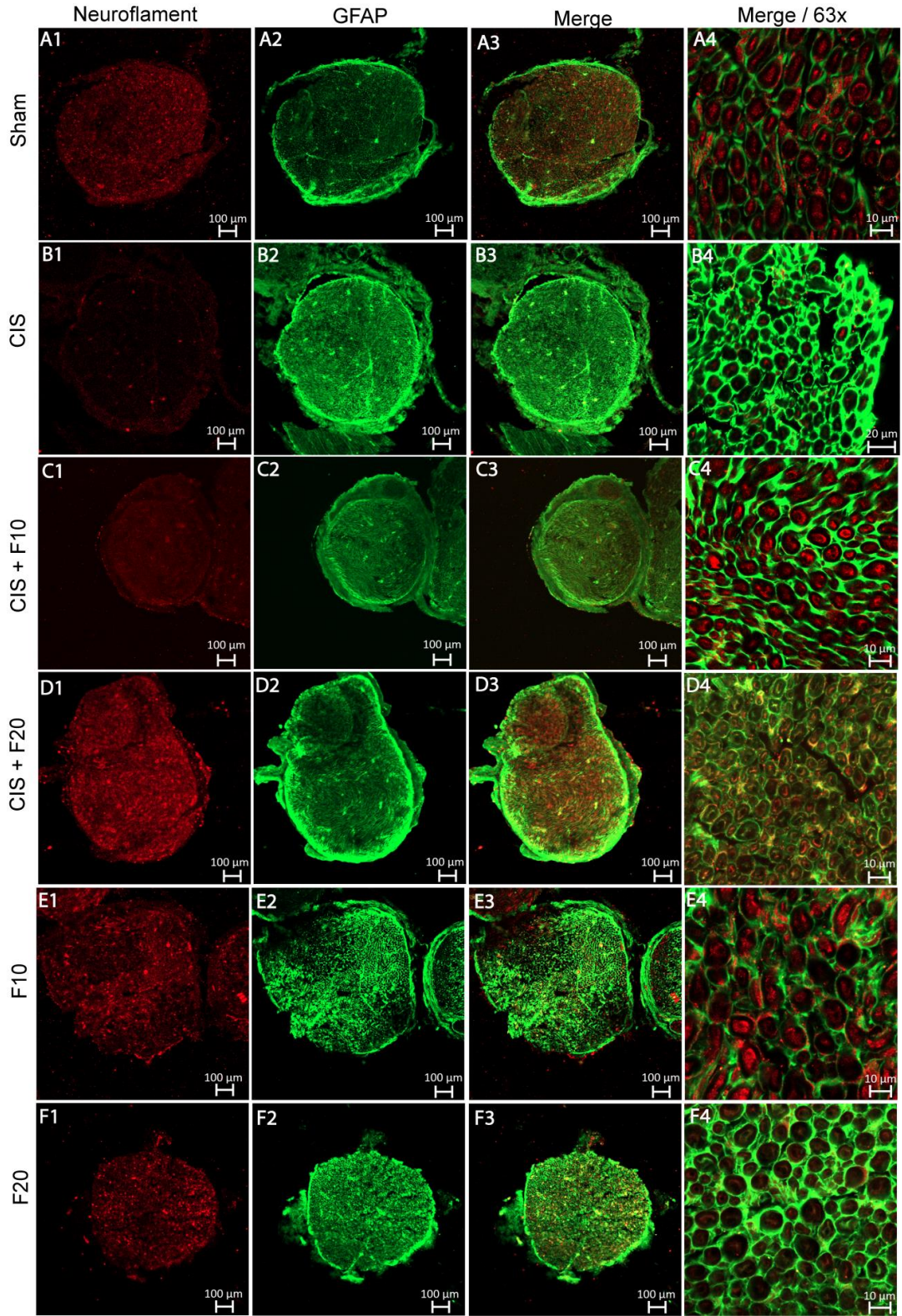
Deney gruplarından toplanan kesitlerde glial fibriler asidik protein (GFAP) ve nörofilamentin çift boyanması gerçekleştirildi (Şekil 10 ve şekil 11). İlk sütundaki görseller gruplardaki kırmızı boyanma ile nörofilamenti gösterirken, sonraki sütun yeşil boyanma ile GFAP'ı göstermektedir, üçüncü sütun ise ilk iki sütunun üst üste getirilerek birleştirilmesini göstermektedir. Şekil 11 ise aynı organizasyonla koronal kesitleri göstermektedir. İlk sütun incelemede sham grubunu kesitlerinde, nörofilamentler net ve organize bir yapı sergilerken, sinir lifleri sistematik olarak düzenlenmiştir (A1). GFAP (A2) düzgün bir şekilde dağılmıştır ve yoğunluğu normal görünmektedir, bu da tipik Schwann hücre aktivitesini ve sinir lifi yapısının bütünlüğünü göstermektedir. Koronal kesitte (şekil 11), hücresel yapılar belirgin bir düzenlilik ve homojenlik göstermektedir. Atipik hücresel proliferasyon veya dejeneratif değişiklikler tespit edilmemiştir. İkinci sütun nöropati grubu dilimlerini göstermektedir. Bu dilimlerde; nörofilament (B1): kırmızı sinir liflerinde önemli bir azalma gözlemlenmektedir. Lifler dağılmış ve daha az yoğun görünmektedir. Bu, aksonal dejenerasyon ve nöral bozukluğu gösterebilir. GFAP (B2): GFAP ile boyanan Schwann hücreleri, kontrol grubuna göre artmış optik yoğunluk ve boyut sergilemektedir. Bu, Schwann hücre aktivasyonunu gösterebilir ve nöroinflamasyon için bir belirteç görevi görebilir. Şekil 11 de koronal kesitte ise, hücresel yapılar büyümüştür ve düzensizlik göstermektedir. Bu, nöropati ile bağlantılı hücresel işlev bozukluklarını gösterebilir. Genel değerlendirmede, Nöropati grubunda (2. sütunlar) önemli sinir hasarı ve Schwann hücre aktivasyonu not edildi, ancak bu hasarın tedavi gruplarında daha hafif olarak görüldüğü gözlemlendi. Pozitif kontrol gruplarında (5. ve 6. sütunlar) sinir ve glial hücrelerin normal görünmesi ve fisetin uygulamalarının herhangi bir olumsuz etki göstermemesi önemliydi. MBP, GFAP ve nörofilamentin optik yoğunluğunu gösteren grafik şekil 12'de verilmiştir.



**Resim 9:** Siyatik sinirin kesitlerinde GFAP ve Nörofilament'i hedefleyen antikörları kullanan çift immüno Floresan boyama. GFAP, Alexa Fluor 488 olmak üzere yeşil sinyallerle gösterilirken, Nörofilament, Alexa Fluor 647 tarafından üretilen kırmızı sinyallerle gösterildi. 40x objektif lensle yakalanan uzunlamasına kesitleri gösterildi. # ile gösterilen bölgeler, bozulmuş aksonları belirtir. Bu, aksonal dejenerasyonun meydana gelebileceğini düşündürmektedir. Benzer bulgular, tedavi gruplarında nöropati grubuna göre daha azdı. \*Yükselmiş GFAP ekspresyonunu gösterir. Bu bölgeler nöropati grubunda yaygındı.



**Şekil 9:** MBP, GFAP ve nörofilament gruplarından ImageJ yazılımı kullanılarak elde edilen optik yoğunluk grafikleri. \* işareti sham grubu ile nöropati grubu arasındaki karşılaştırmayı gösterirken, # işareti nöropati ile tedavi grubu arasındaki karşılaştırmayı göstermektedir. \* ve # işareti p<0,05'i; \*\*\* işareti p<0,001'i göstermektedir.



