



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**DENEYSEL OKSALİPLATİN İLİŞKİLİ PERİFERİK
NÖROPATİ MODELİNDE N-ASETİLSİSTEİNİN
KORUYUCU ETKİSİ**

OKAN ERMİŞ

NÖROBİLİM PROGRAMI

KASIM 2023



**DENEYSEL OKSALİPLATİN İLİŞKİLİ PERİFERİK NÖROPATİ
MODELİNDE N-ASETİLSİSTEİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

Okan ERMİŞ

**DOKTORA TEZİ
NÖROBİLİM PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KASIM 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Okan ERMİŞ

10/11/2023

DENEYSEL OKSALİPLATİN İLİŞKİLİ PERİFERİK NÖROPATİ MODELİNDE N-ASETİLSİSTEİNİN KORUYUCU ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Okan ERMİŞ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2023

ÖZET

Oksaliplatin, kolorektal kanserlerde birinci basamak kemoterapötik bir ajandır. Oksaliplatin ilişkili periferik nöropatiye bağlı oluşan ağrı, dizestezi ve soğuk hiperaljezisi en önemli yan etkilerdir. Hastalarda doz sınırlayıcı olan ve hatta tedaviye ara vermeye sebep olabilen nöropatiyi önleyici ve tedavi edici kesin yöntem ve ilaç bulunmamaktadır. Sıçanlarda oksaliplatin ilişkili periferik nöropati modeli oluşturulması ve N-asetilsisteinin önleyici ve tedavi edici etkisini araştırmak amaçlandı. Sıçanlar kontrol, oksaliplatin ve oksaliplatin+N-asetilsistein olarak 3 gruba ayrıldı; her grup 6 sıçan içeriyordu. Tüm sıçanlara deneyin ilk gününde intraperitoneal 6 mg/kg oksaliplatin veya araç ve ilk günden itibaren her gün intraperitoneal NAC 50 mg/kg/gün veya araç enjekte edildi. Sıçanlar deney öncesi ve 3., 7., 14. ve 21. günlerde mekanik allodini için von Frey testi ve soğuk hiperaljezisi için cold plate ile değerlendirildi. 21. gün sakrifikasyon ile pence dokuları ve periferik sinir (siyatik) dokuları alındı. Pence dokularında hematoksilen eozin boyama ve PGP9.5 immünohistokimya boyaması, periferik sinir dokularında ise hematoksilen eozin ve toludin mavisi boyama yapıldı. Oksaliplatin enjeksiyonu yapılan sıçanlarda 3. günde ön ve arka pence eşiği kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü. Oksaliplatin grubunda mekanik allodini deneyin son gününe kadar devam etti. Oksaliplatin+NAC grubunda 7. gün arka ayak Von Frey değerleri, oksaliplatin grubuna göre anlamlı olarak yüksekti. Cold plate ile yapılan ağrılı pence kaldırma oksaliplatin alan sıçan gruplarında daha fazlaydı. Periferik sinir incelemelerinde sıçanlarda siyatik sinir alanları gruplar arasında fark görülmedi. Aksonal dejenerasyonu gösteren g-oranı artışı, miyelin kılıf kalınlığı azalması oksaliplatin alan sıçanlarda görülmesine rağmen sadece oksaliplatin+NAC grubunda kontrol grubuna göre fark anlamlıydı. Pençelerde oksaliplatin grubunda İENFD azalmış bulundu, oksaliplatin+NAC alan sıçanlarda ise İENFD korunmuş bulundu. NAC ince lif nöropatisinde azalan intraepidermal sinir lifi kaybından koruduğu gösterildi. Ancak OİPN'ye bağlı mekanik allodini ve soğuk hiperaljezisi önleme ve tedavisinde yeterli olmayabilir. NAC ve kemoterapi ilişkili periferik nöropati ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bilim Kodu : 10105.06

Anahtar Kelimeler : Periferik Nöropati, Kemoterapi, Oksaliplatin

Sayfa Adedi : 65

Danışman : Prof. Dr. Didem Tuba AKÇALI

THE PROTECTIVE EFFECT OF N-ACETYLCYSTEINE ON EXPERIMENTAL
OXALIPLATIN-INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY MODEL
(PhD Thesis)

Okan ERMİŞ

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
November 2023

ABSTRACT

Oxaliplatin is a first-line chemotherapeutic agent in colorectal cancers. Pain, dysesthesia and cold hyperalgesia due to oxaliplatin-induced peripheral neuropathy are the most important adverse effects. Neuropathy causes dose-limiting and may even cause interruption of treatment and there is no certain method or drug to prevent or treat neuropathy. We aimed to establish an oxaliplatin-associated peripheral neuropathy model in rats and to investigate the preventive and therapeutic effects of N-acetylcysteine. Rats were divided in 3 groups as control, oxaliplatin and oxaliplatin + N-acetylcysteine; each group contained 6 rats. All rats were injected intraperitoneally 6 mg/kg oxaliplatin or vehicle on the first day of experiment and NAC 50 mg/kg/day or vehicle was injected intraperitoneally everyday starting at the first day to 21th day. Rats were evaluated with von Frey test for mechanical allodynia and cold plate for cold hyperalgesia before the experiment and at the 3rd, 7th, 14th and 21th days. In oxaliplatin and oxaliplatin+NAC groups forepaw and hind paw threshold was significantly lower on the 3rd day of oxaliplatin injection compared to control group. In oxaliplatin group allodynia continued until the last day of experiment. In NAC group, VF values of hindpaw were significantly higher compared to oxaliplatin group on the 7th day. Painful paw lifting count with the cold plate test was significantly higher in oxaliplatin and oxaliplatin+NAC groups. Sciatic nerve areas were similar in rat groups. Although increased g-ratio indicating axonal degeneration and decreased myelin sheath thickness were seen in oxaliplatin-treated rats, only oxaliplatin+NAC group had a significant difference compared to the control group. IENFD was found lower in the oxaliplatin group, whereas IENFD was preserved in the rats receiving oxaliplatin+NAC. Although NAC protected from small fiber neuropathy with preventing intraepidermal nerve fiber loss. But it may be insufficient in the prevention and treatment of mechanical allodynia and cold hyperalgesia due to OIPN. Further studies needed for NAC in chemotherapy induced peripheral neuropathy.

Science Code : 10105.06

Keywords : Peripheral Neuropathy, Chemotherapy, Oxaliplatin

Page Number : 65

Supervisor : Prof. Dr. Didem Tuba AKÇALI

TEŞEKKÜR

Akademik hayatım ve tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her aşamada yanımda olan tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Didem Tuba AKÇALI'ya, doktora programı süresince ve tez çalışmasında akademik tecrübesini ve bilgilerini esirgemeyen ve destekleyen Prof. Dr. Hayrünisa BOLAY BELEN'e, deney aşamalarında birlikte çalıştığımız ve her zaman her konuda yardımlarını esirgemeyen Sayın Öğr. Gör. Elif Gülçiçek ABBASOĞLU TOPA'ya, doktora sürecinde bilimsel ve cihazsal desteği için Doç. Dr. Ergin DİLEKÖZ'e, bilimsel desteği için tıp fakültesinden hocam Prof. Dr. Yıldırım SARA'ya, histolojik analizler için Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Çevik TUFAN'a ve Dr. Gülben AKCAN'a ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Oksaliplatin.....	3
2.1.1. Etki mekanizması	4
2.1.2. Oksaliplatin klinik uygulaması	6
2.2. Periferik Sinir Anatomisi	8
2.2.1. Kütanöz inervasyon	11
2.2.2. Sıçanlarda siyatik sinir ve dalları	11
2.3. Kemoterapi ilişkili Periferik Nöropati	12
2.3.1. Oksaliplatin ilişkili periferik nöropati	13
2.4. N-Asetilsistein.....	17
2.4.1. N-asetilsistein, kanser ve kemoterapi	19
2.5. Kemirgenler Ağrı Değerlendirmesi.....	20
2.5.1. Mekanik allodini testleri.....	20
2.5.2. Termal allodini ve hiperaljezi testleri.....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25

	Sayfa
3.1. Hayvanlar	25
3.2. Kemoterapi İlişkili Nöropatik Ağrı Modeli	25
3.2.1. Uygulanan ilaçlar.....	25
3.3. Çalışma Grupları	25
3.4. Ağrı Testleri	26
3.4.1. Von Frey filamentleri	26
3.4.2. Cold plate testi	26
3.5. Histopatolojik İnceleme	27
3.5.1. Parafin blok hazırlığı ve hematoxilen eozin boyaması	27
3.5.2. Periferik sinir (siyatik sinir) yarı ince kesit hazırlığı ve toluidin mavisini boyaması	28
3.5.3. Pençe dokusunda immünhistokimya boyama.....	28
3.6. İstatistik	29
4. BULGULAR	31
4.1. Davranış Testleri- Mekanik Allodini ve Soğuk Hiperaljezi.....	31
4.2. Histolojik Değerlendirme.....	34
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
6.1. Sonuçlar.....	49
6.2. Öneriler	49
KAYNAKLAR	51
EKLER.....	59
EK-1: Etik Kurul.....	60
ÖZGEÇMİŞ	64

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Oksaliplatin ile kombine kemoterapi protokolleri.....	6
Çizelge 2.2. Oksaliplatin ile etkileşim açısından dikkat edilmesi gereken ilaçlar.....	7
Çizelge 2.3. Sinir lifleri ve klinik semptom/bulgular	9
Çizelge 2.4. Kemoterapi ilişkili periferik nöropati yapan ajanlar.....	12
Çizelge 2.5. NAC adjuvan veya tedavi olarak kullanılabileceği sistemler ve hastalıklar.....	18
Çizelge 2.6. Von Frey filamentleri boyut ve uyguladığı kuvvet.....	21

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Oksaliplatin formülü.....	3
Şekil 2.2. Oksaliplatin DNA eklentisi.....	4
Şekil 2.3. Periferik sinir lif tipleri ve özellikleri	8
Şekil 2.4. Periferik sinir sistemi organizasyonu.....	9
Şekil 2.5. Sıçanlarda siyatik sinir ve dalları.....	11
Şekil 2.6. N-Asetilsistein formülü	17
Şekil 4.1. Gruplar arasında ön pençelerde von Frey filamentleriyle mekanik allodininin karşılaştırılması.....	31
Şekil 4.2. Gruplar arasında arka pençelerde von Frey filamentleriyle mekanik allodininin karşılaştırılması.....	32
Şekil 4.3. Gruplar arası zamana göre ağırlı pençe kaldırma sayısı.....	33
Şekil 4.4. Ağırlı pençe kaldırma sayısının yüzdesel değişimi grup içinde karşılaştırılması.....	33
Şekil 4.5. Deneyin 21. günde her grubun 5 dakikalık Cold plate süresinde ağırlı davranış ve ağırlı olmayan doğal davranış süreleri	34
Şekil 4.6. Hematoksilen–Eozinle boyanan periferik sinirlerde gruplara göre histolojik inceleme.....	35
Şekil 4.7. Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde periferik sinir alanı karşılaştırması	37
Şekil 4.8. Gruplar arasında Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde sinir lifi dansitesi karşılaştırması	37
Şekil 4.9. Gruplar arasında toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde g-oranı karşılaştırması.....	38
Şekil 4.10. Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde miyelin kılıf kalınlığı karşılaştırması.....	38
Şekil 4.11. PGP9.5 immünohistokimyasal boyama gruplar arası H skoru ile karşılaştırılması.....	40
Şekil 4.12. PGP9.5 immünohistokimyasal boyama gruplar arası İENFD karşılaştırılması.....	42

RESİMLER LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Von Frey filamentleri	21
Resim 3.1. Cold plate testi	26
Resim 4.1. Gruplar arasında Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde yapısal inceleme.....	36
Resim 4.2. Gruplar arasında Hematoksilen-Eozin ile boyanmış ön ve arka pençelerde sinirlerde yapısal inceleme	39
Resim 4.3. Gruplar arasında ön ve arka pençelerde Anti PGP9.5 ile boyanma	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	santigrat
µm	mikrometre
Ca ⁺²	kalsiyum
g	gram
K ⁺	potasyum
Mg ⁺²	magnezyum
mg	miligram
mg/kg	miligram/kilogram
mg/m ²	miligram/metrekare
ml	mililitre
mm	milimetre
mm ²	milimetre-kare
Na ⁺	sodyum
sn	saniye

Kısaltmalar	Açıklamalar
5FU	5-fluorourasil
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AEC	3-amino-9-etil-karbazol
APK	Serin-treonin kinazlar
ASCO	American Society of Clinical Oncology (Amerikan Klinik Onkoloji Derneği)
ATP	Adenozin trifosfat
ATP7A	Adenozin trifosfat bağlayıcı transporter A
ATP7B	Adenozin trifosfat bağlayıcı transporter B
CAR	Chimeric (kimerik) antijen reseptörü

Kısaltmalar	Açıklamalar
COX2	Siklooksijenaz-2
CPT	Cold plate (soğuk zemin testi)
CTR1	Copper Transporter 1
DACH	Diaminosikloheksan
DNA	Deoksiribonükleik asit
DRG	Dorsal root ganglion (Arka kök gangliyonu)
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
DTR	Derin tendon refleksi
ERK1/2	Ekstraselüler sinyalle regüle kinaz 1/2
FDA	Food and Drug Administration (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi)
FOLFOX	Folinik asit + Fluorourasil + Oksaliplatin
GFAP	Glial fibril asidik protein
GSH	Glutasyon
HCV	Hepatit C virüsü
HIV	Human Immunodeficiency Virus (İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü)
HRP	Horseradish peroxidase (Bayır turpu peroksidazı)
IARC	The International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)
İENF	İntraepidermal nerve fiber (intraepidermal sinir lifi)
İENFD	İntraepidermal nerve fiber density (intraepidermal sinir lifi dansitesi)
JNK	c-Jun N-terminal kinaz
KİPN	Kemoterapi ilişkili periferik nöropati
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MATE1	Multidrug and toxin extrusion 1
miRNA	MikroRNA
MMR	Mismatch repair
MRP2	Multidrug resistance-associated protein 2
NAC	N-asetilsistein
NCI-CTCAE	The National Cancer Institute - Common Terminology Criteria for Adverse Events (Ulusal Kanser Enstitüsü - Yan Etkilere Karşı Ortak Terminoloji Kriterleri)

Kısaltmalar	Açıklamalar
NER	Nükleotid eksizyon onarımı (repair)
NFD	Sinir (nerve) lifi (fiber) dansitesi
NGF	Nerve growth factor (sinir büyüme faktörü)
Nrf2	Nuclear factor erythroid2-related factor2
OCT1	Organic Cation Transporter-1
OCT2	Organic Cation Transporter-2
OCT3	Organic Cation Transporter-3
OİPN	Oksaliplatin ilişkili periferik nöropati
PAR2	Proteinaz aktive reseptör
PBS	Phosphate-buffered saline (Fosfat tamponlu salin)
PGP9.5	Protein gene protein 9.5
PKC	Protein kinaz C
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen ürünleri (species)
TLC	Thin-layer chromatography
TRP	Transient Reseptör Potansiyel
TRPA1	Transient Reseptör Potansiyel Ankirin 1
TRPM8	Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 8
TRPV1	Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1
VF	von Frey
XELOX	Kapesitabin + oksaliplatin

1. GİRİŞ

Kanser insidansı, nüfus artışı ve bireylerin yaşam sürelerinin uzamasıyla giderek artmaktadır. Sağkalım kemoterapi, cerrahi ve radyoterapi uygulamaları ile hastaların üçte ikisinde 5 yıl ve üzerine çıkmıştır [1]. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC: The International Agency for Research on Cancer) tarafından yayınlanan Global Kanser İstatistikleri (GLOBOCAN 2020)'nde, yıllık 19,3 milyon kanser vakası öngörülmüş, bunların %10'unu (~ 1,9 milyon) kolorektal kanserler oluşturmuştur [2].

İleri ve metastatik kolorektal kanserlerde kemoterapi protokolü olarak oksaliplatin, 5-fluorourasil ve leukovorin standart olarak iki haftada bir olacak şekilde kullanılmaktadır [3]. Tedavi süresince periferik nöropati, sitopeni, bulantı ve kusma yan etkileri görülebilmektedir [4,5]. Tedavinin devam etmesinde ve yaşam kalitesinin sürdürülmesinde en önemli yan etki nörotoksisite sonucu olan oksaliplatin ilişkili periferik nöropatidir (OİPN). Hastaların başlıca semptomları ekstremitelerde olan OİPN'de karakteristik olan soğuk hiperaljezisi ve periferik dizestezi [5]. Tedavi başlangıcı ile başlayan bu semptomlar 2 ila 3 günde belirgin şiddete ulaşır ve iki tedavi arasında eski haline dönmez [6]. Nöropatik ağrının şiddetine göre oksaliplatin dozu azaltılmakta, hatta çok şiddetli nöropatik ağrıda tedaviye ara vermek gerekebilmektedir [5]. Bu tek dozla bile başlayan nöropatinin son oksaliplatin dozundan sonra ne kadar devam ettiği bilinmemektedir [6].

Oksaliplatin 3. kuşak platin grubu kemoterapötik ajandır. Hem akut hem de kronik periferik nöropatiye sebep olabilmektedir [5,7]. Tek doz tedavi uygulaması ile bile akut olarak nörotoksik etki başlayabilmektedir [8]. Oksaliplatin ilişkili periferik nöropati mekanizması tam olarak açık olmasa da başta arka kök gangliyonlarında ve periferik sinirlerde olmak üzere iyon kanal (Na , K^+ , Ca^{+2}) disfonksiyonları, Transient Reseptör Potansiyel (TRP) kanallarında değişim, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon, hücre ölümü potansiyel mekanizmalardır. Oluşan nörotoksisite sonucu kalın lif ve ince lif nöropatisi oluşmaktadır [5,7,9].

Oksaliplatine bağlı periferik nöropatiden korunma ve tedavi amaçlı antiinflamatuvar, antioksidan, iyon kanalı hedefli ilaçlar ve nörotransmitter hedefli ilaçların etkinliği yönünde çalışmalar mevcuttur [10-12]. N-asetilsistein (NAC) koruyuculuk açısından antioksidan

etkileri nedeniyle ağırlı diyabetik nöropatilerde, kemoterapi ilişkili periferik nöropati (KİPN) çalışılmalarında kullanılmış ilaçlardandır [12-18].

N-asetilsistein, L-sistein ve redükte glutatyon (GSH) öncülü antioksidan özellikli ilaçtır. Bu özellikleriyle ilk olarak mukolitik olarak kullanıma girmiştir [13]. Ayrıca parasetamol zehirlenmesinde antidot olarak kullanılmaktadır [19]. Özellikle antioksidan etkileri nedeniyle deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır [14].

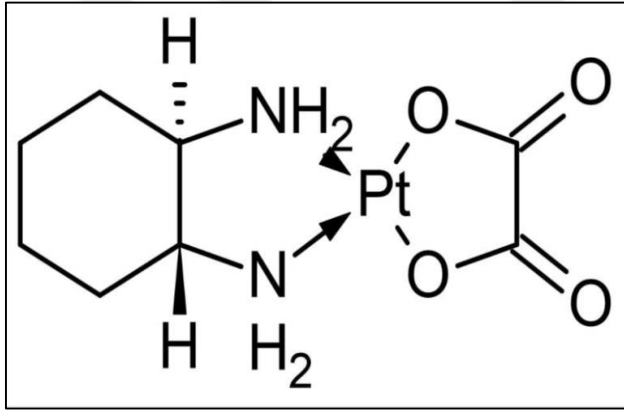
Çalışmamızda manuel von Frey testi ile mekanik allodini ve cold plate (soğuk zemin) testi ile soğuk hiperaljezisinin davranışsal olarak incelenmesi, periferik sinir hasarı incelenmesi ve insanda da ince lif nöropatisi tanısında cilt biyopsisinde altın standart olan anti Protein Gene Protein 9.5 (anti-PGP9.5) immünohistokimya boyaması ile intraepidermal sinir lifleri (intraepidermal nerve fiber - İENF) incelemesi yaparak oksaliplatin ilişkili periferik nöropatiyi göstermeyi ve N-asetilsistein koruyucu etkinliğini incelemeyi amaçladık [20-23]. H_0 , oksaliplatin alan sıçanlarda N-asetilsistein ince lif nöropatisinden korumamıştır. H_1 , oksaliplatin alan sıçanlarda N-asetilsistein ince lif nöropatisinden korumuştur.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksaliplatin

1976 yılında kolorektal kanser tedavisi için Nagoya Şehir Üniversitesi'nde Yoshinori Kidani tarafından geliştirildi [24].

Kimyasal adı (SP-4-2)-[(1R,2R)-1,2-Cyclohexanediamine-kN1,kN2][ethanedioato(2-)-kO1,kO2]-platinum olan oksaliplatin 3. Kuşak platin grubundandır. Moleküler formülü ise $C_8H_{14}N_2O_4Pt$ 'dir ve molekül ağırlığı 397.29 daltondur [24] (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Oksaliplatin formülü ($C_8H_{14}N_2O_4Pt$)

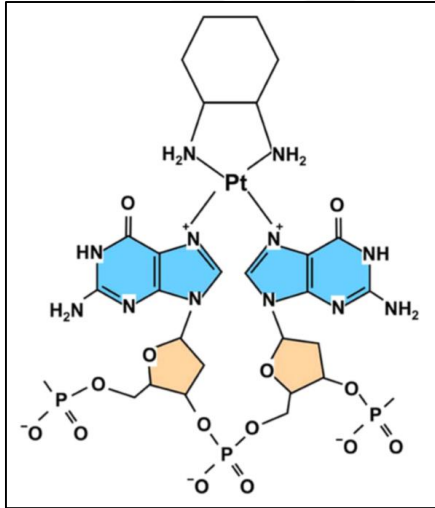
Oksaliplatin veya trans-L-dach (1R, 2R-diaminosikloheksan) oksalatoplatin (L-OHP), diaminosikloheksan (DACH) parçasına sahip olması ve bir 'ayrılabilen grup' oksalat varlığıyla cisplatin ve karboplatinden farklıdır. Oksaliplatin hızla plazmada enzimatik olmayan bir dönüşüme uğrayarak ara maddelere dönüşür. İlacın anti-tümör aktivitesi, plazmanın ultrafiltre edilebilir fraksiyonunda bulunan serbest platin türleri ile gerçekleşir [24,25].