**Resim 10:** Siyatik sinirin koronal kesitlerinde GFAP ve Nöroflament'i hedefleyen antikorları kullanan çift immüno Floresan boyama. GFAP, Alexa Fluor 488 olmak üzere yeşil sinyallerle gösterilirken, Nöroflament, Alexa Fluor 647 tarafından üretilen kırmızı sinyallerle gösterildi. İlk 3 sütun 10x objektif lensle yakalanan uzunlamasına kesitleri gösterirken son sütun 63x objektifle gösterilen birleştirilmiş görseller.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı sisplatin'in sebep olduğu periferal nöropatinin etkilerinin doğal biyolojik etkinliği bulunan fisetin ile azaltılabilirliğinin araştırılmasıdır. Sisplatin birçok kanser türünde antitümoral etkinliği ile bilinen tedavi ajanı olarak kullanılan bir ilaç olmasına rağmen, pek çok değişik yan etkilerinden dolayı tedavi sürecinde bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. bu yan etkilerin en önemli olanlarından bir tanesi periferal nörotoksitedir. bu nörotoksik etki, cisplatin tedavisi gören hastaların önemli bir kısmında gözlenir ve bildirilen periferik nöropati insidans oranları, kümülatif doza ve bireysel hasta duyarlılığına bağlı olarak %17 ile %100 arasında değişmektedir [102]. Yan etkilerinin fazla olması sıklıkla doz azaltılmasına, veya tedavi protokolüne ara verme yada sona erdirmeye gibi tedavi sürecini olumsuz etkileyecek durumlara sebep olmaktadır[54]. Fisetin kabuklu yemişlerde, yağlı tohumlarda, meyvelerde bulunan doğal bir polifenoldür [103]. Fisetin, çeşitli kanser türlerinde kemopreventif/kemoterapötik ajan ve ayrıca nöroprotektif ajan olarak bildirilmiştir. birçok çalışma, fisetinin umut vadeden yeni bir antioksidan olduğunu göstermektedir [86]. Antioksidan, antiinflamatuvar ve antitümöral etkileri bilinen fisetin'in, sisplatinin sebep olabileceği nörotoksiteyi azaltabileceği düşünülmüş ve bu hipotezi değerlendirmek adına bu çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada, sıçanlarda fisetinin sisplatin kaynaklı periferal nöropatiye (CIPN) karşı koruyucu etkileri motor koordinasyon, mekanik allodini, nosiseptif hipoaljezi gibi nosiseptif davranış deneyleriyle, elektrofizyolojik parametrelerin ölçüldüğü sinir ileti hızı çalışmalarıyla ve siyatik sinirin doku mimarisini gösteren konfokal mikroskopi sonuçları incelenerek değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler özellikle fisetinin 10 mg/kg dozunda kullanıldığında sisplatinin sebep olduğu motor inkoordinasyonu, değişmiş ağrı duyarlılığını ve elektrofizyolojik parametrelerdeki anormallikleri hafifletmedeki potansiyel terapötik etkinliği gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca bu çalışmayla sisplatinin siyatik sinirdeki miyelin kılıfının temel bir bileşeni olan miyelin basic protein ekspresyonunu (MBP) azaltarak miyelin kılıf hasarına yol açtığı, periferal glial hücreleri aktive ederek glial fibriller asidik protein (GFAP) ekspresyonunu arttırdığı ve nörofilament bütünlüğünü bozarak aksonal dejenerasyona yol açtığı gösterilmiştir. Fisetinin, elde edilen verilere göre bu histopatolojik değişiklikleri kısmen iyileştirerek sisplatinin sebep olduğu periferal nöropati bulgularını hafiflettiği tespit edilmiştir.

Fisetinin bu nöroprotektif etkisi antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

### **5.1. İn Vivo Davranış Deneylerinin Değerlendirilmesi**

Hayvanları tekrarlayan ağırlı uyaranlara maruz bırakmanın strese sebep olduğu ve ağrı duyarlılığında değişikliklere yol açabileceği bilinmektedir [19]. Ayrıca, tekrarlanan testlerden kaynaklanabilecek kaygı ve/veya ajitasyonun davranış sonuçlarını etkilemesi muhtemeldir. Bu endişelerden dolayı bu deneyler ilaç uygulamaları tamamlandıktan sonra 24 saat ara ile günde bir deney olacak şekilde planlanarak yapıldı. Bu çalışmada deney gruplarında sisplatinin ve fisetinin motor koordinasyon ve denge, periferik ve santral duyu testleri ile mekanik ağrı eşiği duyarlılığı üzerine etkilerini değerlendirmek adına bir seri davranış testi yürütüldü. Özellikle, motor koordinasyon ve denge perspektifinden model ve tedavi gruplarındaki değişimleri gözlemlemek için rotarod testi kullanıldı. Duyu testleri ise termal bir uyarana yanıt verme süresini ölçebilmeye imkan veren ve tedavinin termal ağrı algısı üzerindeki etkilerini anlamamıza yardımcı olan hot/cold plaka testleri kullanılarak değerlendirildi. Bu testler, hayvanları termal uyaranlara maruz bırakarak ve termal ağrı algısındaki değişiklikleri gösterebilen davranışsal tepkileri gözlemlemeyi içermektedir. Termal uyaranların santral etkilerini değerlendirmek için ise tail flick testi kullanıldı. Ayrıca, kalibre edilmiş filamentlerin hayvanların arka ayağının plantar yüzeyine uygulanmasıyla Von Frey testi yapıldı ve mekanik ağrı eşiğindeki değişimler ölçüldü.

#### **5.1.1. Motor Performansın Değerlendirilmesi**

Bu çalışmada rotarod deneyi 5 rpm dönme hızından başlayarak 300 saniye süresince aşamalı olarak 40 rpm'ye kadar yükselen bir rampa protokolü belirlenerek yapıldı [93, 104]. Her hayvan gerçek deneyden önce 5 dakikalık alıştırma periyoduna alındı böylelikle cihaza ve ortama adapte olmaları sağlanarak strese girmeleri engellendi. Daha sonra aralarda 5 dk dinlenme süreleri ile üç defa rota rod cihazında deneye tabii tutuldular. Sonrasında her hayvan için bu üç sonucun aritmetik ortalamaları alınarak grup ortalamaları belirlendi. Sisplatinin kronik maruziyetinden sonra hayvanların rotarod cihazında geçirdiği sürenin diğer gruplarla kıyaslandığında en düşük ortalamaya sahip olduğu tespit edilmiştir. Sisplatinin deney hayvanlarında rod üzerinde kalış süresini kısalttığı literatürde de güçlü olarak belirtilmektedir [20, 24]. Li ve arkd. (2019) ile Golchin ve arkd. (2015) yayınladıkları çalışmalarda sisplatinin kronik maruziyeti ile

indüklenen kas güçsüzlüğünün motor yetersizliğin nedeni olarak öne sürülmüştür [24].Sisplatin maruziyetine bağlı olarak hayvanlarda kas kaybı ve kas güçsüzlüğü görüldüğü bildirilmiştir [25]. Sisplatinin kronik olarak kullanımına bağlı olarak kardiyotoksik etkilere sahip olduğu da bilinmektedir [26]. Motor performansın düşüklüğü belki de kardiyotoksik etkilerinden dolayı da olabilir [105]. Duyusal ve motor görevlerin yerine getirilmesinde önemli rol oynayan arka beyin bileşenlerinden biri de serebellumdur. Serebellar purkinje hücreleri çevresel toksinlere maruz kaldıktan sonra hasarlanmaya karşı özellikle hassastır [27]. [Ayrıca, serebellum motor ve duyuşal işlevlerin birleştirilmesinde hayati bir rol oynamaktadır; serebellumdaki herhangi bir lezyon motor koordinasyonunun ve dengenin bozulmasına neden olabilir. Sisplatinin serebellum üzerinde nörotoksisiteye sebep olarak motor fonksiyonları olumsuz olarak etkilediğine dair literatürde veriler bulunmaktadır [27].

Fisetin ile tedavi edilen hayvanlarda motor performansın iyileştiği tespit edilmiştir. Fisetin'in özellikle 10 mg/kg dozda uygulanması, hayvanlarda motor performansı kısmen tekrar geri kazandırmıştır. Bu sonuç, fisetinin nöropatik koşullarda oksidatif stresi ve nöropati patogeneğinde rol oynayan inflamatuvar yanıtları azaltarak nöral dayanıklılığı iyileştirdiğini gösteren önceki araştırmalarla örtüşmektedir [29, 106][. Fisetin aynı zamanda kardiyoprotektif bir ajan olarak bilinmektedir. 10 mg/kg tedavi grubunda gözlemlenen gelişmeler, fisetinin nöroprotektif etkinliğinin doza bağlı bir eğilim gösterebileceğini düşündürmektedir, ancak daha yüksek bir doz (20 mg/kg) karşılaştırılabilir derecede önemli sonuçlar üretmemiştir. Bu, bir doz-doygunluk etkisi veya farklı dozlarda farklı mekanizmaların potansiyel olarak devreye girmesini düşündürmektedir.

Sisplatin, oksidatif stresi indükleyerek, periferik sinirlerdeki lipidlere, proteinlere ve DNA'ya hasar veren, endojen antioksidan savunma mekanizmalarını alt eden reaktif oksijen türlerini (ROS) üreterek periferik nöropati semptomlarının gelişmesine sebep olur [36]. Sisplatin maruziyetinde motor yetersizliğin sebebi belki de oksidatif hasarın periferik sinirlerde yapmış etkileridir. Fisetin'in antioksidan etkinliği sisplatinin vermiş olduğu hasarı hafifleterek motor becerileri geliştirdi [107].

### **5.1.2. Mekanik Ağrı Eşiğinin Değerlendirilmesi**

Maximilian Von Frey'in geliştirdiği Von Frey filamentinin kullanımı, mekanik hassasiyetin ölçülmesinde temel taşlardan biridir [108]. Duyusal yanıtları test etmek için kullanılan Von Frey filamentlerinin deriye uygulanmasıyla alınan yanıt, dokusal duyarlılığı ölçmekte olup mekanik ağrı eşiğinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan testtir. Çalışmamızda sıçanlar pleksiglastan yapılmış ve delikli metal tel tabanla desteklenen bir aparatın içine bırakıldı. Her bir sıçanın arka pençesinin orta plantar yüzeyindeki çekilme eşiğini değerlendirmek için mekanik filamentler sırasıyla (von Frey filamentleri [0,4–15 g, logaritmik artımlı sertlik; Bioseb, Vitrolles, Fransa]) uygulandı. Hayvanların arka pençe çekilme tepkileri, her değerlendirme arasında en az 10 saniyelik bir aralık olacak şekilde üç kez üst üste değerlendirildi. Mekanik ağrı eşiği, bu üç ölçümün ortalaması olarak belirlendi [108].

Von Frey testinde sisplatine maruz kalan hayvanlarda gerek sham gerekse de tedavi grubu hayvanlara kıyasla aynı g kuvvetine sahip filamentlere karşı sıçanların pençelerini geri çekme sürelerinin daha kısa olduğu görüldü. Bu sonuç sisplatinin hayvanlarda mekanik uyarının sebep olduğu ağrı eşiğini düşürerek hayvanlarda mekanik allodynia ya sebep olduğunu göstermektedir. Çalışma verileri sisplatin verilen grupta oluşan ağrı eşiğindeki hassasiyetin fisetinle iyileştirildiği ve ortalama deney sonuçlarının sağlıklı hayvanlara yaklaştığı sonuç olarak fisetinin olumlu etkiler gösterdiğini ifade etmektedir.

### **5.1.3. Termal Hipoaljezi Değerlendirilmesi**

Hayvanlarda nosisepsiyonun değerlendirilmesinde en yaygın olarak kullanılan testlerden birisi sıcak plaka testidir [97]. Termal uyarıların uygulanmasıyla, hayvanların hiperaljezik veya analjezik reaksiyonlarını tespit etmek için bu test yaygın olarak kullanılır [109].

Çalışmamızın sonuçlarına göre sisplatine maruz kalan hayvanlarda, sağlıklı hayvanlara kıyasla plaka üzerinde kalma süresinin daha uzun olduğu saptanmıştır (hot plate). Önceki çalışmalarda sisplatinin sıçanlarda termal hiperaljezi ve soğuk allodiniye neden olduğu bildirilmiştir [110]. Ancak sisplatinin termal hipoaljeziye neden olduğunu gösteren çalışmalar da vardır [111, 112]. Bizim çalışmamızın verileri bu raporlar ile uyumludur. Sıcak plakada kalma süresinin değişiklik göstermesinin altında yatan pek

çok faktörün olduğu düşünülmektedir. Öğrenme, stresin azalması, testle ilişkili uyarıcılara alışma veya diğer bilinmeyen etkenlerden dolayı latens süresinde değişikliklerin olabileceği belirtilmiştir [113, 114]. Çalışmalarda sisplatinin neden olduğu hipoaljezinin altında yatan sebep ise nöronal apoptozis dolayısıyla nöronların normal duyusal iletimi gerçekleştirememesine bağlı olarak meydana geldiği şeklinde ifade edilmiştir [115]. Fisetin ile tedavi edilen hayvanlarda nöropati grubuna kıyasla sıcak plakada kalma sürelerinin daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu görülmüştür.

Yapılan başka bir çalışmada, hayvanların vücut ağırlığı ile sıcak plaka üzerinde kalma süreleri arasında bir ilişkinin bulunduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmaya göre hafif vücut ağırlığına sahip olan hayvanların sıcak plaka üzerinde kalma sürelerinin daha uzun olduğu tespit edilmiştir [34]. Çalışma neticesinde, sıçanların vücut ağırlığının, deneyin yapıldığı odaya alışmanın ve deneyin tekrarlı şekilde yapılmasının çalışma sonuçlarını etkileyebileceği ifade edilmiştir.

#### **5.1.4. Soğuk plaka ve Tail Flick sonuçlarının Değerlendirilmesi**

Nöropatik ağrı davranışının karakteristik özelliklerinden birisi olan soğuk alodininin değerlendirilmesinde cold plate testi önemli bir yer tutmaktadır. Normalde ağrı oluşturmuyan termal uyarılara karşı duyarlılığın artması olarak ifade edilen alodini sisplatin nöropatisinde de görülmektedir. Yaptığımız bu çalışmanın sonuçlarına göre; sisplatin verilen sıçanların soğuk plaka üzerinde geçirdikleri zamanın kontrol grubuna kıyasla uzadığı, fisetin ile tedavi edilen hayvanların plaka üzerinde geçirdikleri sürenin ise nöropati grubuna kıyasla azaldığı tespit edilmiştir. Gruplar arasında soğuk plaka üzerinde kalma süresi açısından fark görülmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

#### **5.2. Elektrofizyolojik Ölçümlerin Değerlendirilmesi**

Elektrofizyolojik değerlendirmeler, sisplatinin motor sinir iletim hızı (MNCV) ve bileşik kas aksiyon potansiyeli (CMAP) üzerindeki etkilerini daha da açıklamış, periferik sinir bozukluğunun göstergesi olan uzamış gecikme ve azalmış MNCV'yi ortaya koymuştur. Sinir işlevselliği bozukluğu, hem hayvan modellerinde hem de nöropatisi olan bireylerde sinir iletim hızında (MNCV) bir azalma ile kanıtlanan birincil

bir özelliktir. Sinir ileti hızı çalışmalarında sisplatine maruz kalan hayvanlarda sağlıklı hayvanlara kıyasla siyatik sinirin motorik ileti hızının önemli düzeyde azaldığı, CMAP amplitudunun küçüldüğü ve CMAP latens süresinin uzadığı tespit edilmiştir. Bu verilerimiz literatürle uyumludur [101, 112]. Fisetin tedavisinin sisplatinin neden olduğu bozulmuş iksiyatik sinirin motor ileti hızını önemli ölçüde arttırdığı, aynı zamanda uzamış latens süresini önemli düzeyde azalttığı ve CMAP amplitüdünü geliştirdiği tespit edilmiştir.