Oksaliplatin, başlıca albümin olmak üzere plazma proteinlerine ve eritrositlere bağlanır. 2 saatlik infüzyondan sonra ilacın yaklaşık %15'i kanda kalırken, oksaliplatinin eliminasyonu ağırlıklı olarak renal eliminasyon sonucu idrar yoluyla (%53.8 +/- 9.1) olur. Uygulamadan 5 gün sonra dışkı yolu ile uygulanan dozun %2,1 +/- 1,9'u görülebilmektedir. Böbrek klerensi glomerüler filtrasyon hızıyla koreledir. Karaciğer fonksiyonlarından etkilenmez [24-26].

Platin kısmının farmokinetiği aktif ve inaktif bağlı olmayan platin olarak incelenmiştir. Bağlı olmayan platinlerin eliminasyonu trifaziktir. Yarı ömürleri kısa olan iki faz 0,28 - 0,43 ($t_{1/2}$ [alfa]) ve 16,3 - 16,8 ($t_{1/2}$ [beta]) saat sürer ve uygulanan doza (85 mg/m² veya 130 mg/m²) bağlı olarak değişir. Uzun terminal fazın ise ($t_{1/2}$ [gama]) 273 - 391 saat yarı ömrü vardır [24].

2.1.1. Etki mekanizması

Platin grubu olan oksaliplatin diğer platin grubu ilaçlar gibi DNA (deoksiribonükleik asit) hasarı yaparak sitotoksik etkisini oluşturur [24-27]. Platin grupları özellikle DNA üzerinde guanin N⁷ atomunu hedefler ve DNA eklentileri (DNA-addukt) oluşturur. Önce tekli eklenti (monoaddukt) sonra ikili (diaddukt) oluşturur (Şekil 2.2) [25,27]. DNA-platin eklentilerinin oluşumu DNA replikasyonu ve RNA (ribonükleik asit) transkripsiyonunun inhibisyonunda rol oynar [25-27]. DNA eklentilerinin aktive edilmesiyle kanser hücresi bölünmesinin durdurulması hücre ölümü ve tümör bozulmasına neden olan apoptotik yollar aktive olur [27].



Şekil 2.2. Oksaliplatin DNA eklentisi (Oksaliplatin DNA addukt) [27]

Oksaliplatin etki mekanizmasında diğer platin grubuyla ortak mekanizmalar

- Mitokondriyal fonksiyonun değişmesi, ardından solunum zinciri fonksiyonunun bozulması ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artması;
- Mitokondriyal DNA replikasyonu ve transkripsiyonunun inhibisyonu, mitokondriyal fonksiyonun değişmesi ve apoptozun aktivasyonu;

- Bağımsızlık sisteminin aktivasyonu (makrofajlar, T-hücreleri ve monositler), ardından proinflatuar sitokinlerin salınması ve apoptozun aktivasyonu;
- Tümör hücrelerine yol açan protein kinaz ailelerinin (MAPK, mitojenle aktive olan protein kinazlar; JNK, c-Jun N-terminal kinaz; PKC, protein kinaz C; AKT, serin-treonin kinazlar) işlevi ve kalsiyum sinyal yolları üzerindeki apoptoz etkisidir.

Oksaliplatin ile diğer platin grupları arasında;

- İlaç taşınması ve metabolizmasında,
- Oksaliplatin eklentilerinin boyutunun çok daha büyük olması nedeniyle DNA-platin eklentilerinin sonuçlarında
- DNA eklentilerinin onarımında yer alan mekanizmalardaki (nükleotid eksizyon onarımı-NER) ve DNA mismatch repair (MMR) sistemi aracılığıyla DNA hasarının algılanmasında
- Apoptoz aktivasyonu veya immünojenik hücre ölümü gibi DNA hasar sinyallerinin transdüksiyonundaki farklılıklar mevcuttur [27].

Oksaliplatinin hedef hücre içinde akkümüle olabilmesi, klinik aktivite için gerekmektedir. Oksaliplatin hücreye girişi hem pasif difüzyon hem de transporterlar aracılığıyla olmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde pasif diffüzyonla daha hidrofilik olan sisplatine karşı geçirgenlik yüzünden ilaca rezistans hücreler de dahil olmak üzere tümör hücrelerinde sisplatinden daha iyi birikebilir [27]. Hücrelerde biriken ilaç miktarı ayrıca hem içe akış (influx) hem de dışa akış (efflux) taşıyıcı aktivitelerinden etkilenir. Bu tür faktörler, DNA'ya ulaşan oksaliplatinin miktarını, terapötik etkisini ve yan etkilerini etkileyebilir.

Oksaliplatin hücre içine alımda OCT1 (Organic Cation Transporter-1), OCT2 ve OCT3 ve CTR1 (Copper Transporter) gösterilmiştir. Hücre dışına atılmada da ATP7A ve ATP7B (ATP-bağlayıcı transporter A ve B), MATE1 (multidrug and toxin extrusion 1) ve MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2) rol oynar. MRP2 aracılı hücre dışı atılım glutatyon (GSH)-oksaliplatin konjüsgasyonu ile olur [27]. Bu nedenle glutatyon seviyeleri platin detoksifikasyonda ve rezistansında rol oynayabilir. Bu transporterların bütün mekanizmaları ve görevleri tam aydınlatılmadığında endojen substratların da etkisi bilinmemektedir [27].

2.1.2. Oksaliplatin klinik uygulaması

Oksaliplatin klinikte ilk kullanıma sunulduğu 1996 yılında Fransa'da olmuştur. Daha sonra 1999 yılında Avrupa'da ve 2002 yılında ABD'de kliniğe girmiştir [27]. Oksaliplatinin FDA (Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi) tarafınca 2004 yılında antineoplastik olarak kullanımı onaylanmıştır. Ana endikasyonu ileri evre ve metastatik kolorektal kanserlerdir. 5-fluorourasil ve lökovorin ile birlikte FOLFOX protokolü olarak birlikte verilmektedir. XELOX (kapesitabin ve oksaliplatin) protokolü de cerrahi rezeksiyon sonrası rekürrens riski yüksek hastalarda verilmektedir [24].

Çizelge 2.1. Oksaliplatin ile kombine kemoterapi protokolleri [24]

Protokol	İlaç/Doz/Takvim
FOLFOX4	5FU 400 mg/m ² i.v. bolus ve 5FU 600 mg/m ² i.v. takiben LV 200 mg/m ² i.v. 22 saat infüzyon ardışık 2 gün, iki haftada bir Oksaliplatin 85 mg/m ² , iki haftada bir
mFOLFOX6	5FU 400 mg/m ² i.v bolus ve 5FU 2400 mg/m ² i.v. takiben LV 400 mg/m ² i.v 46 saat infüzyon, iki haftada bir Oksaliplatin 85 mg/m ² , iki haftada bir
mFOLFOX7	5FU 3000--3200 mg/m ² i.v. takiben LV 400 mg/m ² i.v 48 saat infüzyon, iki haftada bir Oksaliplatin 85 mg/m ² , iki haftada bir
XELOX	Kapesitabin 1000 mg/m ² p.o. 14 gün boyunca haftada 2 kez, 3 haftada bir Oksaliplatin 130 mg/m ² , üç haftada bir

5-FU: 5-Fluorourasil LV: Lökovorin i.v.:intravenöz p.o: per oral

Oksaliplatin endikasyon dışı reçete ile kullanıldığı durumlar da mevcuttur (26):

- Kapesitabin (XELOX olarak bilinen bir rejim) veya gemesitabin ile kombinasyon halinde ilerlemiş biliyer adenokarsinom
- Fludarabin, sitarabin ve rituximab ile kombinasyon halinde fludarabine refrakter kronik lenfositik lösemi
- Epirubisin veya kapesitabin veya dosetaksel, lökovorin ve fluorourasil ile kombinasyon halinde özofagus ve mide kanserleri
- Kapesitabin ile kombinasyon halinde refrakter nöroendokrin tümörler
- Gemesitabin ve rituksimab ile kombinasyon halinde refrakter veya nükseden non-Hodgkin lenfoma
- İleri over kanseri
- Kapesitabin veya fluorourasil, lökovorin ve irinotekan ile kombinasyon halinde ilerlemiş pankreas kanseri
- Gemesitabin ve paklitaksel ile kombinasyon halinde refrakter testis kanseri

Oksaliplatin kullanımının kontraendike olduğu durumlar aşağıdaki gibidir [26]:

- Platin aşırı duyarlılık anafilaksisi
- Posterior geri dönüşümlü ensefalopati sendromu
- Derece 3 veya 4 periferik duyuşal nöropati
- Şiddetli böbrek yetmezliğı
- Kronik akciğer hastalığı
- Rabdomiyoliz
- Sepsis
- Hamile olan veya hamile kalmayı düşünenlerde
- Emzirme

Oksaliplatinin dar bir terapötik indeksi vardır, ilaç etkileşimleri, advers/toksik etkileri artırabileceğı veya terapötik etkileri azaltabileceğı için diğeri ilaçlarla birlikte uygulandığında yakından izlenmelidir. Etkileşim açısından bilinen dikkat edilmesi gereken ilaçlar Çizelge 2.2'deki gibidir [26].

Çizelge 2.2. Oksaliplatin ile etkileşim açısından dikkat edilmesi gereken ilaçlar [26]

Barisitinib	Erdafitinib	Nivolumab	Sipuleucel-T
DMARDlar	Fingolimod	Ocrelizumab	Takrolimus
Kloramfenikol	Fosfenitoin-fenitoin	Palifermin	Tafenokin
Kladribin	Haloperidol	Pidotimod	Taksan türevleri
Klozapin	Leflunomid	Pimekrolimus	Tertomotit
Deferipron	Lenograstim	Promazin	Tofasitinib
Denosumab	Lipegfilgrastim	QT uzatıcı ajanlar	Topotekan
Dipiron	Mesalamin	Roflumilast	Upadasitinib
Ekinezya	Natalizumab	Siponimod	Aşılar

Yan etkiler

Hematolojik: Oksaliplatin orta derecede miyelotoksiktir. Kemik iliğı progenitör hücrelerinde baskılanma ve periferik lökositlerde platinum-DNA eklentileri (platin-DNA adduct) muhtemel mekanizmalardır. Miyelotoksitenin şiddeti doz orantılıdır. İntravenöz olarak 85–135 mg/m² uygulamalarla 3. ve 4. derece nötropeni yaygındır, ancak nötropenik ateş insidansı sadece %4 oranındadır. Anemi ve trombositopeni genelde ciddi derecede olmaz [24,25]. Daha az görülen yan etkiler de hipersensivite reaksiyonları sonucu oluşan hemolitik anemi, sekonder immün trombositopenidir [24-26]. Çok nadir olarak sekonder akut lösemi bildirilmiştir [25].

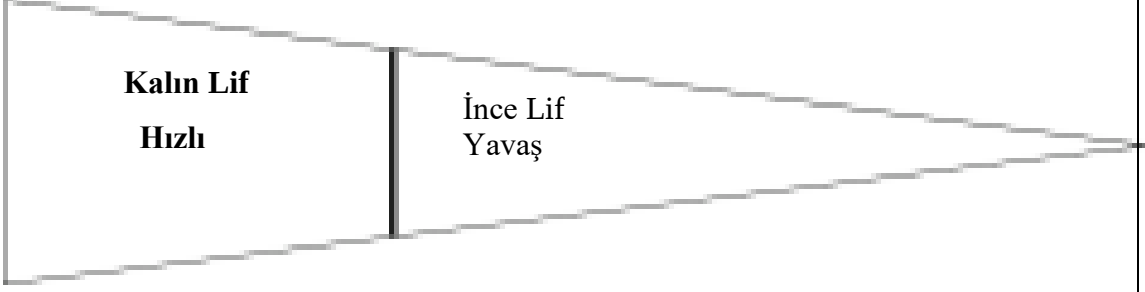
Gastrointestinal: Hafif ile orta derecelerde spesifik olmayan bulantı, kusma ve diyare görülebilmektedir [24-26].

Periferik nöropati: Tedavide doz kısıtlamalarına, hatta tedaviye ara vermeye neden olması nedeniyle en ciddi ve üzerinde en çok çalışma yapılan yan etkidir [5, 24-27].

2.2. Periferik Sinir Anatomisi

Periferik sinir sistemi (PSS), santral sinir sisteminin (SSS) bir uzantısıdır ve organlara, sistemlere, ekstremitelere ve cilde bağlanır. PSS otonomik, somatik motor ve duysal sinir lifleri, çevreleyen bağ doku ve kan damarlarından oluşur [28]. Bu lifler, akson çaplarına ve iletim hızlarına (en büyük ve en hızlıdan en küçüğüne ve en yavaşına) göre A α , A β , A δ veya C liflerini oluşturur (Şekil 2.3). Liflerin iletim hızları ve çapları görevleri ile ilişkilidir (Çizelge 2.3). PSS kan beyin bariyeri tarafından korunmaz ve bu nedenle ilaçların toksik etkilerine karşı daha savunmasızdır [29].

Periferik motor sinirler, omurilik ön boynuzunda yerleşmiş olan motor nöronların ön kökten omuriliği terkederek çıkan sinir lifleri tarafından oluşturulur (Şekil 2.3). Motor sinir terminalinde nöromüsküler kavşakta innerve ettiği kasla bağlantı kurarlar. Sempatik nöronların gövdeleri ise sempatik gangliyonlardadır [30].

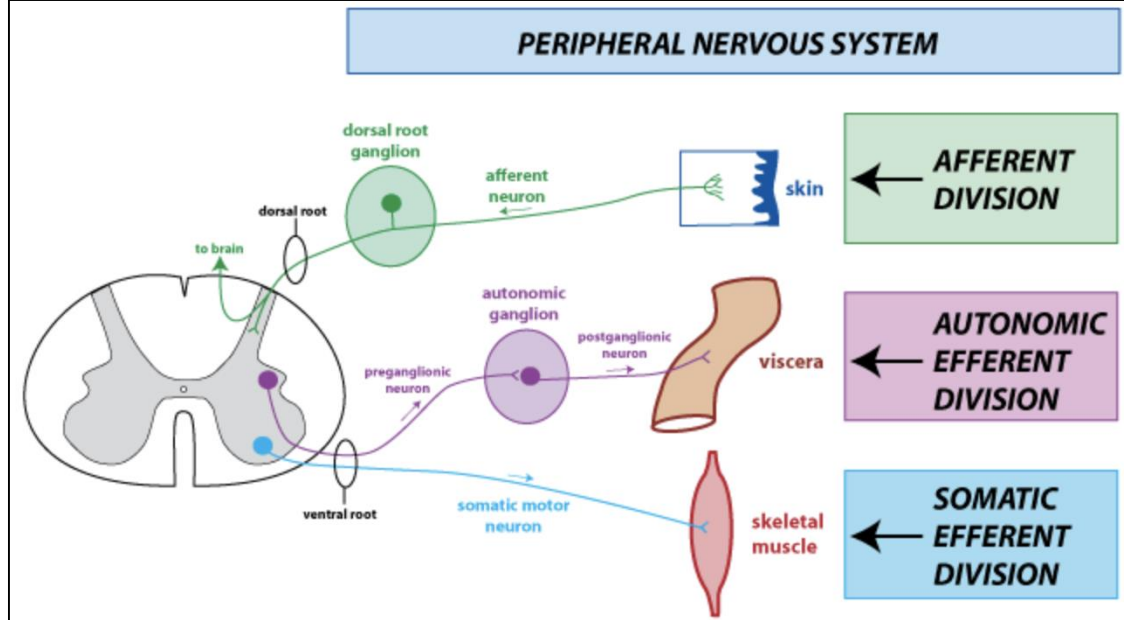
MOTOR		DUYUSAL		OTONOMİK	
Miyelinli	Miyelinli	İnce miyelinli	Miyelinsiz	İnce miyelinli	Miyelinsiz
Aα	Aα ve Aβ	Aδ	C	C	
					
Kas kontrolü	Dokunma, vibrasyon, pozisyon algısı	Soğuk algısı, ağrı	Sıcak algısı, ağrı	Kalp atım hızı, kan basıncı, terleme, GIS fonksiyon	

Şekil 2.3. Periferik sinir lif tipleri ve özellikleri [29]

Çizelge 2.3. Sinir lifleri ve klinik semptom/bulgular [29]

Hasarlı lif	Negatif semptom/bulgular	Pozitif semptom/bulgular
Motor lif	Güçsüzlük Yorgunluk Hiporefleksi	Fasikülasyonlar Kramplar Miyokimiler
Kalın duyuşal lif	Hipoestezi Vibrasyon duyu değişimi Artrokinetik duyu değişimi Hiporefleksi	Parestezi Dizestezi
İnce duyuşal lif	Hipoaljezi Termal duyarlılık değişikliği	Dizestezi (yanma) Allodini
Otonom lif	Hipotansiyon Konstipasyon Hipohidrozis İmpotans Üriner kollaps	Hipertansiyon Diyare Hiperhidrozis Priapizm

Duyusal sistem, sinir sisteminin çevreden gelen uyarıları işlemekten sorumlu kısmıdır. Termoreseptörler, mekanoreseptörler, nosiseptörler, fotoreseptörler ve kemoreseptörler ile algılanan uyarılar elektriksel uyarana işlenerek periferik sinir lifleriyle (1. Nöron) SSS'ne iletilir (Şekil 2.4). Uyarı SSS içinde spinotalamik yol (2. Nöron) ile talamusa ve talamokortikal iletim (3. Nöron) ile bu duyumlar algılanır.



Şekil 2.4. Periferik sinir sistemi organizasyonu [30]

Periferik duyuşal nöronların hücre gövdeleri omuriliğin dışında, intervertebral foramende yerleşimli dorsal root ganglionu (DRG) içindedir. DRG nöronları psödonipolardır; tek bir akson hücre gövdesinden dışarı çıkar ve T şeklinde kavşak yapar. Aksonun periferik kısmı, periferdeki reseptör uçlarına kadar uzanır ve afferent sinyallemeden sorumludur. Aksonun

santral kısmı, arka kökten girerek SSS'ne uzanır. Ayrıca DRG'ler, rami iletişim sinirleri aracılığıyla sempatik zincirle yakından bağlantılıdır [28,31]. A β , A δ ve C lifleri periferik duyu bilgisini DRG'deki ilgili somalarına taşırlar. DRG, ağrı iletimi de dahil olmak üzere duysal iletim ve modülasyona katılır. Ek olarak, DRG'ler büyük bir glial hücre popülasyonuna sahiptir; her DRG, nöronlardan yaklaşık sekiz kat daha fazla gliaya sahiptir [31].

Sinir liflerini mezonöryum, epinöryum, perinöryum, endonöryum ve miyelin kılıfı destekler. Mezonöryum, sinir gövdesini yumuşak doku içinde tutar ve epinöryum ile devam eden bağ dokusu kılıfıdır. Epinöral kılıf, ekstrinsik kan damarlarını içerir ve diğer iç pleksuslar epinöryum, perinöryum ve endonöryumda bulunur. İnterfasiküler epinöryum, sinir gövdesini mekanik strese karşı koruyan uzunlamasına kollajen liflerinden oluşan gevşek bağ dokusudur. Perinöryum, tek tek fasikülleri veya akson demetlerini kaplayan bağ dokusu tabakasıdır. Endonöryum, tek tek aksonları doğrudan kaplayan fibröz dokudur. Bireysel aksonlar, periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından üretilen miyelin (C lifleri hariç) ile çevrelenmiştir [28]. Travma, enfeksiyon, inflamasyon, ilaç toksisitesi aksonlarda hasarlama yapabilir:

Segmental Demiyelinizasyon: Aksonunun korunarak miyelin kılıfının dejenerasyon sürecidir. Genellikle inflamatuardır, immün aracılı da olabilir. Mononöropatilerde, sensorimotorda veya temel olarak motor nöropatilerde ortaya çıkabilir [32].

Wallerian Dejenerasyonu: Sinir travması veya enfarktüsüne sekonder veya fiziksel kompresyon nedeniyle bir sinir aksonu dejenere olduktan sonra meydana gelir; fokal mononöropati ile sonuçlanır [32].