Sisplatin'in nörotoksik etkileri, oksidatif stres, inflamasyon ve mitokondriyal disfonksiyon gibi çoklu fizyolojik mekanizmalarla ilişkilendirilmektedir. Periferik nöropatide görülen duyu ve motor sinir iletimindeki azalmalara, aksonal dejenerasyon ve miyelin kılıf hasarının/kaybının neden olduğu düşünülmektedir.

Sisplatin uygulaması, miyelin kalınlığında ve akson ve miyelinli liflerin çaplarında azalma ile birlikte nosiseptif ağrı algısında ve sinir iletim hızlarında azalmaya neden oldu ve bu da siyatik sinirlerde işlev bozukluğu ve dejenerasyona işaret etti[61]. 10 mg/kg fisetin ile tedavi, hem latensi hem de MNCV'yi önemli ölçüde artırarak bunları temel seviyelere yaklaştırdı. Fisetinin iletim hızı ve latensi üzerindeki etkileri, muhtemelen nöroinflamasyonu azaltarak akson bütünlüğünü ve miyelin kılıfı stabilitesini koruma kapasitesini gösterebilir.

Önceki araştırmalar, N-asetilsistein [116], alfa-lipoik asit [52], E vitamini [117], gibi doğal antioksidanların, proinflamatuvar sitokinleri düzenleyerek ve nöropati modellerinde oksidatif hasarı azaltarak nöropatiyi iyileştirdiğini gösteren paralel sonuçlar bildirmiştir. Önceki bir çalışma, tip 1 diyabetli farelerde fisetin kronik oral uygulamasının termal hiperaljezi ve mekanik allodini üzerinde analjezik etkiler ürettiğini göstermiştir [118]. Diğer bir çalışma, fisetin NF-κB inhibisyonu ve Nrf2-pozitif modülasyon yoluyla diyabetik nöropatide oksidatif stresi ve nöroinflamasyon kaynaklı fonksiyonel, davranışsal ve biyokimyasal eksiklikleri hafiflettiğini göstermiştir [53].

Sisplatin kaynaklı periferik nöropati, kuyruk-flick ve sıcak plaka analizlerinde uzamış gecikmelerle gösterildiği gibi termal uyarılara karşı önemli hipoaljeziye yol açmıştır. 10 mg/kg dozunda fisetin uygulanması termal hipoaljeziyi belirgin şekilde azaltmış ve

duyusal duyarlılık üzerinde faydalı bir etkiye işaret etmiştir. Bulgular, fisetinin nosiseptif işlevi iyileştirebileceğini ve sisplatinin duyusal nöronlar üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletebileceğini göstermektedir. Kemoterapi kaynaklı nöropatik ağrının fare modelinde, fisetin tekrarlanan uygulamada (akut değil) doza bağlı bir anti-hiperaljzik etki göstermiştir ve kronik nöropatik ağrıyla ilişkili depresif benzeri davranışları hafiflettiği gösterilmiştir. Bulgular, etkisinin serotoninerjik 5-HT1A reseptörleri aracılığıyla aracılık edilebileceğini göstermiştir [60].

### **5.3. Konfokal mikroskop bulgularının değerlendirilmesi**

Bu çalışmada siyatik sinir dokusundan elde edilen kesitlerde neurofilament, GFAB ve MBP ekspresyonlarının seviyelerine bakılmıştır. İlgili proteinlerin seviyelerindeki değişiklikler sinir dokusunda nöropatik belirtilerle ilişkilendirileceği için bu proteinler seçilmiştir.

Akson sitoskeletonunun önemli bir bileşeni olan nörofilament (Nf), yalnızca aksonlarda ifade edilmeleri ve yapısal stabilitede kritik rol oynamalarından dolayı son zamanlarda akson hasarının bir biyobelirteci olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar kemoterapotiklerle indüklenen periferal nöropatide potansiyel olarak translasyonel kan biyobelirteci olabileceğini ortaya koymuştur [119, 120]. Nörofilemant aksonal hasar sonucunda ekstraselüler sıvıya salınarak, beyin-omurilik sıvısı yada kanda tespit edilebileceği bilinmektedir [121]. Nöroaksonal hasarın bir belirteci olduğu için, Nf birden fazla nörolojik bozuklukta hastalığın bir göstergesi olarak tanımlanmıştır ve periferik veya kemoterapi kaynaklı sinir hasarına özgü değildir. Ancak, Nf düzeylerinin sural sinir biyopsileriyle karşılaştırılması, aktif aksonal dejenerasyon kanıtı olan hastalarda yükselmiş Nfyi ortaya çıkarmıştır [122], bu da Nf'nin kemoterapi ile indüklenen periferal nöropatide bir biyobelirteç olarak potansiyel rolünü vurgulamaktadır [123]. Periferal nöropatilerde Nf konsantrasyonlarını ölçmek için oldukça hassas ve güvenilir yöntemler rapor edilmiş olup, Nf seviyesinin hastalığın şiddetiyle anlamlı korelasyon gösterdiği belirtilmiştir [124].

Sisplatin kaynaklı periferal nöropati, öncelikli olarak aksonal hasarla karakterizedir [40, 125, 126] ve bu durum nörofilament protein seviyelerinin değişimiyle doğrudan ilişkilidir. Nörofilamentler, aksonların yapısal bütünlüğünü ve işlevselliğini koruyan önemli iskelet proteinleridir [127]. Sisplatin tedavisi, nörofilamentlerin yapısal

bütünlüğünü bozabilir ve sonuç olarak aksonal dejenerasyonu hızlandırabilir. Sisplatin, dorsal kök gangliyonlarında (DRG) nöronları hedef alarak mitokondriyal disfonksiyona ve oksidatif strese neden olur. Yapılan çalışmalarda sisplatinin aksonal transportu engellediği gösterilmiştir [128]. Mitokondrilerin %95'i aksonda bulunduğundan, mitokondriyal işlev bozukluğunun ATP'ye bağımlı bir süreç olan aksonal transportun bozulmasına neden olduğu bilinmektedir [128]. Nörofilamentlerin taşınmasının bozulması, akson boyunca proteinlerin ve organellerin dağılımını engelleyerek aksonal hasarı ilerletir [129]. Çalışmalar, sisplatinle tedavi edilen hayvan modellerinde nörofilament düzeylerinde ve dağılımında belirgin değişiklikler olduğunu göstermektedir (REF). Bu bulgular, aksonal yapının korunmasında nörofilamentlerin kritik rol oynadığını ve bu proteinlerin sisplatin kaynaklı nöropatide potansiyel bir biyobelirteç olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda da sisplatine maruz kalan hayvanların siyatik sinir dokusunda nörofilament seviyesinin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Fisetin tedavisiyle neurofilament immunreaktivitesindeki azalma kısmen iyileşerek fisetin aksonal bütünlüğü koruduğu sonucuna varılmıştır.

Nörofilamentlerin yanında, sisplatin nöropatisinde aksonal hasarın tetiklenmesi ile ilaveten nörotrofik destek kaybı, mikrotübül organizasyonunun bozulması ve inflamatuvar yanıtın artışı da sisplatinle indüklenen periferik nöroopti modelinin patofizyolojisine katkı sunmaktadır [36]. Deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ve klinik araştırmalardan elde edilen veriler birlikte değerlendirildiğinde, glial hücrelerin aktivasyonu ve buna bağlı olarak proinflamatuvar sitokinlerin salınımı kemoterapotiklerle indüklenen periferik nöropatinin patofizyolojisinde rol oynamaktadır [40, 125, 128, 130, 131]. Özellikle satellit ve Schwann hücreleri gibi glial hücreler DRG ve aksonlardaki nöroinflamatuvar sürecin sürdürülmesine katkıda bulunabilir [130].

Glial fibriler asidik protein (GFAP), merkezi sinir sistemi (MSS) astrositlerindeki baskın nörofilament olup sitoskeleton yapısından sorumludur [132]. GFAP'ın ayrıca periferik sinir sisteminde (PNS) miyelinleşmeyen olgunlaşmamış Schwann hücrelerinde ve dorsal kök ganglionlarının (DRG) satellit hücrelerinde de ifade edildiği rapor edilmiştir [133]. GFAP, hem olgunlaşmamış dediferansiye hem de olgun miyelinsiz hücreler tarafından ifade edilen Schwann hücrelerinin bir sitoskeleton bileşenidir.

Yapılan çalışmalarda akson hasarından sonra Schwann hücrelerinde bu proteinin ekspresyonunun arttığı, sinir hasarından sonra GFAP ekspresyonunun kaybolduğu durumlarda ise Schwann hücre proliferasyonunda zayıflık olduğu şeklinde bir değerlendirme ifade edilmiştir [134-137]. Periferal sinir hasarından sonra, Schwann hücrelerinin aksonlarla temaslarını kaybederek, GFAP ekspresyonlarını artırdığı ve miyelin oluşturmayan Schwann hücrelerine benzeyen immatur bir dediferansiye fenotip kazandığı ifade edilmiştir [138]. Bizim alışmamızda da özellikle nöropati grubunda sağlıklı hayvanlara kıyasla GFAP ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir. Bu veri literatür ile uyumludur.

#### **5.4. Miyelin Basic Protein**

Miyelin basic proteini, merkezi sinir sisteminde en çok bulunan ikinci proteindir ve miyelinin sitozolik yüzeylerinin yapışmasından sorumludur [66]. MBP, bilhassa otoimmün nörodejenerasyon ve multipl sklerozdaki otoantijenlerden bir tanesidir. Olduğa pozitif yüklü olan MBP, zelti içerisinde belirgin bir yapıda değildir ve hücre içi ortakları hala belirsizdir [67]. Aktin, tblin, Ca(2+)-kalmodulin ve kltrin benzeri polianyonik proteinler ve negatif yüklü lipitlerle birleşerek yapı kazanır. Bir membran aktin bağlayıcı protein olarak tepki verebilir ve bu da oligodendrositlerde sitoskeleton ve miyelindeki sıkı bağlantılara hücre dışı sinyallerin iletilmesine imkan sağlar [139]. MBP, etiyolojik olarak spesifik olmayacak şekilde beyin omurilik sıvısına girerek merkezi sinir sisteminin miyelin hasarı hakkında bilgi sağlar [68].

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda amacımız kanser tedavisinde kullanılan platin ajanlardan biri olan sisplatinin yan etkilerinin, bitkisel flavanoid çeşitlerinden biri olan fisetin ile tedavi edilebilirliğini deneylerle test etmektir. Araştırmamıza konu olan sisplatinin yan etkilerini azaltan etken madde ise fisetin idi. Bu çalışmada fisetinin sisplatin kaynaklı oluşan nöropatilerde terapötik etkinliğinin olup olmadığı araştırıldı. Fisetinin olası protektif etkilerini deneyler yaparak değerlendirdik ve bazı olumlu sonuçlar elde ettik. Bu sonuçlar fisetinin, sisplatin kaynaklı nöropatide iyileştirici etkiler meydana getirerek kemoterapötiklerle indüklenen periferik nöropatik ağrıyı azaltabileceğini gösterdi. Oksidatif stres ve nöroinflamasyonun periferik nöropatiye sebep olduğu bilinmektedir, fisetin antioksidan ve anti inflamatuvar etkisi sayesinde oksidatif stres ve nöroinflamasyonu hafifletilerek bu etkisini göstermiş olabilir. Fisetinin dozundaki artışın tedavi edilebilirlik üzerindeki etkisiyle doğru orantılı olmadığını gözlemledik. Daha yüksek dozda fisetin verildiğinde beklenen düzeyde etkinin görülmemesi farklı moleküler yolların yüksek dozlarda devreye girmiş olabileceği şüphesini taşımaktadır. Sonuç olarak bu çalışmamızda kanser tedavisinde oldukça etkili olan sisplatin aynı zamanda yan etkilere sebep olsa da fisetinin kullanımıyla sisplatinin yan etkilerini azaltılabileceği test edilmiştir. Fakat daha fazla ve farklı çalışmalarla bu araştırmanın desteklenmesi gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Faguet, G.B., A brief history of cancer: age-old milestones underlying our current knowledge database. *Int J Cancer*, 2015. **136**(9): p. 2022-36.
2. Nagai, H. and Y.H. Kim, Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. *J Thorac Dis*, 2017. **9**(3): p. 448-451.
3. Zaimy, M.A., et al., New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. *Cancer Gene Ther*, 2017. **24**(6): p. 233-243.
4. Morris, L., FDA Modernization Act: implications for oncology. *Oncology (Williston Park)*, 1998. **12**(11a): p. 139-41.
5. Pichard-Léandri, E., [Pain in cancer patients. Practical attitude]. *J Chir (Paris)*, 1997. **134**(1): p. 14-21.
6. Dedeli, O. and G. Karadeniz, [An integrated psychosocial-spiritual model for cancer pain management]. *Agri*, 2009. **21**(2): p. 45-53.
7. Pharo, G.H. and L. Zhou, Controlling cancer pain with pharmacotherapy. *J Am Osteopath Assoc*, 2007. **107**(12 Suppl 7): p. Es22-32.
8. Kuzeyli Yildirim, Y., M. Uyar, and C. Fadillioğlu, [Cancer pain and its influence on quality of life]. *Agri*, 2005. **17**(4): p. 17-22.
9. Kurşun, Y.Z., et al., [Analgesic step ladder treatment in cancer patients with pain]. *Agri*, 2015. **27**(1): p. 26-34.
10. Özçelik, H., et al., [Case management based multidisciplinary care protocol in the palliative care of cancer patients]. *Agri*, 2014. **26**(2): p. 47-56.
11. Oun, R., Y.E. Moussa, and N.J. Wheate, The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Trans*, 2018. **47**(19): p. 6645-6653.
12. Monneret, C., Platinum anticancer drugs. From serendipity to rational design. *Ann Pharm Fr*, 2011. **69**(6): p. 286-95.
13. Luo, Z., et al., First report of branch dieback caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Styphnolobium japonicum* (L.) Schott in China. *Plant Dis*, 2023.
14. Hartmann, J.T. and H.P. Lipp, Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother*, 2003. **4**(6): p. 889-901.
15. Dasari, S. and P.B. Tchounwou, Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*, 2014. **740**: p. 364-78.
16. Kelland, L.R., et al., Mini-review: discovery and development of platinum complexes designed to circumvent cisplatin resistance. *J Inorg Biochem*, 1999. **77**(1-2): p. 111-5.