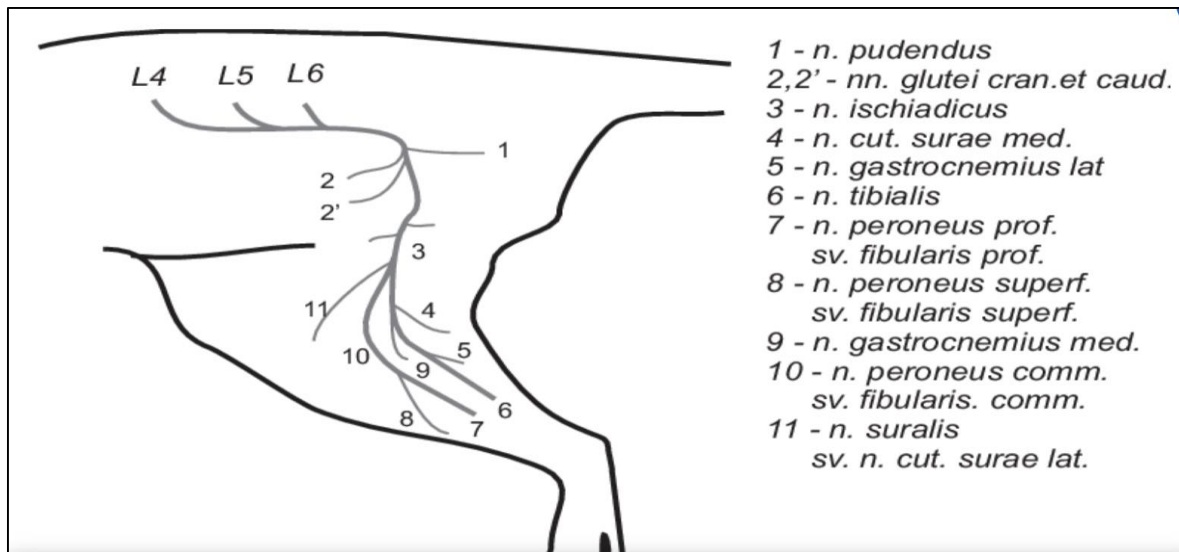
Aksonal Dejenerasyon (dying back): Genellikle simetrik polinöropati olarak ortaya çıkar. Akson, distalden başlayan ve proksimale doğru ilerleyen şekilde dejenere olur. Aksonun en distal kısmının, hücre gövdesinden uzaklığı nedeniyle savunmasız olduğu düşünülmektedir. Diyabet, HIV, HCV ve Guillain-Barre sendromunda görülür [32]. KİPN'nin prototipik bir patolojik özelliğidir ve hem hastalarda hem de kemirgen modellerinde cilt biyopsisi (İENF ölçümü) ve periferik sinir incelemeleriyle değerlendirilebilir [33].

2.2.1. Kütanöz inervasyon

Derinin miyelinli ve miyelinsiz somatosensoriyel sinir lifler tarafından innervasyonudur. Bu lifler A β , A δ veya C liflerinden oluşur. Büyük miyelinli A β lifleri, titreşim ve hafif dokunma hislerini iletir ve dermis içinde sonlanır. Sıcaklık ve ağrı sinyalleri ince miyelinli A δ lifleri ve miyelinsiz C lifleri tarafından iletilir. Anatomik olarak, dermal A β ve A δ lifleri, bazal lamina salgılayan ve miyelin kılıfları üreten Schwann hücreleri ile birliktedir. Dermisteki C lifleri, miyelinsiz Schwann hücreleri tarafından oluşturulan sürekli bir bazal lamina tarafından sarılmış olan tipik olarak 2 ila 3 akson içeren Remak demetleri halindedir. Dermal sinir demetlerinin çoğu, dikey dalların cilt yüzeyine doğru uzandığı yüzeysel dermiste yatay olarak yönlendirilmiş bir sinir lifi pleksusu oluşturan miyelinsiz duyusal lifleri içerir. Dermal-epidermal bileşkede, aksonlar Schwann hücre kılıflarını kaybederler, miyelinsiz tek aksonlar olarak epidermise girerler ve bazal keratinositler arasından geçerek sonunda serbest epidermal sinir lifi uçları olarak sonlanırlar. Sistemik hastalık, nörotoksisite veya doğrudan travma nedeniyle A δ ve/veya C liflerinin hasar görmesi intraepidermal sinir(nerve) lifi(fiber) İENF kaybına ve ince lif nöropatisine yol açar [34].

2.2.2. Sıçanlarda siyatik sinir ve dalları

Sıçanlarda siyatik sinir L4, L5 ve L6 dan köken alır ve popliteal fossaya doğru tibial ve peroneal sinirlere ve uç dallarına ayrılır (Şekil 2.5). Miyelinli ve miyelinsiz duyusal lifler, miyelinli motor lifler ve miyelinsiz otonomik liflerden oluşur [35].



Şekil 2.5. Sıçanlarda siyatik sinir ve dalları [35]

2.3. Kemoterapi İlişkili Periferik Nöropati

Kemoterapi ilişkili periferik nöropati (KİPN), kemoterapiye bağlı en sık karşılaşılan yan etkilerdir. Platinyum bileşikler (sisplatin, oksaliplatin, karboplatin), taksanlar (paklitaksel, dosataksel), vinka alkaloidleri (vinkristin, vinblastin) proteozom inhibitörü (bortezomib) ve hedefe yönelik monoklonal antikorlar (brentuksimab, trastuzumab) nörotoksisite oluşturarak KİPN oluşturan kemoterapötiklerdir [36-42]. KİPN ilişkili ajanlar, etki mekanizmaları ve klinik bilgiler Çizelge 2.4' teki gibidir.

Çizelge 2.4. Kemoterapi ilişkili periferik nöropati yapan ajanlar [36-42]

Kemoterapi	Etki mekanizması	Kullanıldığı kanser türü	Klinik tablo
Platin			
Sisplatin	DNA alkilasyonu	Testis, lösemi, lenfoma, meme, over	Kalın lif nöropatisi, distal parestezi, erken DTR kaybı, ataksi, ağrı (nadiren)
Oksaliplatin	DNA alkilasyonu	Kolon, GİS	Akut %85-95 Soğuk hiperaljezi, ekstremitelerde parestezi Kronik % 40 Duyu kaybı, propriosepsiyon duyusunda azalma
Karboplatin	DNA alkilasyonu	Jinekolojik	Distal parestezi, ataksi
Vinka alkaloidleri			
Vinkristin	Mikrotübül stabilizörü	Lösemi, lenfoma, multiple myelom, küçük hücre dışı akciğer kanseri	Duyusal ve motor nöropati Parestesi, hiperestezi, DTR azalma Otonom disfonksiyon
Vinblastin	Mikrotübül stabilizörü	Lenfoma, baş boyun, küçük hücre dışı akciğer kanseri	Vinkristine göre daha az
Taksanlar			
Paklitaksel	Mikrotübül stabilizörü	Meme, jinekolojik	Akut nörotoksisite Distal simetrik parestezi, dizestezi Distal simetrik zayıflık, DTR azalma
Dosataksel	Mikrotübül stabilizörü	Meme, baş boyun, mide prostat, küçük hücre dışı akciğer kanseri	Paklitaksel benzeri
Bortezomib	Mikrotübül stabilizörü	Multipl myelom, Lenfomalar	İnce lif nöropatisi, otonom disfonksiyon
Brentuksimab	Anti-CD30	Hodgkin Lenfoma	Duyusal ve motor nöropati, duyusal ataksi

Kemoterapi ilişkili periferik nöropati semptomları nedeniyle hastalar hasta tedaviyi sonlandırmak isteyebilirken, hastaların yaklaşık yarısında bazı semptomlar kalıcı olabilmektedir. Oksaliplatin, hem akut ve hem kronik periferik nöropati oluşturabilmesi ve tedavinin devamlılığını etkileyebilmesi açısından en önemli kemoterapötiklerdendir [5,29].

2.3.1. Oksaliplatin ilişkili periferik nöropati

Oksaliplatin anti-neoplastik etkilerini, hücre siklusu durmasına ve apoptoza yol açan platin-DNA adduktları oluşturarak gösterirler. Oksaliplatinin kan-beyin bariyerini geçememektedir. Nörotoksisite sonucu DRG’de hücre gövdesinde etkilenme, aksonal dejenerasyon ve ince lif nöropatisi sonucu duyuşal nöropati tablosuyla seyreden oksaliplatin ilişkili periferik nöropati (OİPN) ortaya çıkar [5,9,40-43]. Oksaliplatin tedavisinin en ciddi yan etkisi olan bu nöropati, doz azaltma veya tedaviye ara vermayla sonuçlanabilir. Semptomlar, süre, insidans ve diğer klinik özellikler farkları nedeniyle akut ve kronik OİPN olarak ayrılabilir [5,7,42,43].

85 ila 130 mg/m² arasında değişen dozda oksaliplatin tedavi edilen hastaların %85–95’inin herhangi bir derecede nörotoksisite yaşadığı gösterilmektedir [5,7,9,42,43]. Akut OİPN oksaliplatin infüzyonunun birkaç saat sonrası başlayabilen soğuga duyarlılık, mekanik allodini ve periferik parestezi olabilmektedir. Oksaliplatin rutin olarak 2 saatte infüzyon olarak verilir, ilk uygulamayla bile semptomlar başlayabilir. Hastalar soğuk nesnelere dokunmakta ve soğuk içecek içmekte zorlanabilirler. Soğuk duyarlılığı (soğuk hiperaljezisi) OİPN’yi diğer KİPN’lerden ayırır [5,9]. Akut OİPN’de periferik parestezisi genellikle ekstremitelerden başlar ve bazen ağız çevresinde olabilmektedir. Hastalar ek olarak dilde, çenede, gözlerde ve kaslarda fasikülasyon ve tetanik spazm yaşayabilir [5,7,40-42].

Kronik OİPN, hastaların %40-93 ’ünde görülür. 85 mg/m² dozda 9-10 kür veya 130 mg/m² dozda 6 kür kümülatif dozuna eşdeğer olan toplam 540-850 mg/m² oksaliplatin uygulamasıyla oluşabilir [5,43]. Kümülatif dozla ve akut OİPN şiddetiyle orantılı olabilmektedir [43]. Aksonal dejenerasyon sonucu eldiven çorap tarzında oluşan parestezinin yanı sıra, ince motor koordinasyonu gerektiren diğer bazı faaliyetler, günlük aktiviteleri etkileyen duyu kaybı ve propriyosepsiyonda değişikliklerle sonuçlanabilir [5,9]. Tedavinin sonlandırılmasından sonra, kronik OİPN’nin semptomları 6-12 ay içinde kademeli olarak kaybolabilir. Tam tersi son kür tamamlanmasından aylar sonra nöropatik ağrı başlayabilir veya mevcut nöropati kötüleşebilir, buna “coasting” fenomeni denmektedir [5,7,9,40-42]. Deriden alınan biyopside ince lif hasarının tespiti (İENFD azalması) nöropatinin erken teşhisini sağlayabilir [42].

OİPN potansiyel moleküler mekanizmalar

İyon kanalı disfonksiyonları

Sodyum (Na^+) kanalları hem akut OİPN, hem de kronik OİPN ile ilişkisi gösterilmiştir [5]. Oksaliplatin degradasyon ürünü olan oksalat ile DRG’de voltaj-bağımlı Na^+ kanallarında açık kalışda uzama gösterilmiştir. Ayrıca lidokain ile soğuk hiperaljezisinde ve mekanik allodinide düzelme gösterilmiştir. Oksaliplatin, hiperpolarizasyonla aktive olan HCN gibi kanallar proeksitator K^+ kanallarının ekspresyonunu artırarak voltaj kapılı K^+ kanallarında fonksiyonel anormallikleri indükleyebilir. Ayrıca, yavaş aksonal K^+ -kanallarının (Kv7) aktivasyonunu takiben oksaliplatin kaynaklı hipereksitabilite azaltabilmektedir. Kalsiyum (Ca^{+2}) kanalları hücre homeostazisinde önemli rol oynamaktadır ve bozukluğunda akson dejenerasyonunda rol oynar. Klinikte oksaliplatin infüzyonu öncesi Ca^{+2} glukonat ve Mg^{+2} sülfatın intravenöz uygulamasının verildiği gözlemsel çalışmalar vardır [5,9,43].

Nükleer DNA hasarı

Platin akkümülayonu ve nükleer DNA’ya ulaşan platinlerin platin-DNA addukt oluşturması oksaliplatin etki mekanizmalarındandır ve OİPN oluşumunda da rol oynamaktadırlar. DRG’de kan beyin bariyeri olmaması nedeniyle platinler kolayca DRG’de birikebilir ve addukt seviyesi ile nöropati arasında korelasyon gösterilmiştir. Oksaliplatine bağlı addukt oluşumu sisplatine göre daha az olması OİPN’ye bağlı tablonun sisplatin nörotoksitesine oranla daha hafif olabileceğini de göstermektedir [5,9,43].

Mitokondriyal disfonksiyon

Kemoterapinin doğrudan veya dolaylı olarak mitokondriye zarar vererek hücresel biyoenerjetik kapasitede azalmaya ve nitrik oksit ve süperoksit salınımında artışa yol açabilmektedir [44]. DRG’lerdeki mitokondriyal disfonksiyon platin bazlı ilaçlardaki KİPN mekanizmalarındandır. Mitokondriyal DNA transkripsiyonu ve replikasyonunu değiştirir. Elektron transport zincirini bozar, adenosin trifosfat (ATP) üretimi azalır ve reaktif oksijen radikalleri birikir. Bunlar, mitokondriyal geçirgenlik artışına, hücre içi kalsiyum birikimine ve apoptotik proteinlerin ekspresyonuna neden olur [5,9,43]. Epidermis bütünlüğünü korumak için, İENF’ler sürekli olarak bir remodeling sürecindedir ve yüksek enerji ihtiyacı

içindedir. Bu, İENF'lerin antineoplastik ajanların mitotoksik etkilerine karşı yüksek hassas kılar. Nitro-oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon, İENF dejenerasyonunu ve nöropatik ağrıya yol açan hasarlı İENF'lerin spontan deşarjlarında bir artışı indükleyebilir [44].

Transient reseptör potansiyel kanalları

İn vitro DRG'de oksaliplatine bağlı TRPM8, TRPV1, TRPA1 reseptörlerinde upregülasyon gösterilmiştir. DRG'deki TRPM8 ve TRPA1 aktivasyonunun soğuk hiperaljezisi ile korele olduğu gösterilmiştir. Oksaliplatin uygulaması sınırsız sıçanlarda 10. güne kadar DRG'de TRPM8 mRNA seviyeleri yüksek kalabildiği gösterilmiştir [5].

Oksidatif stres

Kemoterapi ilişkili periferik nöropatide oksidatif stres ilişkisi göz önüne alınarak birçok antioksidanla çalışma yapılmaktadır. Reaktif oksijen radikalleriyle mitokondriyal disfonksiyon, iyon kanallarında etkilenme yapabilir. Özellikle TRPA1 soğuk algısı yanında oksidatif stres sensörü olarak da görev almaktadır. Oksaliplatinin yol açtığı nöroinflamasyonda, artmış oksidatif stres ürünlerine bağlı artmış TRPA1 seviyelerinde mekanik allodini ve soğuk hiperaljezisi gösterilmiştir [5].

Transporterlar

OCT'ler hücre içi platin alımında rol oynarlar, hem insan hem de fare DRG'lerinde bulunmaktadır. Tek doz oksaliplatin enjeksiyonu sonrası wild-type farelerde OCT2 knockout farelerde görülmeyen soğuk hiperaljezisi ve mekanik allodini görülmüş. CTR1 ve OCT2 overekspresyonunda DRG nöronlarında oksaliplatin akümüasyonu ve nöropati görülmüş [7,20,43].

Glial aktivasyon

Oksaliplatin santral sinir sistemine geçmemesine rağmen indirek olarak oksidatif stres aracılığıyla spinal glial hücrelerde aktivasyon görülmüştür [5]. Spinal kord arka boynuzunda Iba1 (mikroglia) ve GFAP (astrosit) artışı aracılığıyla aktivasyon gösterilmiştir [45]. Ayrıca

mikroglial aktivasyon inhibitörü minosiklin OIPN’de faydalı olduğuna yönelik deneysel çalışmalar mevcuttur [46].

Kaspaz, MAP-kinaz, protein kinaz C, PI3K/Akt2 yolu

Sıçan DRG'sinde bir kaspaz inhibitörü (z-VAD-fmk) kullanılarak tunel pozitif hücrelerde bir artış gösterilmesi kaspaz aracılı bir apoptozu düşündürmektedir. İn vitro oksaliplatine maruz kalmış sıçan DRG nöronlarında apoptoz aracılı hücre ölümünü destekleyen MAP-kinaz proteinleri p38 ve ERK1/2'nin erken aktivasyonunu indükleyebilmektedir. Tersine, koruyucu JNK/Sapk down regüle edilerek nörotoksik etkiler artabilmektedir. DRG hücrelerinin NGF (nerve growth factor) veya retinoik asit ile tedavisi yoluyla elde edilen MAP-kinazların fizyolojik fonksiyonunun eski haline getirilmesi, in vitro oksaliplatin kaynaklı nöropatiye karşı nöroprotektiftir. PKC inhibitörleri kalfostin C ve hiperisin, mekanik hiperaljeziyi azaltabilir. PI3K/Akt2 yolunun bir COX-2 inhibitörü olan selekoksib tarafından inhibisyonu, oksaliplatin kaynaklı nöropatik ağrıyı azaltabilir [5,43].

Nöroinflamasyon

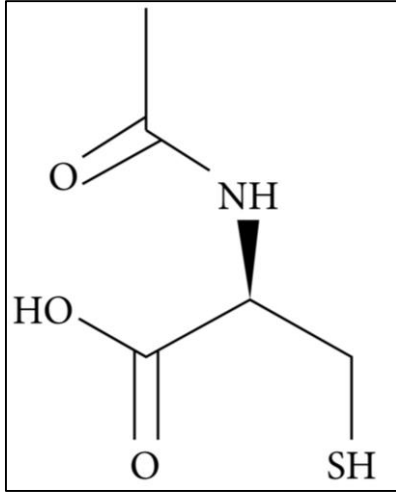
Glia hücrelerinin aktivasyonu ve glial kaynaklı inflamatuvar sitokin üretiminin artması spinal nöroinflamasyon yapabilir [5]. Bunun dışında kütanöz nöroinflamasyon yaratabilir. Oksaliplatinin, farelerde mekanik allodini gelişimi ile ilişkili olan kütanöz mast hücrelerinde değişiklikler gösterilmiştir. Degranüle mast hücrelerinde artış, serin proteaz salınımı ve deride proteinaz aktive reseptör 2 (PAR2) aktivasyonu ile mekanik allodini gösterilmiştir [44].

MikroRNA regülasyonu

MikroRNA'lar (miRNA'lar), gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli roller oynayan, kodlayıcı olmayan bir RNA sınıfıdır. miRNA'lar, hem sağlıkta hem de hastalıkta farklılaşma, çoğalma, apoptoz ve gelişme gibi biyolojik süreçlerde kritik düzenleyicilerdir. Düzensizlikleri, kolorektal kanserler de dahil olmak üzere tümörün başlaması ve ilerlemesinde rol oynar. DRG ve siyatik sinirde ekspresyonu artan miRNA'lar hücre zarı bütünlüğü bozulduğunda ekstraselüler sıvıda da görünebilir. Paklitaksel ile yapılan deneysel çalışmada da dolaşımda artmış miRNA ve KİPN ilişkisi gösterilmiştir [5,47,48].

2.4. N-Asetilsistein (NAC)

N-acetyl-L-sistein (NALC) adı da olan NAC'ın molekül ağırlığı 163,19 dalton ve formülü $\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NHCOCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$ şeklindedir (Şekil 2.6). L-sistein ve glutatyon (GSH) öncülüdür [49]. Ana formu beyaz kristal toz şeklindedir. Klinikte intravenöz, oral ve inhaler kullanımları mevcut olup, genelde güvenli, yüksek dozlarda bile iyi tolere edilebilir [50].



Şekil 2.6. N-Asetilsistein formülü ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$)

N-asetilsistein (NAC) ilk olarak 1960 yılında patent almıştır [49]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve FDA (Food and Drug Administration) tarafınca ana kullanım olarak akciğer hastalıklarında mukolitik ve parasetamol yüksek doz alımında antidot olarak onaylanmıştır [50].

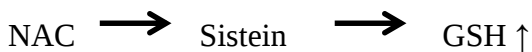
Antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle hemen hemen tüm sistemlerde tedavi veya adjuvan olarak klinik kullanım çalışmaları mevcuttur (Çizelge 2.5) . N-asetilsistein bu özellikleri sayesinde klinik ve deneysel çalışmalarda en sık tercih edilen ilaçlardandır. PubMed® incelendiğinde Temmuz 2023 itibari ile son bir yılda 821 ve toplamda 21459 yayında başlıkta ve/veya özetinde adı geçmektedir [50]. Hayvanlarda yüksek dozlarda N-Asetilsistein iyi tolere edilir, lethal doz farelerde 1000 mg/kg ve sıçanlarda 2445 mg/kg gibi yüksek dozlar olması nedeniyle deneysel çalışmalarda da çokça tercih edilmektedir [50]. Kullanımı üzerinde çalışmalar Çizelge 2.5 tedir [49].