17. Kuwata, K., et al., Comparison of changes in urinary and blood levels of biomarkers associated with proximal tubular injury in rat models. *J Toxicol Pathol*, 2015. **28**(3): p. 151-64.
18. Zhang, C., et al., Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics*, 2022. **12**(5): p. 2115-2132.
19. Tsvetkova, D. and S. Ivanova, Application of Approved Cisplatin Derivatives in Combination Therapy against Different Cancer Diseases. *Molecules*, 2022. **27**(8).
20. Ali, I., et al., Platinum compounds: a hope for future cancer chemotherapy. *Anticancer Agents Med Chem*, 2013. **13**(2): p. 296-306.
21. Dilruba, S. and G.V. Kalayda, Platinum-based drugs: past, present and future. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016. **77**(6): p. 1103-24.
22. Kenny, R.G. and C.J. Marmion, Toward Multi-Targeted Platinum and Ruthenium Drugs-A New Paradigm in Cancer Drug Treatment Regimens? 2019. **119**(2): p. 1058-1137.
23. Seetharam, R., A. Sood, and S. Goel, Oxaliplatin: pre-clinical perspectives on the mechanisms of action, response and resistance. *Ecancermedicallscience*, 2009. **3**: p. 153.
24. Wheate, N.J., et al., The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. *Dalton Trans*, 2010. **39**(35): p. 8113-27.
25. Lipp, H.P. and J.T. Hartmann, [Platinum compounds: metabolism, toxicity and supportive strategies]. *Praxis (Bern 1994)*, 2005. **94**(6): p. 187-98.
26. Amptoulach, S. and N. Tsavaris, Neurotoxicity caused by the treatment with platinum analogues. *Chemother Res Pract*, 2011. **2011**: p. 843019.
27. Park, S.B., et al., Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. *CA Cancer J Clin*, 2013. **63**(6): p. 419-37.
28. Ghosh, S., Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem*, 2019. **88**: p. 102925.
29. Crom, W.R., et al., Pharmacokinetics of anticancer drugs in children. *Clin Pharmacokinet*, 1987. **12**(3): p. 168-213.
30. Murry, D.J., Comparative clinical pharmacology of cisplatin and carboplatin. *Pharmacotherapy*, 1997. **17**(5 Pt 2): p. 140s-145s.
31. Wang, D. and S.J. Lippard, Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 2005. **4**(4): p. 307-20.
32. Ceresa, C. and G. Cavaletti, Drug transporters in chemotherapy induced peripheral neurotoxicity: current knowledge and clinical implications. *Curr Med Chem*, 2011. **18**(3): p. 329-41.

33. Uhelski, M.L., I.A. Khasabova, and D.A. Simone, Inhibition of anandamide hydrolysis attenuates nociceptor sensitization in a murine model of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurophysiol*, 2015. **113**(5): p. 1501-10.
34. Seretny, M., et al., Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain*, 2014. **155**(12): p. 2461-2470.
35. Ezzi, M.S., et al., Prevalence and Predictors of Cisplatin-Induced Peripheral Neuropathy at the Kenyatta National Hospital. *J Glob Oncol*, 2019. **5**: p. 1-6.
36. Areti, A., et al., Oxidative stress and nerve damage: role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox Biol*, 2014. **2**: p. 289-95.
37. Basen-Engquist, K., et al., Reliability and validity of the functional assessment of cancer therapy-ovarian. *J Clin Oncol*, 2001. **19**(6): p. 1809-17.
38. Brown, D.R., et al., Recruitment and retention of minority women in cancer screening, prevention, and treatment trials. *Ann Epidemiol*, 2000. **10**(8 Suppl): p. S13-21.
39. Wolf, S., et al., Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. *Eur J Cancer*, 2008. **44**(11): p. 1507-15.
40. Starobova, H. and I. Vetter, Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Mol Neurosci*, 2017. **10**: p. 174.
41. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2012. **490**(7418): p. 61-70.
42. Han, Y. and M.T. Smith, Pathobiology of cancer chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). *Front Pharmacol*, 2013. **4**: p. 156.
43. Strumberg, D., et al., Evaluation of long-term toxicity in patients after cisplatin-based chemotherapy for non-seminomatous testicular cancer. *Ann Oncol*, 2002. **13**(2): p. 229-36.
44. Hile, E.S., G.K. Fitzgerald, and S.A. Studenski, Persistent mobility disability after neurotoxic chemotherapy. *Phys Ther*, 2010. **90**(11): p. 1649-57.
45. Zhu, Q. and L. Cheng, The genetic source tracking of human urinary exosomes. 2021. **118**(43).
46. Brouwers, E.E., et al., Persistent neuropathy after treatment with cisplatin and oxaliplatin. *Acta Oncol*, 2009. **48**(6): p. 832-41.
47. Valko, M., H. Morris, and M.T. Cronin, Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*, 2005. **12**(10): p. 1161-208.

48. Almutairi, M.M., et al., Neuro-protective effect of rutin against Cisplatin-induced neurotoxic rat model. *BMC Complement Altern Med*, 2017. **17**(1): p. 472.
49. Waseem, M., et al., Role of Mitochondrial Mechanism in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Curr Drug Metab*, 2018. **19**(1): p. 47-54.
50. Mangiacavalli, S., et al., Emergent T-helper 2 profile with high interleukin-6 levels correlates with the appearance of bortezomib-induced neuropathic pain. *Br J Haematol*, 2010. **149**(6): p. 916-8.
51. Averill, S., et al., Immunocytochemical localization of trkA receptors in chemically identified subgroups of adult rat sensory neurons. *Eur J Neurosci*, 1995. **7**(7): p. 1484-94.
52. Xie, R.G., et al., Characterization of Different Types of Excitability in Large Somatosensory Neurons and Its Plastic Changes in Pathological Pain States. *Int J Mol Sci*, 2018. **19**(1).
53. Tomaszewski, A. and D. Büsselberg, Cisplatin modulates voltage gated channel currents of dorsal root ganglion neurons of rats. *Neurotoxicology*, 2007. **28**(1): p. 49-58.
54. Özkaya, D. and M. Nazıroğlu, Curcumin diminishes cisplatin-induced apoptosis and mitochondrial oxidative stress through inhibition of TRPM2 channel signaling pathway in mouse optic nerve. *J Recept Signal Transduct Res*, 2020. **40**(2): p. 97-108.
55. Meijer, S., et al., Cisplatin-induced nephrotoxicity. *Neth J Med*, 1982. **25**(8): p. 262-9.
56. Ali, R. and M. Aouida, Can Cisplatin Therapy Be Improved? Pathways That Can Be Targeted. 2022. **23**(13).
57. Comis, R.L., Cisplatin: the future. *Semin Oncol*, 1994. **21**(5 Suppl 12): p. 109-13.
58. Arakaki, X., et al., The connection between heart rate variability (HRV), neurological health, and cognition: A literature review. *Front Neurosci*, 2023. **17**: p. 1055445.
59. McKeage, M.J., New-generation platinum drugs in the treatment of cisplatin-resistant cancers. *Expert Opin Investig Drugs*, 2005. **14**(8): p. 1033-46.
60. Dasari, S., et al., Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy. 2022. **23**(3).
61. Gentilin, E., New Advancements in Cisplatin-Based Treatments. *Int J Mol Sci*, 2023. **24**(6).
62. Liu, Y.S., Y.C. Chang, and W.W. Kuo, Correction: Liu, Y.-S.; et al. Inhibition of Protein Phosphatase 1 Stimulates Noncanonical ER Stress eIF2 $\alpha$  Activation

to Enhance Fisetin-Induced Chemosensitivity in HDAC Inhibitor-Resistant Hepatocellular Carcinoma Cells. *Cancers* 2019, 11, 918. 2020. **12**(11).