Çizelge 2.5. NAC adjuvan veya tedavi olarak kullanılabileceği sistemler ve hastalıklar [49]

<u>Akciğer ve havayolu hastalıkları</u> Kistik fibrozis Kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH) Bronşiektazi Bronşiolit İdiyopatik pulmoner fibrozis Alerjik rinit	<u>Nörodejeneratif bozukluklar</u> Parkinson hastalığı Demans İnme Multipl skleroz Diyabetik nöropati dahil nöropatik ağrı
<u>Metabolik sendrom</u> Diyabet (nöropati) Alkolden bağımsız karaciğer yağlanması Hipertansiyon Uyku apnesi	<u>Psikolojik bozukluklar</u> Şizofreni Obsesif kompulsif bozukluklar Bipolar bozukluklar Bağımlılık Trikotilomani
<u>Karaciğer hastalıkları</u> Akut parasetamol doz aşımı Parasetamolün neden olmadığı akut karaciğer yetmezliği Hepatokarsinom	<u>Göz bozuklukları</u> Yaşa bağlı makula dejenerasyonu Glokom (in vitro çalışmalar) Sjögren sendromu
<u>Gastrointestinal bozukluklar</u> H. pylori enfeksiyonları Crohn hastalığı Ülseratif kolit	<u>Erkek ve kadın infertilitesi</u> Polikistik over hastalığı Koryoamniyonit Tekrarlayan gebelik kaybı Artmış semen kalitesi
<u>Enfeksiyöz hastalıklar</u> Edinilmiş Bağışıklık Yetmezlik Sendromu (AIDS) Tüberküloz İnfluenza RSV SARS-CoV-2	<u>NAC'den fayda sağlayabilecek çeşitli durumlar</u> Sistemik lupus eritematoz Çeşitli kanser türlerinin yanı sıra bazı kemoterapi ajanlarının toksisitesinin azaltılması Başta kurşun, krom ve arsenik olmak üzere çeşitli toksik metallerin şelasyonu DNA metilasyonu üzerindeki nanoparçacık toksisitesinin azaltılması

Bilinen üç etki mekanizması vardır [14]:

- Disülfid redüksiyonu; $\text{NAC-SH} + \text{RSSR} \longrightarrow \text{RSH} + \text{NAC-SSR}$ Bu mekanizmayla mukus proteinlerinde disülfid bağları bozarak mukolitik etkisini gösterir.
- Oksidanlardan temizleme; NAC sülfhidril grubunun da etkisiyle, hidrojen peroksit (H_2O_2), hipokloröz asit (HOCl) veya hidroksil radikalleri ($-\text{OH}$) gibi bir ve iki elektronlu oksidanları elimine etmede etkili olduğu düşünülmektedir.
- Glutasyon depolarını arttırmak: NAC, GSH sentezi için gerekli olan sistein donörü olarak görev yapar. NAC'ın pro-glutasyon özelliklerinin indirek antioksidan etkide bulunur. Parasetamol zehirlenmelerinde akut GSH eksikliği gelişir, GSH tekrar sentezi için dışarıdan sistein ihtiyacını sağlamak için tedavide NAC verilir [14].



2.4.1. N-asetilsistein, kanser ve kemoterapi

Reaktif oksijen moleküllerinin kanser üzerinde etkileri paradoksik olması nedeniyle NAC sonucu oluşan antioksidan etki de kanserli hücrelerinde de antiproliferatif ya da tam tersi proliferasyon ve metastaza yardımcı olabilir [51]. NAC ile meme ve glioblastoma kanser hücrelerinde antiproliferasyon, prostat kanser hücrelerinde hücre büyüme baskılanması ve invazyonu azalttığına yönelik çalışmalar vardır. Akciğer kanserinde faydalı olduğuna yönelik çalışmalar olmakla birlikte, E vitamini ile kombine kullanımında hayvan ve insan akciğer kanser hücrelerinde tersine kanser hücre proliferasyonu arttırabileceği gösterilmiştir [49]. Hepatoselüler karsinomlarda NAC ve glutatyon aracılığıyla ROS azalması, tümör büyümesine neden olabildiği ve tedavide kullanılan sorafenib tedavisine direnç sağlayabildiği bulunmuştur [52]. İmatinib'in kronik lenfositik lösemi tedavisindeki antitümör etkinliğini arttırabilmektedir. NAC ile T hücre aktivasyonu artışı, chimeric antigen receptor (CAR)-modiye natural killer hücre aktivasyonu ile antitümör aktiviteye yardımcı olabilir. Organları toksik etkilerden koruyan redoks homeostaziden sorumlu Nuclear factor erythroid2-related factor2 (Nrf2) seviyeleri de NAC ile artabilmektedir. Nrf2 etkileri de paradoksik olabilmekle birlikte, up-regüle olmasıyla tümör büyümesi ve metastazı kolaylaşabilir [53]. Kolorektal kanserler için yapılan çalışmada da kolorektal hücrelerin oksidatif strese direnme ve kemorezistans geliştirme yeteneğinin, NAC aracılığıyla H₂S ve ilgili reaktif türlerin mitokondriyal metabolik yeniden programlanması yoluyla progresi kötü etkileyebileceği yönündedir [54].

N-asetilsistein kemoterapötiklerin yan etkileri açısından koruyucuğuna yönelik bir çok çalışma olmasına rağmen, Etkileşim açısından etkileme riskinden dolayı 4 saat arayla kullanılması önerilmektedir. Siklofosfamide bağlı hemorajik sistitten ve kardiyotoksisiteden koruyabileceğine yönelik çalışmalar vardır. Sisplatine bağlı akut böbrek hasarını azaltabileceğine yönelik çalışılmıştır [49].

Deneyssel ve klinik çalışmalarda ağırlı diyabetik nöropatilerde NAC'in koruyucu veya tedaviye adjuvan olarak kullanılabileceği gösterilen çalışmalar mevcuttur [49,55] NAC ile KİPN çalışmaları da yapılmıştır [49,56]. Paklitaksel kullanan hastalarda [56] evre 2 ve 3 periferik nöropati oranı anlamlı derecede düşük bulunmuş. Kolorektal kanser hastalarında XELOX protokolü alan hastalarda oksaliplatinden 1 saat önce verilen 1200 mg NAC verilen hastalarda faydalı bulunmuştur [18].

2.5. Kemirgenler Ağrı Değerlendirmesi

Ağrı değerlendirilmesi ve tedavisi çalışmalarının bir kısmının etik sebepler nedeniyle insanlarda uygulanması zordur. Kemirgenlerde nöropatik ağrı, migren, inflamatuvar ağrı, viseral ağrı, eklem (artritik) ağrısı, kas ağrısı, kanser ağrısı, postoperatif ağrı ve çeşitli ağrı modelleriyle insandaki ağrı benzeştirilmiş ve ağrı tipleri ayırdedilmiştir. Bu modellerde ağrı değerlendirilmesi için anestezi altında olmayan fare ve sıçanlarda hayvan davranışları incelenmiş, ağrıyı gösteren davranışlar gösterilmiştir [20,21,57].

Nöropatik ağrı için spinal kord hasarı, siyatik sinir veya dallarında hasar veya inflamasyon, diyabetik nöropati, HIV nöropatisi ve KİPN modellerinde çalışmalar mevcuttur. KİPN modelleri özellikle koruyucu ilaç çalışmaları için uygunluğu nedeniyle çalışılmaktadır [57]. KİPN modelinde kemoterapötik tedavinin karakterine uygun olarak mekanik ve termal uyaranlar aracılığıyla mekanik allodini ve termal hiperaljezi testleri tercih edilmektedir [20,21].

2.5.1. Mekanik allodini testleri

Manuel von Frey testleri

Maximilian von Frey tarafından sıçan ve farelerde mekanik allodini değerlendirilmesi için geliştirilmiş olup altın standarttır. Von Frey filamentleri en incesi 1,65 mm (0,008 g) ve en kalını 6,65 mm (300g) olmak üzere toplam yirmi filamentten oluşur (Resim 2.5). Filamentler gövdenin herhangi bir kısmında kullanılabilmekle birlikte esas olarak pençelerin plantar yüzeylerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Deney için hayvanlar tabanı deney uygulamaya uygun telle kaplı olan küçük kafeslerde uygulanır. Hayvanlar deney öncesi kafese yerleştirilerek ortama alışması beklenir. Deneyde monofilament testin yapılacağı noktaya sabit bir şiddetle 2-5 saniye uygulanılır ve pençe çekmesi pozitif olarak kaydedilir [20].



Resim 2.1. Von Frey filamentleri

Çizelge 2.6. Von Frey filamentleri boyut ve uyguladığı kuvvet (gram)

Boyut	1,65	2,36	2,44	2,83	3,22	3,61	3,84	4,08	4,17	4,31
Gram	0,008	0,02	0,04	0,07	0,16	0,4	0,6	1	1,4	2

Boyut	4,56	4,74	4,93	5,07	5,18	5,46	5,88	6,1	6,45	6,65
Gram	4	6	8	10	15	26	60	100	180	300

Değerlendirmede “up-down yöntemi”, “artan stimulus” ve “yüzdelik cevap” yöntemleri uygulanabilir. “Up-down yöntemi” Dixon ve Chaplan tarafından geliştirilen LD₅₀ hesaplama yöntemleri aracılığı ile hayvanların %50’sinin pençe çekme cevabını belirler. Deneye başlarken tahmini eşik değerdeki filament ile başlanır. Eğer hayvan pençesini çekme yanıtını verirse (+) bir düşük filament geçilirken, pençesini çekmezse (-) bir yüksek filament geçilir. İlk deneylerde ağrı yönünün yön değiştirmesi sonrası 4 değer daha alınır [20].

“Artan stimulus” yönteminde bir geri çekme tepkisi ortaya çıkana kadar artan kuvvetle monofilamentlerin uygulanmasına dayanır ve bu pozitif tepkiyi ortaya çıkaran von Frey filamentinin kuvveti, mekanik geri çekme eşiği olarak belirlenir. “Yüzdelik cevap” yönteminde, değişen kuvvetlerdeki birkaç Von Frey filamenti, yanıtı bağımsız olarak eşit sayıda (genellikle 5-10 uygulama) artan sırada uygulanır ve her bir filamentte verilen pozitif yanıtların sayısı yüzde yanıtı dönüştürülür [20].

Elektronik von Frey testi

Manuel von Frey testiyle prensip olarak benzerdir. Tek bir kıvrılmayan filament ile artan şiddette pence çekilmesine kadar kuvvet uygulanır. Pençe çekme eşiği test edilirken 3-4 uygulama gerekebilmekle birlikte, genelde manuel von Frey'den kısa sürer. Ticari olarak çeşitli örnekler bulunmakla birlikte en sık olarak güvenilirliği çalışılmış dinamik plantar estezyometre ve RatMat/MouseMat kullanılmaktadır [20].

Dinamik plantar estezyometrede manuel von Frey testindeki gibi kafes teli ağ şeklinde tabanda 0,5 mm kalınlığındaki filament ile plantar bölgeden 0-50 g şiddeti arasında artarak kuvvet uygular ve pence çekme anındaki kuvveti tespit eder. Ayrıca sabit şiddette güç uygulanması sonucu pençe çekme zamanını ölçmek için de programlanabilir [20].

RatMat veya MouseMat testinde ise kafes tabanı bar şeklindedir. Bu şekilde deney sırasında plantar yüzey alanı artmakla birlikte diğer von Frey testlerine göre farklı değerler bulunmasına sebep olabilmektedir. Sıçanlarda 1-80 g, farelerde 0,1-7 g aralığında şiddetinde plantar yüzeye rotasyonel lineer artan kuvvet uygulanır [20].

Manuel von Frey ve elektronik von Frey deney sonuçları protokol ve prensipler nedeniyle farklı olabilmekle birlikte asıl amaç davranıştaki değişimi incelemektir.

2.5.2. Termal allodini ve hiperaljezi testleri

Cold plate (soğuk zemin) testi

Noksiyus ve noksiyus olmayan soğuk derecelerde kemirgen davranışlarını ve cevaplarını incelemek mümkündür. -5°C ila 15°C arasındaki hazırlanmış soğuk zemine konarak nosiseptif davranışları incelenir. İlk pençe çekme latensi, ağırlı pençe kaldırma, pençe yalama, titreme, zıplama gibi ağırlı davranışları incelenir. Kesinleşmiş standardize edilmiş sıcaklık süre yoktur [20,58].

Aseton buharlaşma testi

Aseton testi, buharlaşmanın tetiklediği soğuma etkisiyle kemirgenlerdeki kaçınma davranışlarıyla soğuk allodinisini test eder. Von Frey testlerine benzer tel tabanlı kafeslerde

kemirgenlerde ortama alışma periyodu sonrası uygulanır. Testte pençe plantar yüzeyine aseton sıkılır, pence çekme cevabı puanlanır (0: cevapsız, 1: hızlı bir şekilde pençenin çekilmesi veya hafifçe salınması, 2: pençenin tekrar tekrar sallanması, 3: pençenin tekrar tekrar sallama ve yalama). Uygulamayla cildin kesin olarak kaç dereceye soğuduğu bilinmez, tahmini 15-21°C ye soğumaktadır. Bu soğuma kemirgen uygulama bölgesine verilen aseton miktarı, ortam ve cilt sıcaklığından etkilenebilir [20]. Fare ve sıçanlarda bir çok inflamatuvar nöropatik ağrı modellerinde kullanılmış ve validasyonu yapılmıştır [20, 59].

Soğuk plantar test

Soğuk plantar testi için kemirgenler tabanı cam yüzeyli kafese konur. Ucu kesilmiş içi kuru buz dolu enjektörle kemirgenlerin ayaklarına soğuk uyaran verilerek pence çekme latensi süresi kaydedilir. Aynı zamanda cama veya pençeye ısı probu takılabilir. Genellikle sıcaklık 5-12°C arası sıcaklık uygulanmış olur [20, 59].

Kuyruk çekme testi

Soğuk cevabı için kuyruk belirli bir derecedeki soğuk suya (4°C) daldırıldıktan sonra kuyruk çekme latensi ölçülür. Testteki davranışsal cevaplar net olsa da hayvanların hareketlerinin kısıtlanması dezavantaj oluşturmakta, hatta stres kaynaklı analjezik mekanizmalar yoluyla soğuğa tepki verebilirliği değişebilmektedir [20, 59].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan G.Ü.ET-19.074 numaralı etik kurul kararı ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöropsikiyatri Merkezi Nörobilim Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvanlar

200-300 gram ağırlığında erişkin erkek Wistar Albino sıçanlar 3'erli gruplar halinde kafeslerde 12/12 saat aydınlık karanlık döngüsünde barındırıldı. Hayvanlara su ve yem „ad libitum“ verildi. Deneylere başlanmadan sıçanlara bir hafta insan temasına ve deney düzeneklerine alıştırma uygulandı.

3.2. Kemoterapi İlişkili Nöropatik Ağrı Modeli

3.2.1. Uygulanan ilaçlar

Oksaliplatin

Eloxatin ® (Sanofi) (100mg/20ml) klinikte de uygulandığı şekilde %5 Dekstroz içinde 2 mg/ml olacak şekilde hazırlandı.

N-Asetilsistein (Sigma Grade, >99% (TLC), powder)

250 mg N-Asetilsistein (NAC) 10 ml salin içinde vorteks karıştırıcı kullanılarak çözdürülerek 25 mg/ml NAC elde edildi.

3.3. Çalışma Grupları

- 1) *Kontrol Grubu:* Bu grupta yer alan 6 adet sıçana 0. gün %5 dekstroz (0,8 ml) intraperitoneal (i.p.) taşıyıcı uygulandı. NAC taşıyıcı olarak ise 0.günden başlayarak 20.güne kadar %0,9 salin (ortalama 0,5 ml) i.p. uygulandı.
- 2) *Oksaliplatin grubu:* Bu grupta yer alan 6 adet sıçana oksaliplatin 6 mg/kg (ort 0,8 ml) i.p. tek doz deneyin 0.günü uygulandı. NAC taşıyıcı olarak ise 0.günden başlayarak 20.güne kadar olmak üzere toplam 21 gün %0,9 salin (ortalama 0,5 ml) i.p. uygulandı.

3) *Oksaliplatin + N-asetilsistein grubu*: Bu grupta yer alan 6 adet sıçana 0. gün oksaliplatin 6 mg/kg (ort 0,8 ml) i.p. uygulandı. Koruyucu tedavi olarak 0.günden başlayarak 20.güne kadar olmak üzere 21 gün 50 mg/kg NAC i.p. uygulandı.

3.4. Ağrı Testleri

3.4.1. Von Frey filamentleri (VF)

Mekanik allodini değerlendirmek için uygulanmıştır. Bir haftalık alıştırma periyodundan sonra ilki 0. gün ilaç uygulamalarından önce olmak üzere 3.,7.,14. ve 21. gün uygulandı. Test öncesi sıçanlar davranış deneyinin olacağı alt tarafı tel kafeslere alındı. Kafeslerde 30 dakikalık alışma periyodundan sonra sıçanlara von Frey filamentleriyle up-down yöntemiyle davranış deneyi yapılarak ve gram cinsinden sonuçlar elde edildi [20].

3.4.2. Cold plate testi (Soğuk zemin testi -CPT)



Resim 3.1. Cold plate testi (Soğuk zemin testi -CPT)

Soğuk hiperaljisi değerlendirmek için bir haftalık alıştırma periyodundan sonra ilki 0. gün ilaç uygulamalarından önce olmak üzere 3.,7.,14. ve 21. gün uygulandı. CPT uygulanmadan önce von Frey testleri sonrası en az 30 dakika beklendi. Her test öncesinde sıçanların

alışması için davranış deneyine başlamadan cold plate cihazı (Buzduray®) oda ısısında 5 dakika tutuldu ve yaklaşık 10 dakika sonra davranış deneyine başlandı. Sıçanlar daha sonra 4°C'ye ayarlanmış cold plate cihazına yerleştirilerek pençe ve arka pençe kaldırma sayıları ve süreleri kaydedildi. Ayrıca donma (freezing), şahlanma (rearing) gibi ağrı ilişkilendirilebilecek davranış süreleri ve ilk pençe yalama (first licking), kaçma teşebbüsü gibi diğer davranışlar kaydedildi. Davranış deneyleri her biri video kaydı tutuldu (Resim 3.1)

3.5. Histopatolojik İnceleme

Deneyin 21. Günü anestetize edilen sıçanlar perfüzyon fiksasyonu eşliğinde sakrifiye edilerek dokuları alındı. Tüm prosedürler kurumsal yönergeler göre gerçekleştirildi. Periferik sinir incelemesi için alınan siyatik ve dallarında hematoksilin eozin ve toluidin mavisi boyaması, pençe dokularında boyamasında ise hematoksilin eozin ve PGP9.5 immünohistokimya boyama yapıldı.

3.5.1. Parafin blok hazırlığı ve hematoksilin eozin boyaması

Sakrifikasyon sırasında perfüzyon fiksasyonuna tabi tutulan tüm dokular pençe ve siyatik sinir örnekleri %10'luk tamponlu formol solüsyonu içerisine alındı. Dokular histolojik takibe alınarak çeşme suyu altında 2 saat yıkandıktan sonra artan dereceli alkol serilerinden geçirildi. Önce %75'lik alkolde 1 saat bekletildi ve tekrar yenilenerek gece boyu %75'lik alkolde bırakıldı. Dokular ertesi gün %96'lık alkole alınarak 2 saat ve sonra %100'lük alkole alınarak 2 saat bekletildi. Dokunun şeffaflanması amacıyla (doku büyüklüğü ve hacmine bağlı olarak) ksilende bekletildi. Ksilin sonrası 3 saat parafinde tutuldu. Sonrasında metal gömme kapları ile plastik kasetler yardımıyla doku sabitlenerek parafine gömüldü. Parafine gömülen pençe ve siyatik dokularından, rastgele tüm bir dokuyu inceleyecek şekilde aralıklı kesit alındı. Histokimya öncesi preparatlar 1 gece boyunca etüvde 60 °C'de bekletilerek parafinleri (deparafinize edilmiş) uzaklaştırıldı. Alınan kesitler hematoksilin eozin ile boyandı. Deparafinizasyon sonrası ksilende bekletilen kesitler azalan alkol serisi sonrası çeşme suyu ile yıkandı. Yıkama sonrası 3 dakika hematoksilinde bekletilip yine çeşme suyu ile yıkayıp 2 dakika eozin ile muamele edildi. Kesitler tekrar çeşme suyu ile yıkandıktan sonra artan alkol serisi ile dehidrate edilerek 30 dakika ksilende bekletme sonrası entellan ile kapatıldı.

Hemotoksilen eozin ile boyanmış her bir periferik sinir bölümü, sırasıyla enflamasyonu, bozulmamış aksonu, dejenere aksonu ve miyelin bozulmasını belirlemek için ışık mikroskopunda incelendi. Hematoksilen eozinle boyanan siyatik sinir ve periferik dallarında sağlam akson yüzdesi, dejenere akson yüzdesi ve dejenere akson+miyelin yıkımlanması yüzdelere bakıldı [60]. Pençelerde ise temel deri tabakaları görüntülendi.

3.5.2. Periferik sinir (siyatik sinir) yarı ince kesit hazırlığı ve toluidin mavisi boyaması

Her periferik (siyatik) sinir dokusu bir kısmı birden fazla parçaya bölündü. Bir kısmı için yukarıdaki gibi rutin histolojik takip basamakları uygulanırken diğer kısmı glutaraldehit fiksasyonuna tabi tutuldu. Siyatik sinir ve periferik sinir örnekleri 1 gece glutaraldehit fiksasyonundan sonra 3 kez yıkama tamponu ile yıkandı. İkinci tespit osmiyum tetroksit ile 1 saat süreyle yapıldı. Daha sonra tekrar yıkama tamponu ile yıkandıktan sonra doku kademeli olarak artan alkollerde 10 dakika bekletildi. Daha sonra 15 dakika propilen oksit ile muamele edildi. Propilen oksit ve plastik 1:1 oranında karıştırılarak 1 saat bekletildi. 3 birim plastik 1 birim propilen oksit karışımında 1 gece bekletildi ve plastiğe gömüldü. Bloklar katılaştıktan sonra, kesmeden önce düzeltme makinesinde trimlendi. Açığa çıkan epoksi bloğa yeni cam yapıştırıldı ve kesitler (800 nm kalınlığında) alındı. Lam üzerinde alınan kesitler ısıtma plakası üzerinde 50-60 derecede ısıtılarak kesitler toluidin mavisi ile boyandı [61].

Her periferik sinir bölümü, siyatik (periferik) sinir alanı, lif çapı, akson çapı, akson sayısı, miyelin kalınlığı bakıldı. Sinir lifi dansitesi (NFD) ve g-oranı hesaplandı [62]:

NFD: Akson lifi sayısı/Siyatik sinir alanı

$(g\text{-oranı}) = [(Maksimum\ lif\ \text{çapı} + minimum\ lif\ \text{çapı})/2] / [(Maksimum\ akson\ \text{çapı} + minimum\ akson\ \text{çapı})/2]$

3.5.3. Pençe dokusunda immünohistokimya boyama

Antijen geri kazanımı sitrat tamponlu bir mikrodalga fırında gerçekleştirildi ve dokular daha sonra %0,5 sığır serum albümini içinde bloke edildi. Fare poliklonal PGP 9.5 (MA1-83428, 1:30, İnvitrogen, Thermo Fisher) kullanılarak antikorlar tespit edildi. Birincil antikorlar, gece boyunca +4°C'de dokularla inkübe edildi. Negatif kontrol bölümleri, bir Fare IgG

izotipi ve tavşan IgG antikorları uygulanarak hazırlandı. Primer antikorlar ile inkübasyonun ardından doku kesitleri iki kez fosfat tamponlu salin (PBS) ile her seferinde 5 dakika yıkandı ve ardından HRP-konjuge sekonder antikorlar (62-6520, 1/300, invitrogen, Thermo Fisher) ilave edilerek 60 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübe edildi. Preparatlar 3-amino-9-ethyl-carbazole (AEC) ile hazırlanarak Hematoksilen ile zıt boyandı ve daha sonra su bazlı yapıştırıcı ile kapatıldı [63].

İmmünohistokimya değerlendirmesi için histoskoru (H-skoru) analizleri ve İENFD kullanıldı [34,63]. Histoskor (H-skoru), immünohistokimya boyama yoğunluğunu değerlendirmek için kullanılan semi-kantitatif metottur. Boyanma yoğunluğu (0, 1+, 2+, 3+) ve boyanan hücre yüzdeleri (0-100) ile hesaplandı ve bu değerler her yoğunluk derecesi için ağırlıklı bir skor elde etmek için çarpılıp skorlar toplanarak son H-skoru elde edildi.

Sıçan pençelerinde İENFD sayımı için hayvan başına rastgele seçilen 5 kesit floresan mikroskobu kullanılarak analiz edildi. Her kesitte dermal/epidermal bileşkeden epidermisi dikey olarak geçen sinir lifleri üç görüş alanında sayıldı. Her görüş alanındaki epiderminin uzunluğu ölçüldü. Milimetre başına düşen sinir lifi sayısı kullanılarak İENFD (lif/mm) hesaplandı [34].

3.6. İstatistik

Çalışmanın istatistiğinde IBM SPSS 25.0 kullanılmıştır. Grupların ortalamaları ve ortalamaların standart hatası kaydedilmiş, veriler bağımsız deneyin ortalama $\pm$ standart hatası (SEM) olarak sunulmuştur. Gruplar arası karşılaştırmada One-way ANOVA ve Dunnet's test kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

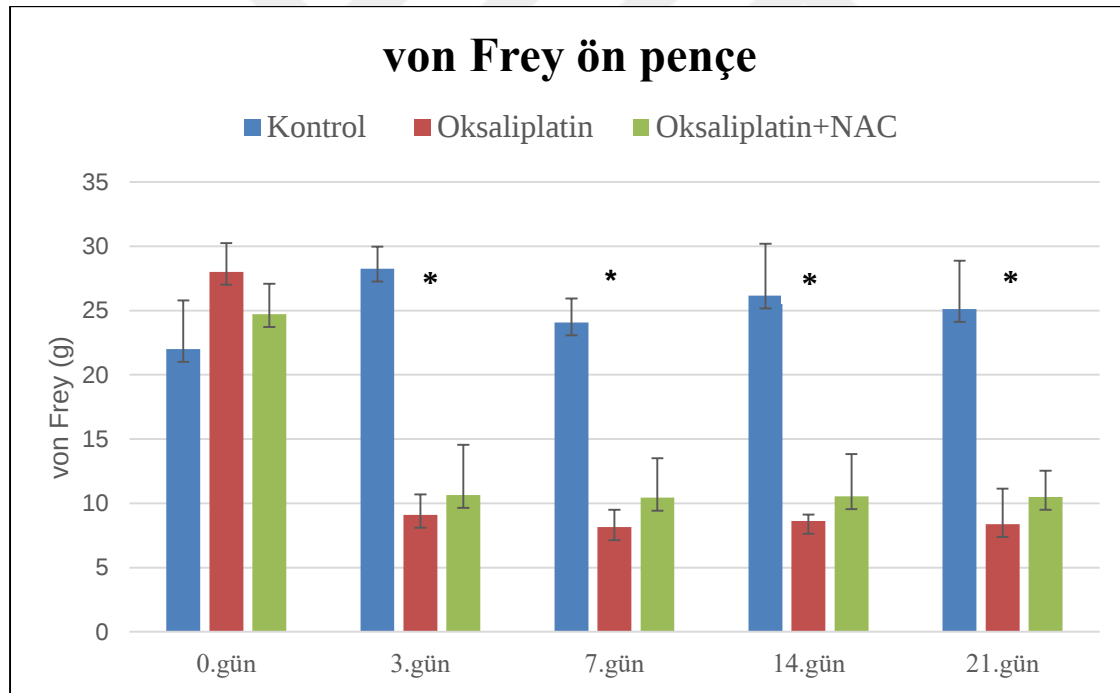


4. BULGULAR

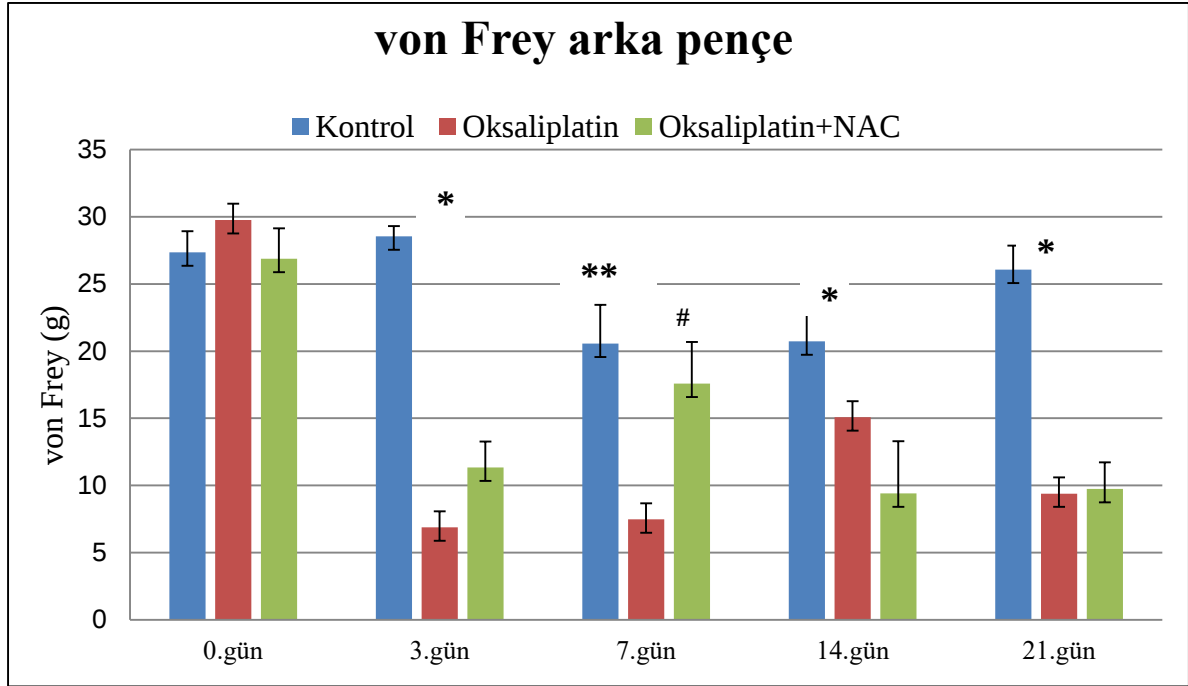
4.1. Davranış Testleri- Mekanik Allodini ve Soğuk Hiperaljezi

Gruplarda sıçanlara 0. 3. 7. 14. 21. günlerde mekanik allodiniyi test etmek için von Frey filamentleriyle davranış deneyleri yapıldı. Oksaliplatin ve oksaliplatin + NAC gruplarında oksaliplatin enjeksiyonunun 3. gününde ön ve arka pençe mekanik allodini eşiği kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Oksaliplatine bağlı allodini eşiğinde azalma deneyin 3. gününden deneyin son günü 21. güne kadar sürdü.

Arka pençelerde deneyin 7. gününde Oksaliplatin ve Oksaliplatin + NAC grubu karşılaştırıldığında mekanik allodini eşiği oksaliplatin grubunda anlamlı olarak düşüktü (Şekil 4.2).



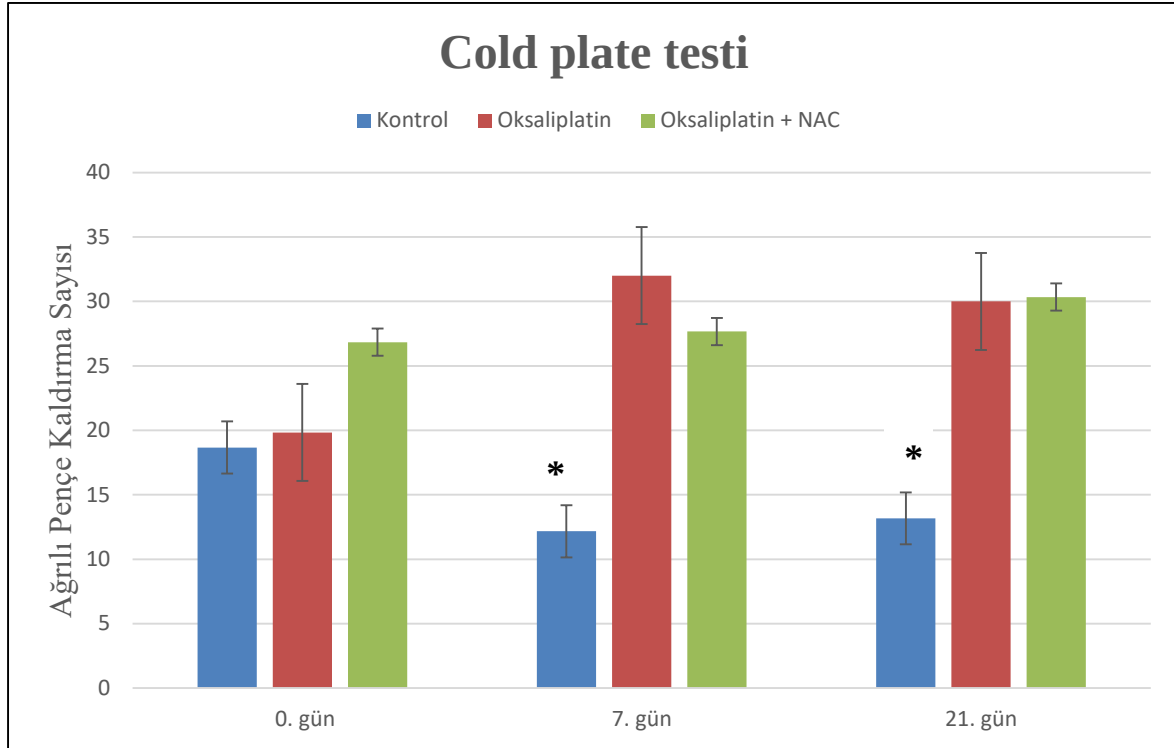
Şekil 4.1. Gruplar arasında ön pençelerde von Frey filamentleriyle mekanik allodininin karşılaştırılması *p<0.05 (kontrol grubu ve diğer gruplar arasında)



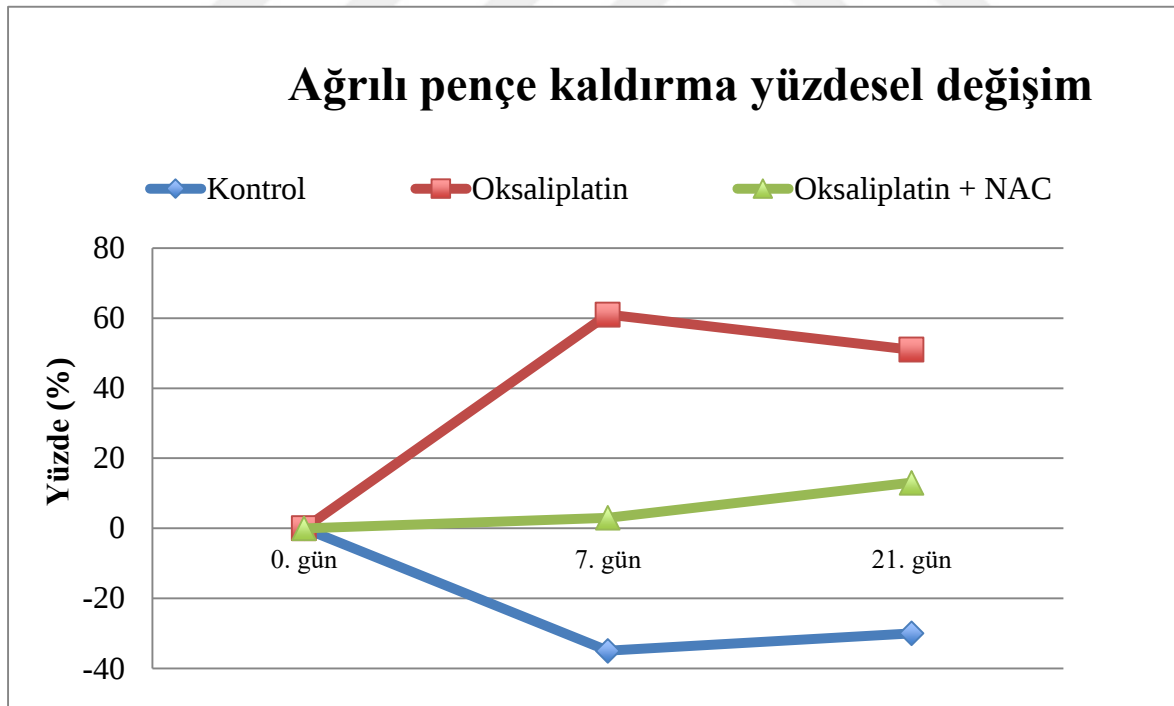
Şekil 4.2. Gruplar arasında arka pençelerde von Frey filamentleriyle mekanik allodininin karşılaştırılması * $p < 0.05$ (kontrol grubuyla diğer gruplar karşılaştırıldığında), ** $p < 0.05$ (kontrol grubuyla oksaliplatin grubu karşılaştırıldığında), # $p < 0.05$ (Oksaliplatin ve oksaliplatin + NAC karşılaştırıldığında)

Sıçanlarda soğuk hiperaljezisini test etmek için 4°C’de 5 dakika süresince cold plate testi uygulandı. Bu testte sıçanların ağırlı pençe kaldırma sayıları incelendi ve diğer rearing, freezing gibi davranışlar incelendi. Ağırlı pençe kaldırma sayıları 7. ve 21. günde oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (Şekil 4.3).

Hayvanların ağırlı pençe kaldırma sayıları ilk oksaliplatin veya araç uygulanması öncesiyle karşılaştırıldı. Kontrol grubu ve oksaliplatin+NAC grubunda ilk kontrollerine göre anlamlı artış olmadı. Oksaliplatin grubunda 0.günle karşılaştırıldığında 7 ve 21. günde ağırlı pençe kaldırma sayıları anlamlı derecede yüksekti. Ağırlı pençe kaldırmada grupların kendi kontrollerine göre yüzdesel değişimi gösterilmiştir (Şekil 4.4).



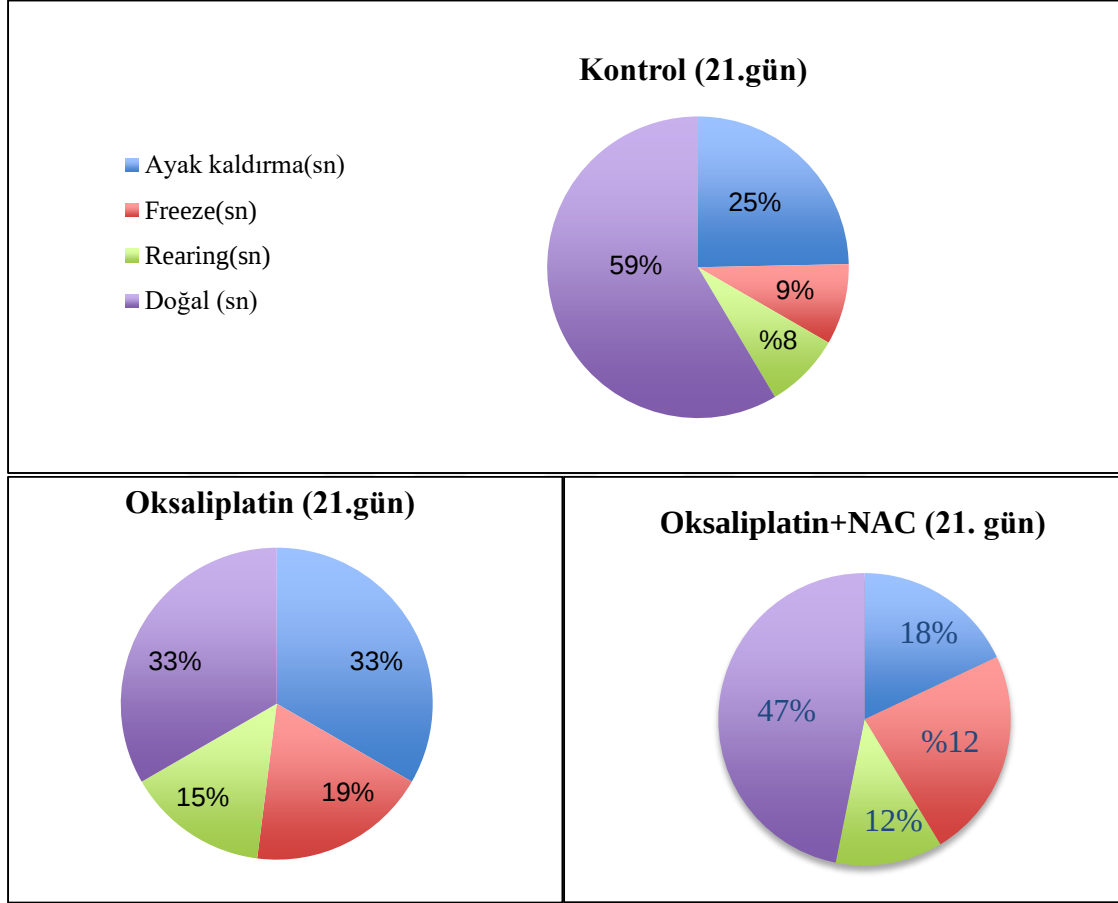
Şekil 4.3. Gruplar arası zamana göre ağırlı pençe kaldırma sayısı * $p < 0,05$ (kontrol grubu ile oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC arasında)



Şekil 4.4. Ağırlı pençe kaldırma sayısının yüzdesel değişimi grup içinde karşılaştırılması

Aşağıdaki dilim grafiklerde 21. günde her grubun 5 dakikalık Cold plate süresinde ağırlı davranış ve ağırlı olmayan doğal davranış süreleri gösterilmiştir (Şekil 4.5). Kontrol grubunda ağırlı davranış süresi 125 saniye, ağrısız davranış 175 saniyedir. Oksaliplatin ve

oksaliplatin- NAC grubunda ağrısız doğal süreler 100 ve 140 saniye olarak farklılık göstermiştir. Sıçanların cold plate sırasında gösterdikleri ağırlı davranış süresi gruplar arasında farklılık görülmemiştir.



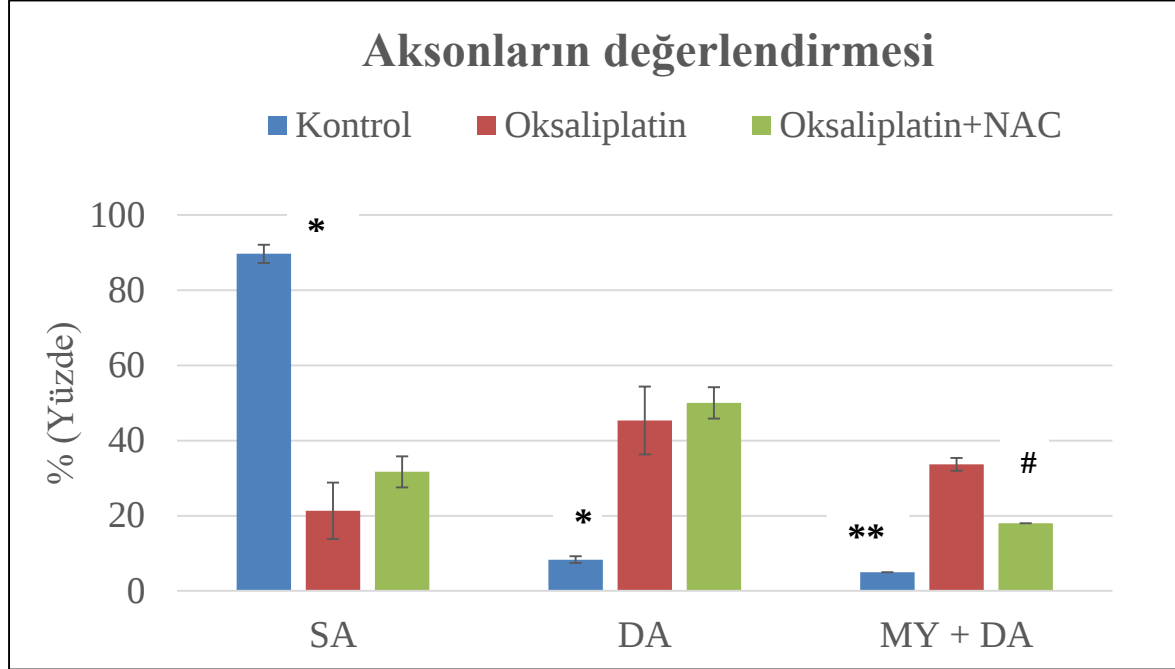
Şekil 4.5. Deneyin 21. günde her grubun 5 dakikalık Cold plate süresinde ağırlı davranış ve ağırlı olmayan doğal davranış süreleri

4.2. Histolojik Değerlendirme

Sakrifiye edilen sıçanların periferik sinir değerlendirmesinde siyatik sinir ve dalları incelendi. Preparatlarda sağlam akson (SA), dejenere akson (DA), Miyelin kaybı (MY) incelendi.