63. Argyriou, A.A., et al., Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012. **82**(1): p. 51-77.
64. Park, H.J., et al., Persistent hyperalgesia in the cisplatin-treated mouse as defined by threshold measures, the conditioned place preference paradigm, and changes in dorsal root ganglia activated transcription factor 3: the effects of gabapentin, ketorolac, and etanercept. *Anesth Analg*, 2013. **116**(1): p. 224-31.
65. Benavente-García, O., et al., Beneficial action of Citrus flavonoids on multiple cancer-related biological pathways. *Curr Cancer Drug Targets*, 2007. **7**(8): p. 795-809.
66. Romagnolo, D.F. and O.I. Selmin, Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence. *J Nutr Gerontol Geriatr*, 2012. **31**(3): p. 206-38.
67. Parasuraman, S., G.S. Thing, and S.A. Dhanaraj, Polyherbal formulation: Concept of ayurveda. *Pharmacogn Rev*, 2014. **8**(16): p. 73-80.
68. Pérez-Jiménez, J., et al., Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr*, 2010. **64 Suppl 3**: p. S112-20.
69. Kashyap, D., et al., Fisetin: A bioactive phytochemical with potential for cancer prevention and pharmacotherapy. *Life Sci*, 2018. **194**: p. 75-87.
70. Kubina, R. and K. Krzykawski, Fisetin, a Potent Anticancer Flavonol Exhibiting Cytotoxic Activity against Neoplastic Malignant Cells and Cancerous Conditions: A Scoping, Comprehensive Review. 2022. **14**(13).
71. Adhami, V.M., et al., Dietary flavonoid fisetin: a novel dual inhibitor of PI3K/Akt and mTOR for prostate cancer management. *Biochem Pharmacol*, 2012. **84**(10): p. 1277-81.
72. Kimira, M., et al., Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *J Epidemiol*, 1998. **8**(3): p. 168-75.
73. Giampieri, F., et al., Polyphenol-rich strawberry extract protects human dermal fibroblasts against hydrogen peroxide oxidative damage and improves mitochondrial functionality. *Molecules*, 2014. **19**(6): p. 7798-816.
74. Basu, A., et al., Effects of Dietary Strawberry Supplementation on Antioxidant Biomarkers in Obese Adults with Above Optimal Serum Lipids. *J Nutr Metab*, 2016. **2016**: p. 3910630.
75. Seo, S.H. and G.S. Jeong, Fisetin inhibits TNF- $\alpha$ -induced inflammatory action and hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human keratinocyte HaCaT cells through PI3K/AKT/Nrf-2-mediated heme oxygenase-1 expression. *Int Immunopharmacol*, 2015. **29**(2): p. 246-253.

76. Wang, J., et al., Fisetin inhibits *Listeria monocytogenes* virulence by interfering with the oligomerization of listeriolysin O. *J Infect Dis*, 2015. **211**(9): p. 1376-87.
77. Karahan, G., et al., Effects of trimetazidine on nerve regeneration in a rat sciatic nerve injury model. *Bratisl Lek Listy*, 2019. **120**(10): p. 777-782.
78. Fyhrquist, F., K. Metsärinne, and I. Tikkanen, Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *J Hum Hypertens*, 1995. **9 Suppl 5**: p. S19-24.
79. Shanmugam, K., S. Ravindran, and G.A. Kurian, Fisetin Confers Cardioprotection against Myocardial Ischemia Reperfusion Injury by Suppressing Mitochondrial Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction and Inhibiting Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$  Activity. 2018. **2018**: p. 9173436.
80. Pal, H.C., R.L. Pearlman, and F. Afaq, Fisetin and Its Role in Chronic Diseases. *Adv Exp Med Biol*, 2016. **928**: p. 213-244.
81. Zhou, Z.S., et al., Fisetin Ameliorates Alcohol-Induced Liver Injury through Regulating SIRT1 and SphK1 Pathway. *Am J Chin Med*, 2022. **50**(8): p. 2171-2184.
82. Ravula, A.R., et al., Fisetin, potential flavonoid with multifarious targets for treating neurological disorders: An updated review. *Eur J Pharmacol*, 2021. **910**: p. 174492.
83. Ding, H., et al., Fisetin ameliorates cognitive impairment by activating mitophagy and suppressing neuroinflammation in rats with sepsis-associated encephalopathy. 2022. **28**(2): p. 247-258.
84. Farooqi, A.A., et al., Cancer chemopreventive role of fisetin: Regulation of cell signaling pathways in different cancers. *Pharmacol Res*, 2021. **172**: p. 105784.
85. Kashyap, D., et al., Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential. 2019. **9**(5).
86. Khan, N., et al., Fisetin: a dietary antioxidant for health promotion. *Antioxid Redox Signal*, 2013. **19**(2): p. 151-62.
87. Zhou, C., et al., Biological effects and mechanisms of fisetin in cancer: a promising anti-cancer agent. *Eur J Med Res*, 2023. **28**(1): p. 297.
88. Yang-Li, D., et al., Recommendations for the diagnosis and management of childhood Prader-Willi syndrome in China. 2022. **17**(1): p. 221.
89. Alikatte, K., et al., Fisetin Improved Rotenone-Induced Behavioral Deficits, Oxidative Changes, and Mitochondrial Dysfunctions in Rat Model of Parkinson's Disease. *J Diet Suppl*, 2021. **18**(1): p. 57-71.

90. Li, D., et al., Fisetin Attenuates Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy In Vivo and In Vitro by Inhibiting Ferroptosis Through SIRT1/Nrf2 Signaling Pathway Activation. *Front Pharmacol*, 2021. **12**: p. 808480.
91. Eroglu, E., et al., 2-Aminoethoxydiphenyl borate ameliorates functional and structural abnormalities in cisplatin-induced peripheral neuropathy. *J Trace Elem Med Biol*, 2022. **70**: p. 126909.
92. Chen, L., et al., Liquiritigenin alleviates mechanical and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model. *Sci Rep*, 2014. **4**: p. 5676.
93. Griffiths, L.A., et al., Evoked and Ongoing Pain-Like Behaviours in a Rat Model of Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathy. 2018. **2018**: p. 8217613.
94. Yamamoto, T., N. Nozaki-Taguchi, and T. Chiba, Analgesic effect of intrathecally administered orexin-A in the rat formalin test and in the rat hot plate test. *Br J Pharmacol*, 2002. **137**(2): p. 170-6.
95. Singh, P., et al., Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurol*, 2018. **18**(1): p. 43.
96. Sakurai, M., et al., Oxaliplatin-induced neuropathy in the rat: involvement of oxalate in cold hyperalgesia but not mechanical allodynia. *Pain*, 2009. **147**(1-3): p. 165-74.
97. Le Bars, D., M. Gozariu, and S.W. Cadden, Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*, 2001. **53**(4): p. 597-652.
98. Han, F.Y., B.D. Wyse, and M.T. Smith, Optimization and pharmacological characterization of a refined cisplatin-induced rat model of peripheral neuropathic pain. *Behav Pharmacol*, 2014. **25**(8): p. 732-40.
99. Lin, H., B.H. Heo, and M.H. Yoon, A New Rat Model of Cisplatin-induced Neuropathic Pain. *Korean J Pain*, 2015. **28**(4): p. 236-43.
100. Alsalem, M. and M. Haddad, Effects of Dual Peroxisome Proliferator-Activated Receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  Activation in Two Rat Models of Neuropathic Pain. 2019. **2019**: p. 2630232.
101. Yildirim, C., et al., Boric acid improves the behavioral, electrophysiological and histological parameters of cisplatin-induced peripheral neuropathy in rats. *J Trace Elem Med Biol*, 2022. **70**: p. 126917.
102. Bebek, N. and M. Ertas, [Neuropathic pain]. *Agri*, 2007. **19**(3): p. 5-10.
103. Giampieri, F., J.M. Alvarez-Suarez, and M. Battino, Strawberry and human health: effects beyond antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, 2014. **62**(18): p. 3867-76.