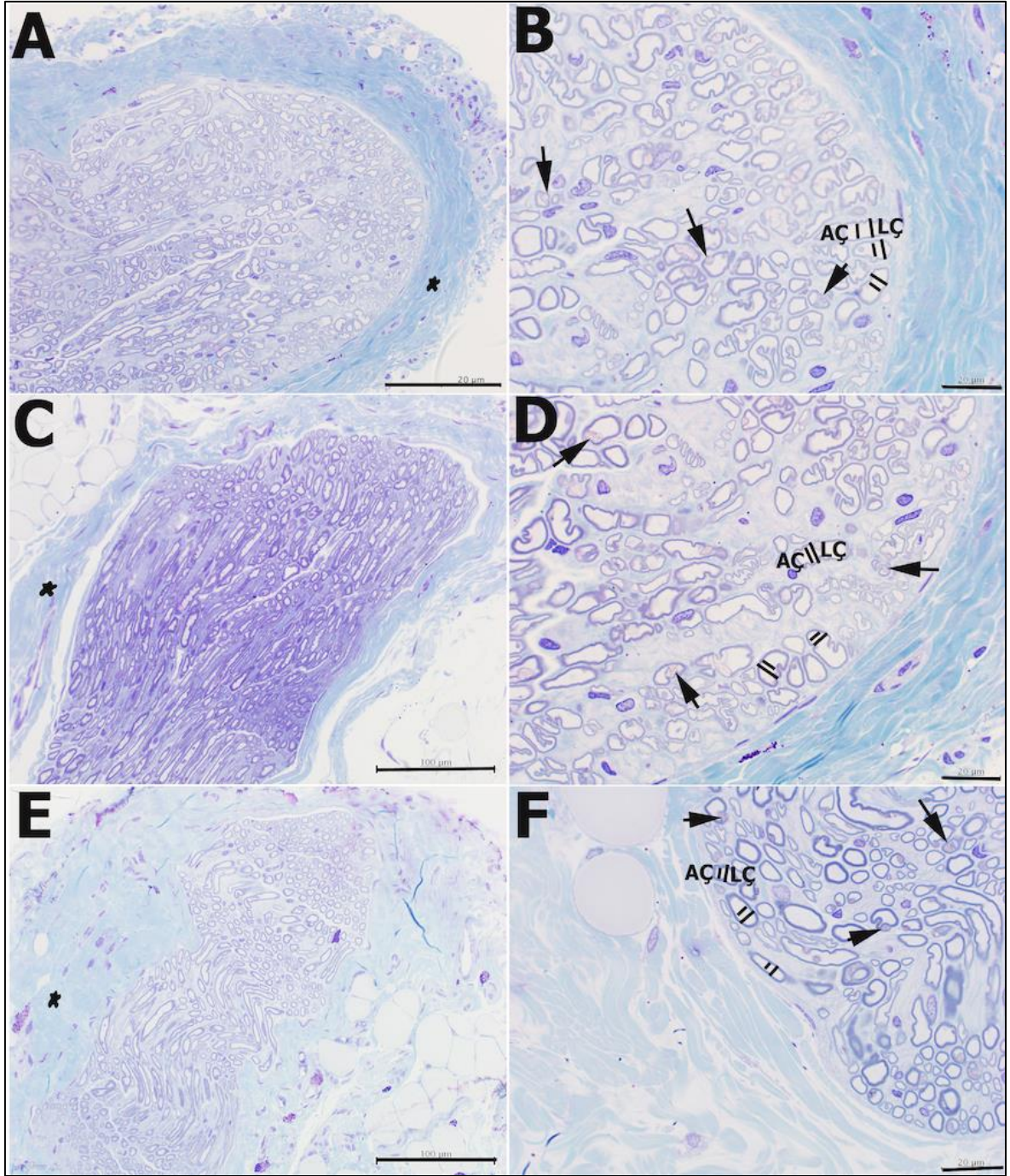
Oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC gruplarında sağlam akson (SA) yüzdesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak az olduğu görüldü ($p<0,05$). Dejenere akson yüzdesinin, oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla olduğu görüldü ($p<0,05$). Miyelin kaybı ve dejenere akson yüzdeleri birlikte karşılaştırıldığında oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC gruplarında kontrol grubuna göre

anlamlı olarak yüksekti. Oksaliplatin grubunda miyelin kaybı ve dejenere akson yüzdesi oksaliplatin+NAC grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 4.6).



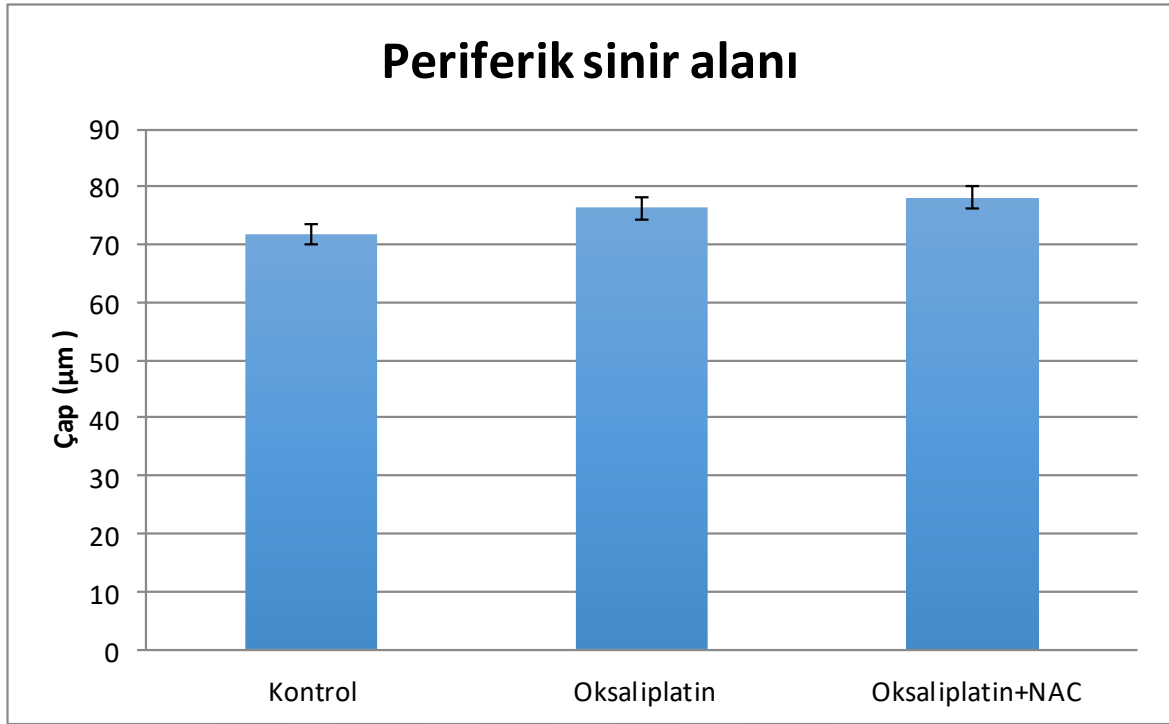
Şekil 4.6. Hematoksilen–Eozinle boyanan periferik sinirlerde gruplara göre histolojik inceleme SA: Sağlam akson, DA: Dejenere akson, MY+DA: Miyelin yıkımlanması ve dejenere akson * $p < 0,05$ (kontrol grubu ile oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC arasında), ** $p < 0,05$ (kontrol grubuyla oksaliplatin grubu karşılaştırıldığında), # $p < 0,05$ (oksaliplatin+NAC grubu ile oksaliplatin grubu arasında)

Yarı ince kesitlerle toludin mavisi boyanan siyatik sinir ve dalları incelendi (Resim 4.1) Periferik sinir alanı, akson lif sayısı, akson çapı, ve lif çapı ve miyelin kılıf kalınlığı bakıldı. Sinir lifi dansitesi (NFD) ve g-oranı hesaplandı. Dokulardan periferik sinir alanları homojen olmadığı için optimal değerlendirmek güçleşti.

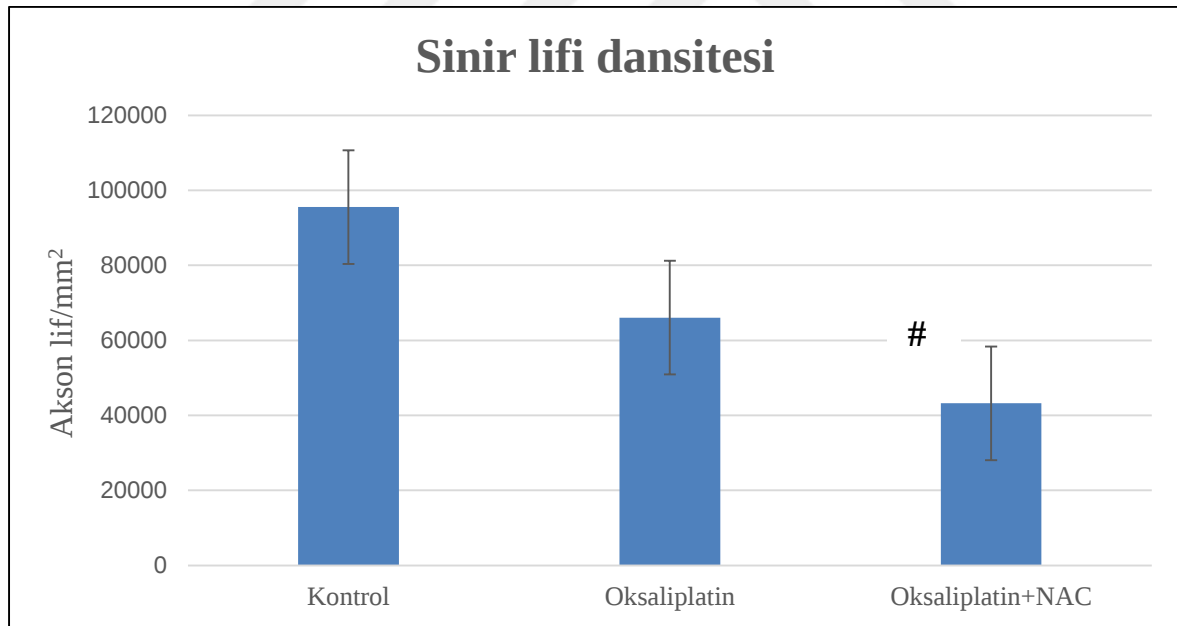


Resim 4.1. Gruplar arasında Toluidin mavisiyle boyanmış periferik sinirlerde yapısal inceleme A. Kontrol x400, B. Kontrol x1000 siyatik (periferik) sinir grupları. C. Oksaliplatin x400, D. Oksaliplatin x1000 siyatik (periferik) sinir grupları. E. Oksaliplatin +NAC x400, F. Oksaliplatin +NAC x1000 siyatik (periferik) sinir gruplarını göstermektedir.* Epinöryum AÇ: aksonal çap, LÇ: lif çapı, ok işaretleri Schwann hücrelerini göstermektedir

Siyatik sinir ve periferik sinir çapları karşılaştırıldığında sinir alanları benzerdi (Şekil 4.7). Akson lifi sayısının periferik sinir alanı oranına bakıldığında oksaliplatin+NAC grubunda kontrol grubuna göre periferik sinir lifi dansitesinde azalma görüldü (Şekil. 4.8.).

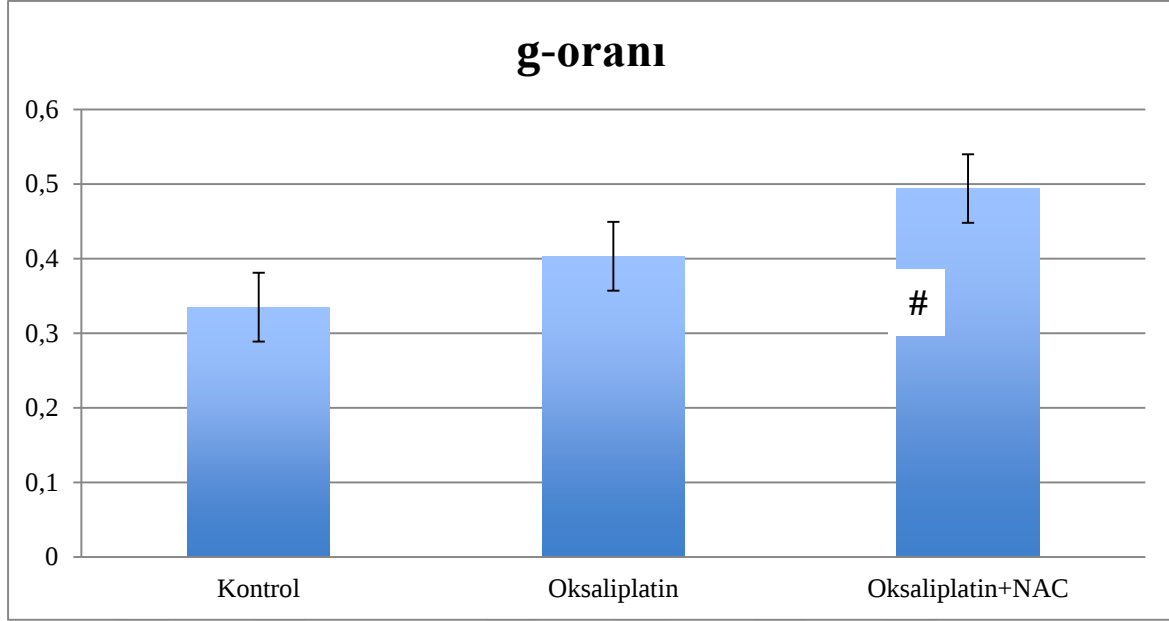


Şekil 4.7. Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde periferik sinir alanı karşılaştırması

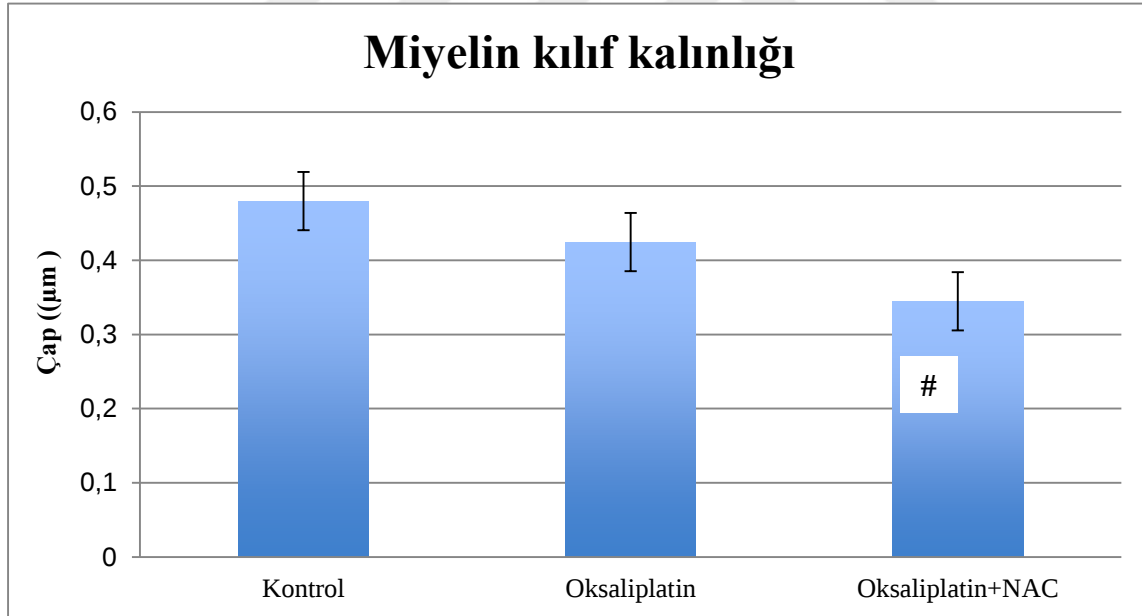


Şekil 4.8. Gruplar arasında Toluidin mavisiyle ile boyanmış periferik sinirlerde sinir lifi dansitesi karşılaştırması Sinir lifi dansitesi (NFD): Akson lifi sayısı/Siyatik sinir alanı (lif/mm²) #p<0,05 (oksaliplatin+NAC grubu ile kontrol grubu arasında)

Lif çapı ve akson çaplarını kullanılarak hesaplanan g-oranı oksaliplatin+NAC grubunda anlamlı olarak kontrol ve oksaliplatin grubuna göre daha yüksekti ($p<0,05$) (Şekil 4.9). Miyelin kılıf kalınlığı karşılaştırıldığında kontrol ve oksaliplatin grubu arasında fark yokken, oksaliplatin+NAC grubunda anlamlı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha azdı ($p<0,05$) (Şekil.4.10).

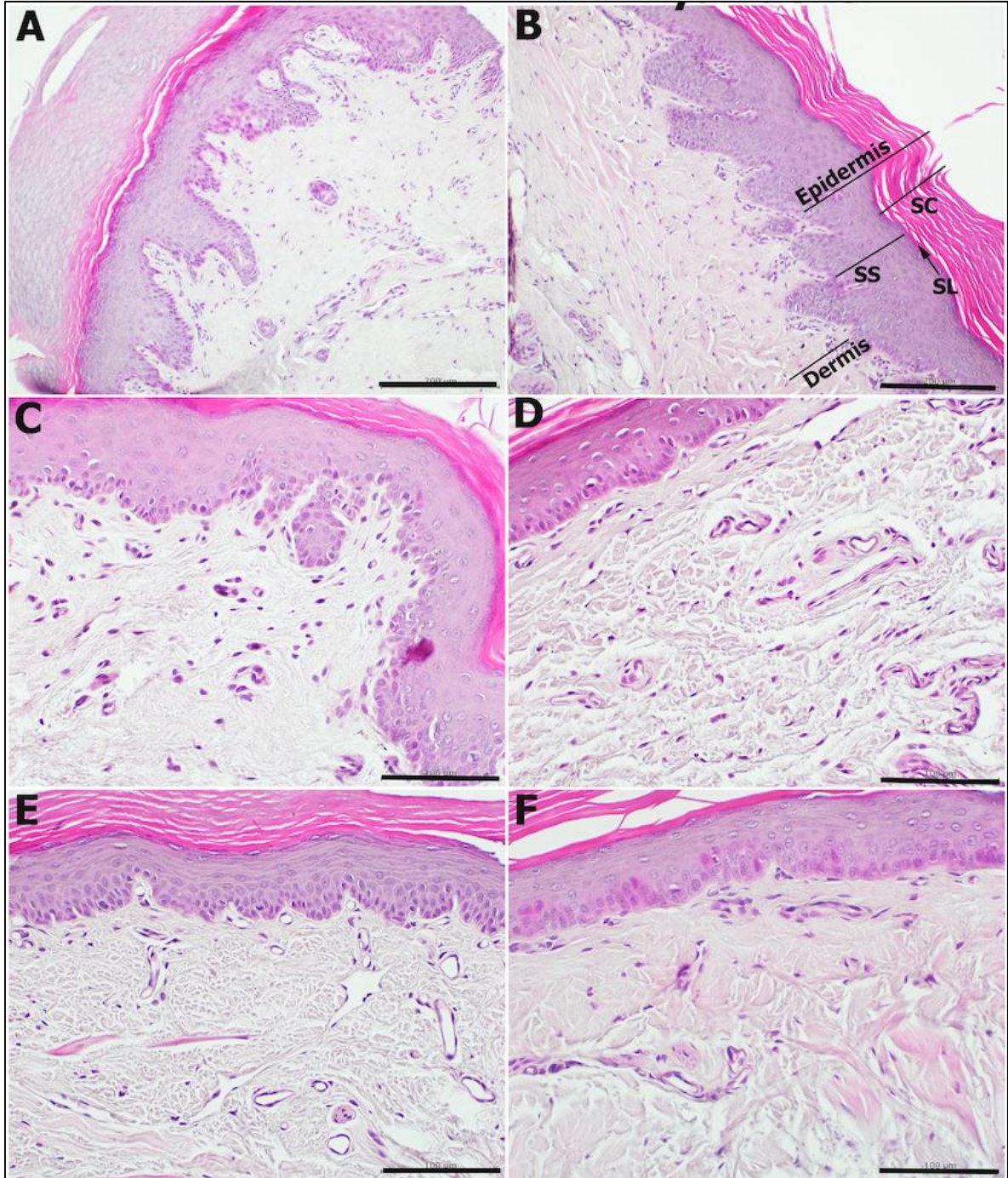


Şekil 4.9. Gruplar arasında toluidin mavisiyle boyanmış periferik sinirlerde g-oranı karşılaştırması ($g\text{-oranı} = \frac{[(\text{Maksimum lif çapı} + \text{minimum lif çapı})/2]}{[(\text{Maksimum akson çap} + \text{minimum akson çap})/2]}$) [#] $p < 0,05$ (oksaliplatin+NAC grubu ile kontrol grubu ve oksaliplatin grupları arasında)



Şekil 4.10. Toluidin mavisiyle boyanmış periferik sinirlerde miyelin kılıf kalınlığı [#] $p < 0,05$ (oksaliplatin+NAC grubu ile kontrol grubu arasında)

Ön ve arka pençeler hematoxilen eozin boyaması ile incelenmiş olup, dermis ve epidermis temel tabakaları gösterilmiş ve herhangi bir değişiklik görülmemiştir (Resim 4.2).

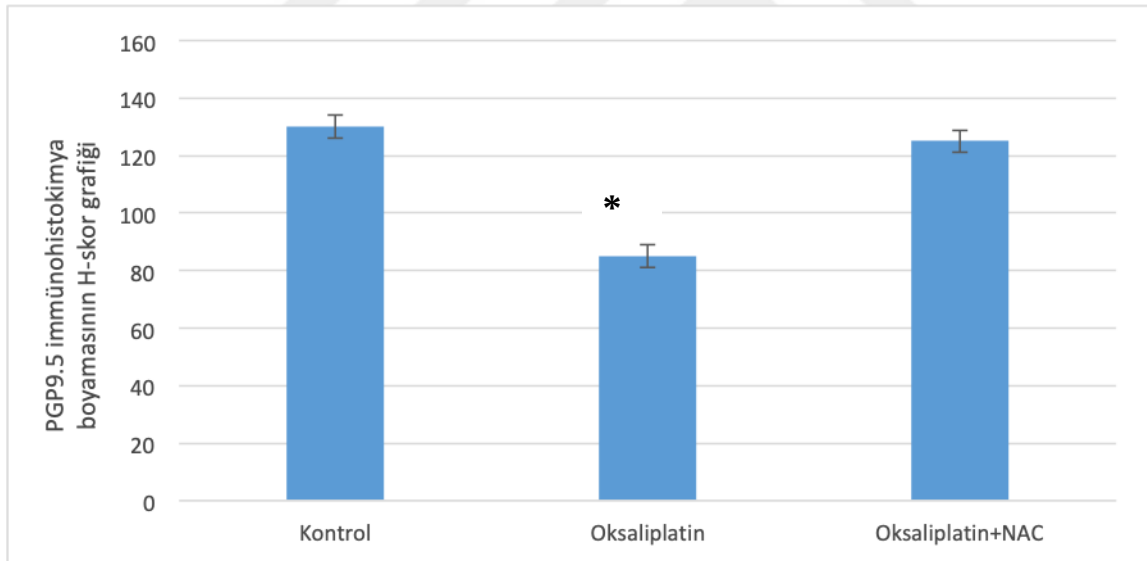


Resim 4.2. Gruplar arasında Hematoksilen-Eozin ile boyanmış ön ve arka pençelerde sinirlerde yapısal inceleme SC: Stratum Korneum, SL: Stratum Lucidum, SS: Stratum spinozum A. Kontrol x400, B. Kontrol x1000 ön pençe ve arka pençe C. Oksaliplatin x400, D. Oksaliplatin x1000 ön pençe ve arka pençe E. Oksaliplatin +NAC x400, F. Oksaliplatin +NAC x1000 ön pençe ve arka pençe

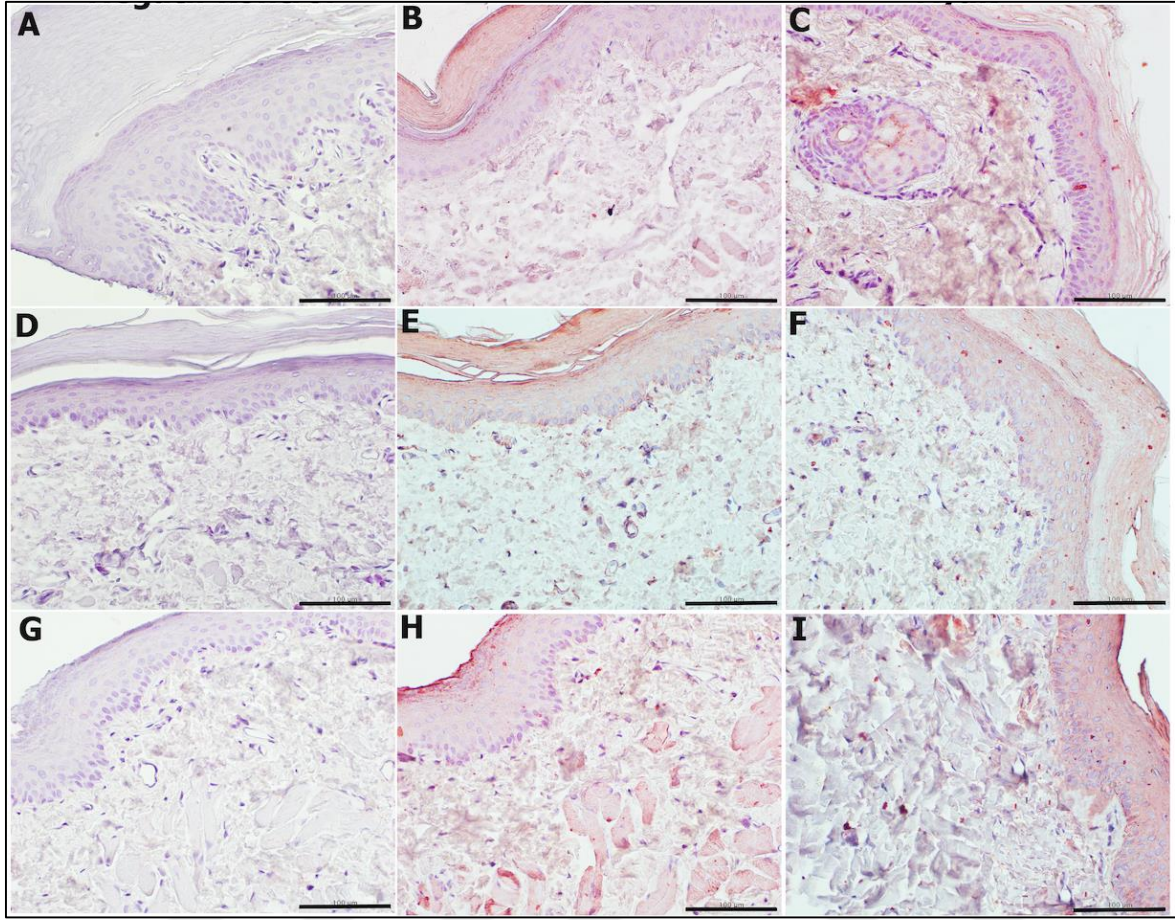
İnce lif nöropatisinde görülen İENF azalmasını gösterebilmek için pençelerde parafin bloklardan anti PGP9.5 ile immünohistokimya boyama yapıldı (Resim 4.3). Negatif kontrolde primer antikör kullanılmayarak reaksiyon spesifikliği kontrol edildi. İENF'ler hem histoskor, hem de İENFD (lif/mm) sayımı ile karşılaştırıldı.

Tüm gruplar incelendiğinde ön ve arka pençelerde stratum korneum tabakasında özellikle PGP9.5 ekspresyonunun yoğun olduğunu görüldü. Kontrol ve oksaliplatin+NAC grubunda stratum korneum ve dermis tabakalarında ekspresyon oksaliplatin grubuna göre çok daha fazla olduğu gözlemlenmektedir ($p<0,05$). Oksaliplatin grubunda stratum lusidum ve stratum spinozum tabakalarında çok az PGP9.5 ekspresyonu olduğu gözlemlendi (Resim 4.3).

PGP9.5 ekspresyonunun incelendiği immunhistokimyasal boyamalarda histoskor hesaplanmasında 0, +1, +2, +3 olarak değerlendirilip gruplar arasındaki immünohistokimyasal fark karşılaştırılmıştır (Şekil 4.11). Kontrol grubunda H-skoru $130\pm4,08$ iken oksaliplatin grubu sıçanlarda $85\pm3,88$, ve oksaliplatin+NAC grubunda $125\pm3,88$ idi. Oksaliplatin grubunda H-skoru kontrol grubu ve oksaliplatin+NAC grubuna anlamlı olarak düşüktü ($p<0,05$). Oksaliplatin+NAC grubu ile kontrol grubu arasında bir fark bulunmamıştır.

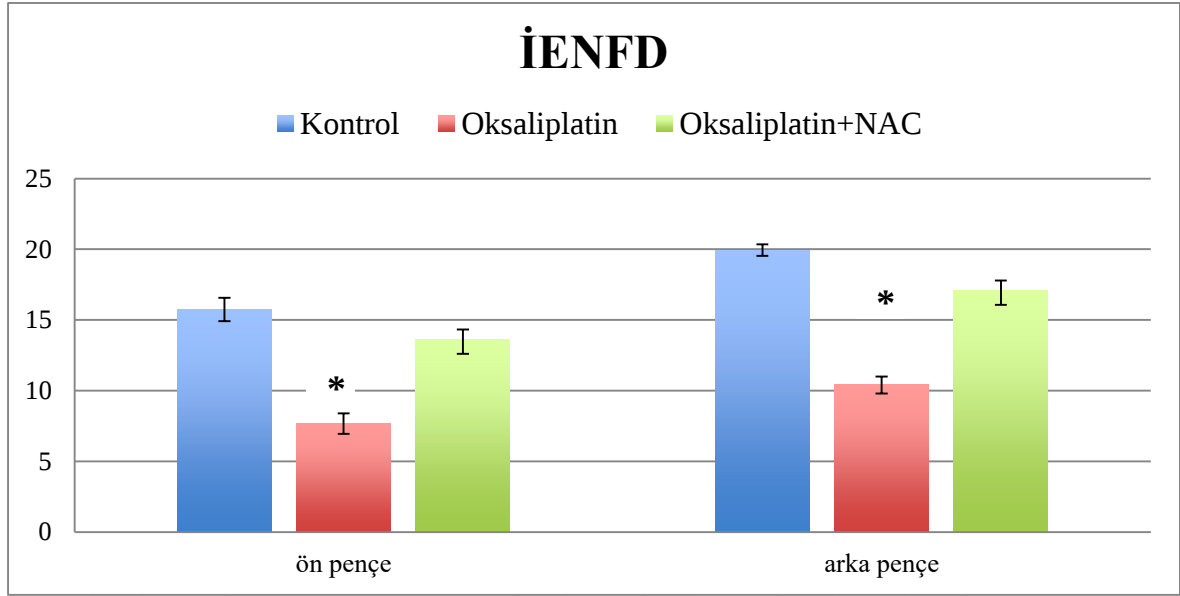


Şekil 4.11. PGP9.5 immünohistokimyasal boyama gruplar arası H skoru ile karşılaştırılması
* $p<0,05$ (oksaliplatin ile kontrol ve oksaliplatin+NAC grupları arasında)



Resim 4.3. Gruplar arasında ön ve arka pençelerde Anti PGP9.5 ile boyanma A. Kontrol x400, B. Kontrol x400 PGP9.5 ön pençe C. Kontrol X400 PGP9.5 arka pençe D. Negatif kontrol oksaliplatin x400, E. Oksaliplatin x400 PGP9.5 ön pençe F. Oksaliplatin X400 PGP9.5 arka pençe G. Negatif kontrol Oksaliplatin +NAC X400, H. Oksaliplatin + NAC X400 PGP9.5 ön pençe I. Oksaliplatin + NAC X400 PGP9.5 arka pençe

İENFD (lif/mm) sayımı hem ön hem arka pençelerde sayıldı. Ön pençe İENFD'leri kontrol grubunda $15,74 \pm 0,83$, oksaliplatin grubunda $7,67 \pm 0,41$, oksaliplatin+NAC grubunda $13,6 \pm 0,83$ hesaplandı. Arka pençe İENFD'leri kontrol grubunda $19,33 \pm 0,74$, oksaliplatin grubunda $10,4 \pm 0,6$, oksaliplatin+NAC grubunda $17,07 \pm 0,73$ hesaplandı. Hem ön hem arka pençelerde oksaliplatin grubunda kontrol ve oksaliplatin+NAC grubuna göre İENFD azalma mevcuttur ($p < 0,05$). Oksaliplatin+NAC grubunda İENFD kontrol grubuyla benzerdir.



Şekil 4.12. PGP9.5 immünohistokimyasal boyama gruplar arası İENFD karşılaştırılması
 *p<0,05 (oksaliplatin ile kontrol ve oksaliplatin+NAC grupları arasında)

5. TARTIŞMA

Sıçanlarda oluşturulan deneysel OİPN’de NAC koruyuculuğu araştırılmıştır. Oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC gruplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında davranış deneylerinde 3. günden son güne kadar mekanik allodini gösterildi. Oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC grupları karşılaştırıldığında ön ve arka pençelerde NAC verilen grupta allodini bir miktar daha azken sadece 7. günde arka pençelerde oksaliplatin+NAC grubunda oksaliplatin grubuna göre mekanik allodini daha azdı. Soğuk hiperaljeksi açısından incelendiğinde 7. ve 21. günlerde oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC gruplarında kontrol grubuna göre soğuk ağrılı ayak kaldırma sayısı daha fazla olduğu görüldü. 21. gün sakrifiye edilen sıçanların periferik sinir histolojisinde oksaliplatin ve oksaliplatin+NAC grubunda sinir lifi dansitesi daha az olduğu görüldü. Pençe immünohistokimyasında kontrol grubuna göre oksaliplatin grubunda azalmış İENFD, oksaliplatin+NAC grubunda kontrol grubu benzeri korunmuş İENFD gösterildi.

Oksaliplatin kolorektal malignitelerde ilk tercih olan 3. kuşak platin grubu kemoterapötiktir. Hem akut, hem de kronik nörotoksisite tablolarına yol açar. Akut nörotoksisite hastaların %90’ında kısa sürede oluşurken, el ayakta dizestezi ve soğuk hiperaljeksi ile seyrederek. Akut OİPN ilk ilaç infüzyonuyla bile başlayabilmektedir. Akut OİPN şiddeti kronikleşmeyle ilişkilidir. Kronik nörotoksisite 4 ve üzeri uygulama ve kümülatif doz ilişkili olup, distal parestezi sensöryel ataksi ve çene, göz ağrısı da eşlik edebilmektedir. Tedavide nöropati, doz kısıtlamaya hatta tedavide ara verme nedenidir. Ayrıca akut OİPN şiddeti kronikleşmeyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle nörotoksisitede koruma amaçlı ilaç çalışmaları önemlidir [5,42,43].

İnsanda oksaliplatinin intravenöz uygulama dozu FOLFOX protokolüne göre 85 mg/m^2 iki haftada bir ve XELOX protokolüne göre 130 mg/m^2 ’dir [42]. Gouma ve arkadaşları 190 – 240 gram sıçanlarda yaptıkları çalışmasına göre vücut yüzey alanı ($9,83 \times \text{Ağırlık}^{2/3}$) hesaplanmaktadır [64]. Formüle göre hesaplandığında insandaki 85 mg/m^2 sıçanlarda 15 mg/kg ’a denk olmaktadır.

Akut ve kronik OİPN modellerinde tek doz, haftada iki uygulamayla kümülatif doz oluşturma gibi modeller uygulanmaktadır. Çalışmalarda ana amaç antitümör aktivite yerine nörotoksisite oluşturma olması nedeniyle genelde daha düşük dozlar yeterli gelmektedir.

Farelerde akut ve kronik oksaliplatin nöropatisi karakterizasyonu ile ilgili Toyoma ve ark. yaptığı çalışmada tek doz 15 mg/kg ve tekrarlayan uygulamalarda 5,10 ve 15 mg/kg dozları uygulanmış. Literatürde daha düşük dozlar kullanılmış, Toyoma ve ark. çalışmasında 15 mg/kg uygulanan farelerde kilo kaybı görülmüştür [65]. Sıçanlarda tek doz kullanımlarda 6 mg/kg uygulanan ve davranışsal ve histolojik olarak nörotoksosite gösterilen çalışmalar olması ve genel toksisiteden kaçınmak için çalışmamızda da 6 mg/kg tek doz oksaliplatin uygulandı [66-70].

Oksaliplatinin akut ve kronik nörotoksitesinde korunmak ve tedavi etmek için klinik ve prelinik deneysel birçok ilaç ve yöntem denemiştir. Deneysel çalışmalarda çok sayıda ilacın faydalı olduğu yönelik sonuçlar olmasına rağmen klinik kullanıma yönelik olumlu sonuçlar yoktur. Amerika Klinik Onkoloji Derneği (ASCO)'nin 2020 kılavuzundaki önerilere göre, ağrılı KİPN için yararı sınırlı da olsa duloksetin kanıta dayalı önerilen tek ilaçtır ve duloksetinin OİPN'de de faydalı olduğuna yönelik çalışmalar mevcuttur [6,71]. Bu sebeplerle nörotoksiteden korunmak ve tedavi için çalışmalar devam etmektedir.

Bizim çalışmamızda OİPN'de NAC'ın koruyucu etkinliği incelenmesi amaçlanmıştır. Esas olarak ilk kullanımı mukolitik olan NAC, parasetamol zehirlenmesinde de glutasyon depolarını geri koyması nedeniyle standart olarak kullanılmaktadır. Oral ve intravenöz formları olan NAC antioksidan özellikleri nedeniyle ve terapötik indeksi geniş olması nedeniyle deneysel hayvan çalışmalarında çok sık kullanılmaktadır [14]. Periferik diyabetik nöropati ile ilgili Heidari ve ark. tarafından yapılan klinik çalışmada pregabalin yanında 1200 mg/gün oral NAC eklenen hastalarda faydalı bulunmuştur [15]. Farelerde ise tek doz 100 mg/kg i.p veya toplam 7 gün boyunca 100 mg/kg i.p. dozlarıyla verilen NAC periferik diyabetik nöropatide analjezik bulunmuştur [72]. NAC'ın KİPN'de kullanımı ile ilgili deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur. Zaki ve ark. tarafından çalışmada sıçanlarda sisplatine bağlı nörotoksitede korunma amaçlı 4 hafta boyunca 50 mg/kg/gün i.p. NAC kullanılmıştır. Sisplatine bağlı plazmada oksidan ürün fazlalığı ve antioksidan (süperoksit dismutaz ve GSH) eksikliğini önlediği gösterilmiş [17]. Çalışmamızda biz de 50 mg/kg i.p. NAC 21 gün boyunca uygulandı.

Bondad ve ark. yaptığı klinik çalışmada oksaliplatin infüzyonundan 1 saat öncesi verilen 1200 mg oral NAC sonucunda NCI-CTCAE (The National Cancer Institute - Common Terminology Criteria for Adverse Events) nöropati derecelendirmesine göre hastalarda daha

düşük derecede nöropati görülürken, duyuşal ve motor elektrofizyolojik değişiklik gösterilmemiştir [18].

İnsanda oksaliplatin uygulanmasından 2 ila 3 gün sonra nöropati şikayetleri başlayabilmekte ve iki hafta sonraki ikinci tedavi gününe kadar devam edebilmektedir [6]. Çalışmamızda 6 mg/kg ile oluşturulan OİPN modelinde mekanik allodini manuel von Frey ile test edilmiş, deneyin 3. günü başlayan mekanik allodini, deneyin son günü olan 21. güne kadar sürmüştür. Daha önceki çalışmalarda da tek doz 6 mg/kg oksaliplatinle 3. günde mekanik hiperaljezi gösterilmiştir [73,74]. Janes ve ark. 5 gün üstüste 2 mg/kg oksaliplatin uygulamasıyla oluşan modelinde 11. gün başlayan, 17. gün pik yapan ve 25. gün hala devam eden mekanik allodini bildirmişlerdir [75]. Boyette-Davis ve ark. çalışmasında da gün aşırı 2 mg/kg toplam 4 kez verilen oksaliplatin sonrası 30 gün sonra hala mekanik allodini gösterilmiştir [76].

Ön pençelere bakıldığında 3. günde başlayan mekanik allodini oksaliplatin+NAC grubunda daha az olmakla birlikte anlamlı bir fark yoktu. Arka pençelerde 7. günde oksaliplatin+NAC grubunda oksaliplatin grubuna göre mekanik allodini eşiği anlamlı düzeyde daha yüksekti. Bu da NAC'ın mekanik allodinide kısmen faydalı olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda tek doz oksaliplatin uygulanmış olup, tekrarlayan oksaliplatin uygulamalarında daha farklı sonuçlar çıkabileceği öngörülmektedir. Agnes ve ark. tarafından 5 mg/kg toplam 8 doz oksaliplatin uygulanan farelerde NAC alan grupta von Frey testleri sonucu mekanik allodini daha az bulunmuş [77]. Kawashiri ve ark. OİPN modelinde haftada 2 kez 4 mg/kg, toplam 4 kez uygulanmış oksaliplatine bağlı allodininin 30. günde devam ettiği görülmüştür [62].