104. Chen, C., et al., Meta-analysis of Hsa-mir-499 polymorphism (rs3746444) for cancer risk: evidence from 31 case-control studies. *BMC Med Genet*, 2014. **15**: p. 126.
105. Chiorazzi, A., S. Semperboni, and P. Marmioli, Current View in Platinum Drug Mechanisms of Peripheral Neurotoxicity. *Toxics*, 2015. **3**(3): p. 304-321.
106. Go, R.S. and A.A. Adjei, Review of the comparative pharmacology and clinical activity of cisplatin and carboplatin. *J Clin Oncol*, 1999. **17**(1): p. 409-22.
107. Hassan, S.S.U., et al., The neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid in neurodegenerative diseases: Focus on the role of oxidative stress. *Front Pharmacol*, 2022. **13**: p. 1015835.
108. Mills, C., et al., Estimating efficacy and drug ED50's using von Frey thresholds: impact of weber's law and log transformation. *J Pain*, 2012. **13**(6): p. 519-23.
109. Menéndez, L., et al., Unilateral hot plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. *J Neurosci Methods*, 2002. **113**(1): p. 91-7.
110. Ta, L.E., P.A. Low, and A.J. Windebank, Mice with cisplatin and oxaliplatin-induced painful neuropathy develop distinct early responses to thermal stimuli. *Mol Pain*, 2009. **5**: p. 9.
111. Authier, N., et al., Assessment of allodynia and hyperalgesia after cisplatin administration to rats. *Neurosci Lett*, 2000. **291**(2): p. 73-6.
112. Agthong, S., A. Kaewsema, and T. Charoensub, Curcumin Ameliorates Functional and Structural Abnormalities in Cisplatin-induced Neuropathy. *Exp Neurobiol*, 2015. **24**(2): p. 139-45.
113. Hunskaar, S., O.G. Berge, and K. Hole, A modified hot-plate test sensitive to mild analgesics. *Behav Brain Res*, 1986. **21**(2): p. 101-8.
114. Knoll, J., Experimental studies on the higher nervous activity of animals. VI. Further studies on active reflexes. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, 1957. **12**(1-3): p. 65-92.
115. Seto, Y., et al., Time dependent cisplatin dosing differences on hypoalgesia focusing on oxidative stress. *Eur J Pharmacol*, 2023. **942**: p. 175519.
116. Schäfers, M. and L. Sorkin, Effect of cytokines on neuronal excitability. *Neurosci Lett*, 2008. **437**(3): p. 188-93.
117. Chen, M. and J. Shan, Answer to the letter to the editor of N. Balak concerning "Anatomic relationship between the cervical sympathetic trunk and cervical fascia and its application in the anterolateral cervical spine surgical approach" by M. Chen, et al. (*Eur Spine J* 30; 425-430). *Eur Spine J*, 2022. **31**(1): p. 208-209.
118. Zhao, Y., et al., Role of lung and gut microbiota on lung cancer pathogenesis. 2021. **147**(8): p. 2177-2186.

119. Meregalli, C., et al., Neurofilament light chain as disease biomarker in a rodent model of chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Exp Neurol*, 2018. **307**: p. 129-132.
120. Mortensen, C. and K.D. Steffensen, Neurofilament light chain as a biomarker of axonal damage in sensory neurons and paclitaxel-induced peripheral neuropathy in patients with ovarian cancer. 2023. **164**(7): p. 1502-1511.
121. Yuan, A., et al., Neurofilaments at a glance. *J Cell Sci*, 2012. **125**(Pt 14): p. 3257-63.
122. Huehnchen, P., et al., Rationale and design of the prevention of paclitaxel-related neurological side effects with lithium trial - Protocol of a multicenter, randomized, double-blind, placebo- controlled proof-of-concept phase-2 clinical trial. *Front Med (Lausanne)*, 2022. **9**: p. 967964.
123. Park, S.B., A. Cetinkaya-Fisgin, and A.A. Argyriou, Axonal degeneration in chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: clinical and experimental evidence. 2023. **94**(11): p. 962-972.
124. Sandelius, Å., et al., Plasma neurofilament light chain concentration in the inherited peripheral neuropathies. *Neurology*, 2018. **90**(6): p. e518-e524.
125. Roelofs, R.I., et al., Peripheral sensory neuropathy and cisplatin chemotherapy. *Neurology*, 1984. **34**(7): p. 934-8.
126. Authier, N., et al., An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Exp Neurol*, 2003. **182**(1): p. 12-20.
127. Yuan, A., et al., Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2017. **9**(4).
128. Podratz, J.L., et al., Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiol Dis*, 2011. **41**(3): p. 661-8.
129. Berth, S.H. and T.E. Lloyd, Disruption of axonal transport in neurodegeneration. *J Clin Invest*, 2023. **133**(11).
130. Fumagalli, G., et al., Neuroinflammatory Process Involved in Different Preclinical Models of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Immunol*, 2020. **11**: p. 626687.
131. Staff, N.P., et al., Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A current review. *Ann Neurol*, 2017. **81**(6): p. 772-781.
132. Middeldorp, J. and E.M. Hol, GFAP in health and disease. *Prog Neurobiol*, 2011. **93**(3): p. 421-43.
133. Fang, B., et al., Autoimmune Glial Fibrillary Acidic Protein Astrocytopathy: A Novel Meningoencephalomyelitis. *JAMA Neurol*, 2016. **73**(11): p. 1297-1307.

134. Bianchini, D., et al., GFAP expression of human Schwann cells in tissue culture. *Brain Res*, 1992. **570**(1-2): p. 209-17.
135. Triolo, D., et al., Loss of glial fibrillary acidic protein (GFAP) impairs Schwann cell proliferation and delays nerve regeneration after damage. *J Cell Sci*, 2006. **119**(Pt 19): p. 3981-93.
136. Mancardi, G.L., et al., Schwann cell GFAP expression increases in axonal neuropathies. *J Neurol Sci*, 1991. **102**(2): p. 177-83.
137. Theuriet, J., et al., Peripheral nervous system involvement accompanies central nervous system involvement in anti-glial fibrillary acidic protein (GFAP) antibody-related disease. 2023. **270**(11): p. 5545-5560.
138. Finocchiaro, A., et al., Botulinum Toxin B Affects Neuropathic Pain but Not Functional Recovery after Peripheral Nerve Injury in a Mouse Model. 2018. **10**(3).
139. Boggs, J.M., Myelin basic protein: a multifunctional protein. *Cell Mol Life Sci*, 2006. **63**(17): p. 1945-61.

## 8. EKLER

### EK 1. Etik Kurul



T.C.  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI  
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI



TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	TOPLANTI YERİ
13.07.2023	6	Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı (Türkçe ve İngilizce)	Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati modelinde fisetin'in protektif etkilerinin incelenmesi
	Başvuru Tarihi	21.06.2023
	Protokol no	312
	Kullanılacak deney hayvanı (tür/ırk/cinsiyet/sayı)	Sıçan / Wistar Albino / Erkek / 42

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2023/19
	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Red Dr. Öğr. Üyesi Caner YILDIRIM'ın yürütücüsü olduğu ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, başvurunun Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesince "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

Yürütücü	Dr. Öğr. Üyesi Caner YILDIRIM Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı
Araştırmacılar	Prof. Dr. Ramazan BAL, Doç. Dr. Şenay Görücü YILMAZ, Doktora Öğrencisi Sena ÇEVİK, Yüksek Lisans Öğrencisi Cansel ADIGÜZEL

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. Piraye KERVANCIOĞLU (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Anatomi AD.	H	E	
Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. A. Tunçay DEMİRYÜREK (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Tckin KARSLIĞIL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Emine Elçin EMRE (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü	H	H	
Prof. Dr. Can DEMİREL (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	H	E	
Doç. Dr. Haluk ŞEN (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Üroloji AD.	H	E	
Doç. Dr. Merve GÖYMEN (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti AD.	H	E	
Dr. Öğr. Üyesi A. Sarper BOZKURT (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gülbin KAVAK (Üye)	GAÜN Tıp F. Radyasyon Onkolojisi AD.	H	H	
Veteriner Hekim Filiz BIÇICI (Üye)	GAÜN Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNÜJAM)	H	E	
Veteriner Hekim Celal ÖZSOYLER (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Avukat Orhan BEYAZ (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	H	

E: Evet, H: Hayır

## 9. ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenim ve lise eğitimini Gaziantep’te tamamladı. Üniversite eğitimini 2021 yılında Fırat Üniversitesinde Beslenme ve diyetetik bölümü üzerine tamamladı. 2021 yılında Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Fizyoloji anabilim dalında başladı.