Soğuk hiperaljezisi için sıçanlarda aseton testi, kuyruk çekme testi, sıcaklık tercih testi gibi çeşitli testler vardır. Kuyruk çekme testinde stres ilişkili analjezi ve aseton testinde her uygulamada aynı standart soğukluk elde edilemediği çalışmamızda cold plate testi tercih edildi. Cold plate testinde standart seçilmiş derece ve süresi bulunmamaktadır [20]. 5 dakika 4°C sıcaklıkta cold plate üzerinde sıçanların pençe kaldırma, ağrılı pençe kaldırma, donma (freezing), rearing süreleri kaydedildi. Ağrılı pençe kaldırma sayıları ile gruplar arasında soğuk hiperaljezisi açısından karşılaştırma yapıldı. Oksaliplatin grubu sıçanlarda hem 7. gün hem 21. gün soğuğa bağlı artmış ağrılı pençe kaldırma görüldü. Oksaliplatin+NAC grubunda soğuk hiperaljezisinde kendi kontrolüne göre artmış ağrılı pençe kaldırma görülmemekle birlikte kontrol grubuna göre 7. ve 21. günlerde fark

mevcuttu. Chukyo ve ark. 6 mg/kg tek doz oksaliplatin almış sıçanlarda aseton testi sonucu 7. gün azalmaya başlayan soğuk hiperaljezisi göstermiştir [78]. Kawashiri ve ark. çalışmasında 30. gün soğuk hiperaljezisinin devam ettiği görülmüştür. Agnes ve ark. yaptığı çalışmada 14 günde gün aşırı toplam 8 kez 5 mg/kg almış farelerde ilaç kesildikten sonra bir ay devam edebildiği gösterilmiştir. Agnes'in bu çalışmasında NAC'in soğuk hiperaljezisinde de koruyucu gösterilmiştir [77].

Çalışmamızda tümör modeli oluşturulmamıştır. Kawashiri ve ark, Toyoma ve ark ve Agnes ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda hayvanlara tümör implantı yerleştirilmiş, hem oksaliplatinin hem de koruyucu olarak verilen ilaçların etkilerine de bakılmıştır [62,65,77]. Agnes ve ark. çalışmasında tümör implantlı olan farelerde oksaliplatinin 5. gününde mekanik allodini başlarken tümörsüz olanda 7. gün başlamış, soğuk hiperaljezisi aynı gün başlamıştır [77].

Kemoterapi ilişkili nörotoksistede glutasyon seviyeleri azalabilmektedir, NAC'in etki mekanizmalarından biri de antioksidan özellikli GSH depolarını arttırmaktır, bu nedenle KİPN'de de faydalı olabileceği düşünülmektedir. [17,77] Glutasyon MRP2 kanallarından oksaliplatinin hücre dışına çıkışını sağlar, bu mekanizma platin birikimini engelleyebilecekken antitümör etkinliği etkileyebilir [27]. NAC aracılığıyla H₂S ve ilgili reaktif türler üzerinden kolorektal kanserlerde kemorezistans gelişebilir [54]. Bu sebeplerle NAC kullanımında dikkatli olunmalıdır. Agnes ve ark. yaptığı çalışmada 50 mg/kg günlük NAC alan ve tümör implantlı farelerde antitümör etkide azalma görülmemiştir [77].

Hematoksilen eozin ile sağlam akson, dejenere akson ve dejenere akson+miyelin yıkımı olmuş akson yüzdelere bakıldı. Oksaliplatin alan sıçanlarda dejenere akson yüzdesi yüksek, sağlam akson yüzdesi daha az olduğu görüldü. Bununla birlikte miyelin yıkımı+dejenere akson birlikte değerlendirildiğinde NAC'ın koruyucu etkisi görüldü. Ekici'nin çalışmasında paklitaksele bağlı artmış akson dejenerasyon yüzdesel olarak hematoksilen eozin ile gösterilmiştir [60]. Toludin mavisi boyama ile miyelin kılıf ve aksonlar daha iyi görüldüğü için genelde hematoksilen eozin boyama siyatik ve periferik sinir değerlendirmede yeterli görülmeyebilmektedir.

Toludin mavisiyle boyanan siyatik ve periferik sinirlerde periferik sinir alanı, akson lif sayısı ve buna bağlı sinir lifi dansitesi, akson ve lif çapları ve miyelin kılıf kalınlıkları incelenmiştir.

Periferik sinir (siyatik) sinir alanlarında fark bulunmamış, sinir lifi dansitesinde oksaliplatin+NAC grubunda kontrol grubuna göre azalma görülmüştür. Kawasihri ve ark. çalışmasında iki haftada toplam 16 mg/kg oksaliplatin uygulanmış sıçanlarda da siyatik sinir alanları ve sinir lifi dansitesinde fark gösterilmemiştir [62]. Toyoma ve ark. çalışmasında da haftada bir 15 mg/kg dozunda verilen oksaliplatin sonucu periferik sinir alanı ve sinir lifi sayısında fark bulunmamıştır [65]. Oksaliplatine bağlı lif çapı ve akson çapının oranından hesaplanan g-oranında artış, miyelin kılıf kalınlığında azalma beklenmektedir. Kawashiri ve ark. çalışmasında oksaliplatin ve oksaliplatin+ sistin/theanine alan sıçanlarda g-oranı artışı ve miyelin kılıf kaybı görülmüştür [62]. Çalışmamızda oksaliplatin alan sıçanlarda akson dejenerasyonu gösteren g-oranı artışı ve miyelin kılıf kaybı görülmekle birlikte sadece oksaliplatin+NAC alan grupta anlamlı fark çıkmıştır. Bu sonuçlarla NAC'ın koruyucu etkisi kaydedilmemekle birlikte siyatik ve periferik sinir liflerinin homojen olmaması nedeniyle tam sağlıklı değerlendirilememiştir.

Kemoterapi ilişkili periferik nöropatide A δ veya C liflerinin kaybıyla olan ince lif nöropatisi olur. Genellikle yanma, karıncalanma, elektrik çarpması veya kaşıntı hissi yapabilir [22,23]. Tanısında altın standart pannöral marker olan anti-PGP9.5 aracılığıyla İENFD bakmaktır [79]. KİPN'de deneysel çalışmalarda bakılan periferik sinir sisteminde DRG, siyatik sinir insanda klinikte bakılması uygun olmamaktadır. İnsanda ve hayvanda cilt biyopsisi aracılığıyla İENFD bakmak uygulanabilir, daha az invazif ve kantitatif değer verebilmektedir.

Çalışmamızda pençe derilerinden alınan deri dokuları İENF göstermek amaçlı anti-PGP9.5 ile boyandı. İmmünohistokimyasal boyanmayı gösteren H-skoru ile gruplar karşılaştırıldı ve İENFD hesaplandı [34]. H skorlarına göre oksaliplatin grubunda kontrol ve oksaliplatin+NAC grubuna göre daha az boyanma olduğu görüldü. İENFD karşılaştırıldığında oksaliplatine anlamlı derecede azalma mevcuttu. Oksaliplatin+NAC grubunda da kontrol grubuyla benzer İENFD korunmuştu. Boyette–Davis ve ark. çalışmalarında sıçanlarda oksaliplatin ve paklitaksel gruplarında İENFD azalmasını göstermiş, her ikisinde de antioksidan etkili minosiklin koruyucu bulunmuştur [76]. Toyoma ve ark tarafından da oksaliplatin almış farelerde İENFD azalması gösterilmiştir.

Çalışmanın kısıtlılıkları

Kemoterapi ilişkili periferik nöropati modelleri, kemoterapi ajanlarının kullanımını sınırlayan nöropati gelişimine karşı koruyucu tedavilerin araştırılmasına izin verir. Ancak KİPN oluşturmak amacıyla hayvan kullanımına uyarlanan dozlar, klinik kullanıma göre genellikle daha düşüktür. KİPN modelleri uygulanan düşük dozlar ve sıçanlarda genellikle tümör oluşturulmaması ve özgün anatomik ve fizyolojik farklılıklar nedeniyle hasta profilleriyle tam olarak eşleşmez. Bu nedenlerle KİPN ile ilgili deneysel çalışmalarda çok sayıda koruyucu ilaç faydalı görülmesine rağmen klinik uygulamaya girememiş, hatta ASCO tarafından karşıt görüş belirtilmiştir [6].

Çalışmamızda insanda da tek dozda bile başlayabilen OİPN modeli oluşturmak ve NAC koruyuculuğunu araştırmak amaçlandı. Erkek sıçanlarda yapılan ve uygulayıcının erkek olduğu ağrı deneylerinde özellikle olfaktör uyarılarla fizyolojik stres ilişkili analjezi ve ağrı inhibisyonu olabileceği, deney uygulayıcısının kadın olması durumunda bu ağrı inhibisyonunun olmadığına yönelik çalışmalar vardır [80]. Erkek sıçanlarda yapılan davranış deneyleri erkek uygulayıcı tarafından yapılmıştır. Çalışmada deneyler öncesi ortama, davranış deneyi düzeneklerine ve deney uygulayıcıya uzun süreli alıştırma periyodu ayrılmasına rağmen yine de tüm grupların deney başlangıç değerleri ideale yakın olmayabilir.

Periferik sinir incelemesi için siyatik sinir veya homojen olmayan periferik sinir damar paketleri birlikte değerlendirilmiştir. Bu nedenle periferik sinir dokularında optimal değerlendirme zorlaştırmıştır. Sakrifikasyonun perfüzyonla formaldehit fiksasyonu altında yapılması kanda biyokimya bakılmasına olanak vermemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Çalışmada tek doz oksaliplatin ile akut ağrı modeli oluşturulmuş, bir gruba da oksaliplatine ek koruyucu olarak N-asetilsistein verilmiştir. 3. günde oksaliplatin grubu sıçanlarda mekanik allodini ve soğuk hiperaljezisi görülmeye başlanmış deneyin son bulduğu 21. güne kadar sürmüştür. 7. günde oksaliplatin alan sıçanlarda NAC arka pençelerde mekanik allodiniden korumuştur.

21. gün sonlanan deneyde sıçanlardan alınan periferik sinirler ve pençe biyopsileri incelenmiştir. Tüm gruplarda periferik sinirlerde siyatik sinir alanı benzer bulunmuştur. Oksaliplatin aksonal dejenerasyona ve miyelin kılıf kaybına yol açmıştır. Pençelerde oksaliplatin grubunda ince lif nöropatisinde belirteç olan İENFD'nin azaldığı immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Oksaliplatin + NAC grubunda ise İENFD korunmuştur.

6.2. Öneriler

Oksaliplatin ve diğer nörotoksik kemoterapötikler ile ilgili koruyucu ve tedavi edici ilaç çalışmaları devam etmelidir. NAC'in kemoterapi ilişkili nöropatide koruyuculuğu için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Erkek sıçanlarla yapılan davranış deneylerini içeren çalışmalarda olfaktör uyarılarla tetiklenen strese kaçınmak için kadın araştırmacı tercih edilebilir. Ayrıca NAC ve diğer koruyucular için ilgili tümör progresyonu üzerinde etkilerinin de bilinerek uygulanması ve araştırılması önemlidir. Nörotoksik kemoterapötiklerin neoadjuvan tedavide de kullanılabilmesi nedeniyle klinikte cerrahi ve postoperatif dönemle ilgili gerek duyuşsal nöropati gerek otonom nöropati çalışmalarına da ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

1. Paice, J. A., Portenoy, R., Lacchetti, C., Campbell, T., Cheville, A., Citron, M., and Bruera, E. (2016). Management of chronic pain in survivors of adult cancers: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 34(27), 3325-3345.
2. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., and Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
3. Kim, G. P., and Erlichman, C. (2007). Oxaliplatin in the treatment of colorectal cancer. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 3(2), 281-294.
4. Cassidy, J., and Misset, J. L. (2002, October). Oxaliplatin-related side effects: characteristics and management. In *Seminars in Oncology*, 29(5), 11-20.
5. Kang, L., Tian, Y., Xu, S., and Chen, H. (2021). Oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: clinical features, mechanisms, prevention and treatment. *Journal of Neurology*, 268, 3269-3282.
6. Loprinzi, C. L., Lacchetti, C., Bleeker, J., Cavaletti, G., Chauhan, C., Hertz, D. L., and Hershman, D. L. (2020). Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: ASCO guideline update. *Journal of Clinical Oncology*, 38(28), 3325–3348.
7. Kerckhove, N., Collin, A., Condé, S., Chaletex, C., Pezet, D., and Balayssac, D. (2017). Long-term effects, pathophysiological mechanisms, and risk factors of chemotherapy-induced peripheral neuropathies: a comprehensive literature review. *Frontiers in pharmacology*, 24(8), 86.
8. Ling, B., Coudoré-Civiale, M. A., Balayssac, D., Eschalier, A., Coudoré, F., and Authier, N. (2007). Behavioral and immunohistological assessment of painful neuropathy induced by a single oxaliplatin injection in the rat. *Toxicology*, 234(3), 176-184.
9. Zajączkowska, R., Kocot-Kępska, M., Leppert, W., Wrzosek, A., Mika, J., and Wordliczek, J. (2019). Mechanisms of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1451.
10. Avan, A., Postma, T. J., Ceresa, C., Avan, A., Cavaletti, G., Giovannetti, E., and Peters, G. J. (2015). Platinum-induced neurotoxicity and preventive strategies: past, present, and future. *The Oncologist*, 20(4), 411-432.
11. Desforges, A.D., Hebert, C.M., Spence, A.L., Reid, B., Dhaibar, H.A., Cruz-Topete, D., Cornett, E.M., Kaye, A.D., Urits, I., and Viswanath, O. (2022). Treatment and diagnosis of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: An update. *Biomed Pharmacother*, (147), 112671.

12. Yang, Y., Zhao, B., Gao, X., Sun, J., Ye, J., Li, J., and Cao, P. (2021). Targeting strategies for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: clinical syndrome, molecular basis, and drug development. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40(1), 1-25.
13. Santus, P., Corsico, A., Solidoro, P., Braidò, F., Di Marco, F., and Scichilone, N. (2014). Oxidative stress and respiratory system: pharmacological and clinical reappraisal of N-acetylcysteine. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, 11(6), 705-717.
14. Pedre, B., Barayeu, U., Ezeriņa, D., and Dick, T. P. (2021). The mechanism of action of N-acetylcysteine (NAC): The emerging role of H₂S and sulfane sulfur species. *Pharmacology & Therapeutics*, 228, 107916.
15. Heidari, N., Sajedi, F., Mohammadi, Y., Mirjalili, M., and Mehrpooya, M. (2019). Ameliorative effects of N-acetylcysteine as adjunct therapy on symptoms of painful diabetic neuropathy. *Journal of Pain Research*, 3147-3159.
16. Notartomaso, S., Scarselli, P., Mascio, G., Liberatore, F., Mazzon, E., Mammana, S., and Battaglia, G. (2020). N-Acetylcysteine causes analgesia in a mouse model of painful diabetic neuropathy. *Molecular Pain*, 16, 1744806920904292.
17. Zaki, S. M., Mohamed, E. A., Motawie, A. G., and Fattah, S. A. (2018). N-acetylcysteine versus progesterone on the cisplatin-induced peripheral neurotoxicity. *Folia Morphologica*, 77(2), 234-245.
18. Bondad, N., Boostani, R., Barri, A., Elyasi, S., and Allahyari, A. (2020). Protective effect of N-acetylcysteine on oxaliplatin-induced neurotoxicity in patients with colorectal and gastric cancers: a randomized, double blind, placebo-controlled, clinical trial. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 26(7), 1575-1582.
19. Janković, S. M. (2022). Acetaminophen toxicity and overdose: current understanding and future directions for NAC dosing regimens. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 18(11), 745-753.
20. Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., and Vetter, I. (2017). Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 284.
21. Bruna, J., Alberti, P., Calls-Cobos, A., Caillaud, M., Damaj, M. I., and Navarro, X. (2020). Methods for in vivo studies in rodents of chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Experimental Neurology*, 325, 113154.
22. Sopacua, M., Hoeijmakers, J. G., Merckies, I. S., Lauria, G., Waxman, S. G., and Faber, C. G. (2019). Small-fiber neuropathy: expanding the clinical pain universe. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 24(1), 19-33.
23. Timmins, H.C., Li, T. and Kiernan, M.C. (2020). Quantification of small fiber neuropathy in chemotherapy treated patients. *The Journal of Pain*, 21(1-2), 44-58.
24. Stein, A., and Arnold, D. (2012). Oxaliplatin: a review of approved uses. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 13(1), 125-137.

25. Alcindor, T., and Beauger, N. (2011). Oxaliplatin: a review in the era of molecularly targeted therapy. *Current Oncology*, 18(1), 18-25.
26. İnternet: Devanabanda B, Kasi A. Oxaliplatin. [Updated 2023 May 16]. In: *StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.* Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557690/> adresinden 18 Mayıs 2023'te alınmıştır.
27. Perego, P., and Robert, J. (2016). Oxaliplatin in the era of personalized medicine: from mechanistic studies to clinical efficacy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77, 5-18.
28. İnternet: Koop, L.K., Tadi, P. Neuroanatomy, Sensory Nerves. [Updated 2022 Jul 25]. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.* Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539846/> adresinden 18 Mayıs 2023'te alınmıştır.
29. Gutiérrez-Gutiérrez, G., Sereno, M., Miralles, A., Casado-Sáenz, E., and Gutiérrez-Rivas, E. (2010). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: clinical features, diagnosis, prevention and treatment strategies. *Clinical and Translational Oncology*, 12, 81-91.
30. İnternet: Organization of the Peripheral Nervous System, Web: <http://courses.washington.edu/pbio375/PNS-org/pns-organization.html> adresinden 01 Haziran 2023'te alınmıştır.
31. İnternet: Ahimsadasan, N., Reddy, V., Khan Suheb, M.Z., et al. Neuroanatomy, Dorsal Root Ganglion. [Updated 2022 Sep 21]. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.* Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532291/> adresinden 18 Mayıs 2023'te alınmıştır.
32. İnternet: Hammi, C., Yeung, B. Neuropathy. [Updated 2022 Oct 15]. In: *StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.* Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542220/> adresinden 18 Mayıs 2023'te alınmıştır.
33. Fukuda, Y., Li, Y., and Segal, R.A. (2017). A mechanistic understanding of axon degeneration in chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Front Neurosci*, 31(11), 481.
34. Mangus, L. M., Rao, D. B., and Ebenezer, G. J. (2020). Intraepidermal nerve fiber analysis in human patients and animal models of peripheral neuropathy: a comparative review. *Toxicologic Pathology*, 48(1), 59-70.
35. Prodanov, D. P. (2006). *Morphometric analysis of the rat lower limb nerves - anatomical data for neural prosthesis design*. PhD Thesis, Research UT, graduation UT, University of Twente, Twente University Press, 5.
36. Velasco, R., Domingo-Domenech, E., and Sureda, A. (2021). Brentuximab-induced peripheral neurotoxicity: a multidisciplinary approach to manage an emerging challenge in Hodgkin lymphoma therapy. *Cancers*, 13(23), 6125.

37. İnternet Casanove-Molla, J. *Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Mechanisms and Clinical Assessment*. Neurotoxicity - New Advances. IntechOpen; 2022. Web:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100495> adresinden 18 Mayıs 2023'te alınmıştır.
38. Fehrenbacher, J. C. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 131, 471-508.
39. Brewer, J. R., Morrison, G., Dolan, M. E., and Fleming, G. F. (2016). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. *Gynecologic Oncology*, 140(1), 176-183.
40. Staff, N. P., Grisold, A., Grisold, W., and Windebank, A. J. (2017). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a current review. *Annals of Neurology*, 81(6), 772-781.
41. Addington, J., and Freimer, M. (2016). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: an update on the current understanding. *F1000Research*, 5.
42. Argyriou, A. A. (2015). Updates on oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity (OXAIPN). *Toxics*, 3(2), 187-197.
43. Yang, Y., Zhao, B., Gao, X., Sun, J., Ye, J., Li, J., and Cao, P. (2021). Targeting strategies for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy: clinical syndrome, molecular basis, and drug development. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40(1), 1-25.
44. Meregalli, C., Monza, L., and Jongen, J. L. (2022). A mechanistic understanding of the relationship between skin innervation and chemotherapy-induced neuropathic pain. *Frontiers in Pain Research*, 3, 1066069.
45. Mannelli, L. D. C., Pacini, A., Micheli, L., Tani, A., Zanardelli, M., and Ghelardini, C. (2014). Glial role in oxaliplatin-induced neuropathic pain. *Experimental Neurology*, 261, 22-33.
46. Sałat, K., Furgała-Wojas, A., and Sałat, R. (2021). The microglial activation inhibitor minocycline, used alone and in combination with duloxetine, attenuates pain caused by oxaliplatin in mice. *Molecules*, 26(12), 3577.
47. Annese, T., Tamma, R., De Giorgis, M., and Ribatti, D. (2020). microRNAs biogenesis, functions and role in tumor angiogenesis. *Frontiers in Oncology*, 10, 581007.
48. Peng, Q., Mechanic, J., Shoieb, A., Pardo, I. D., Schaevitz, L., Fenyk-Melody, J., and Liu, C. N. (2019). Circulating microRNA and automated motion analysis as novel methods of assessing chemotherapy-induced peripheral neuropathy in mice. *PLoS One*, 14(1), e0210995.
49. Schwalfenberg, G. K. (2021). N-acetylcysteine: a review of clinical usefulness (an old drug with new tricks). *Journal of Nutrition and Metabolism*, (9), 9949453.

50. Tenório, M. C. D. S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., Oliveira, A. C. M. D., and Goulart, M. O. F. (2021). N-acetylcysteine (NAC): impacts on human health. *Antioxidants*, 10(6), 967.
51. Kalyanaraman, B. (2022). NAC, NAC, Knockin'on Heaven's door: Interpreting the mechanism of action of N-acetylcysteine in tumor and immune cells. *Redox Biology*, (57), 102497.
52. Zhang, V. X., Sze, K. M. F., Chan, L. K., Ho, D. W. H., Tsui, Y. M., Chiu, Y. T., and Ng, I. O. L. (2021). Antioxidant supplements promote tumor formation and growth and confer drug resistance in hepatocellular carcinoma by reducing intracellular ROS and induction of TMBIM1. *Cell & bioscience*, 11(1), 1-20.
53. Basak, P., Sadhukhan, P., Sarkar, P., and Sil, P. C. (2017). Perspectives of the Nrf-2 signaling pathway in cancer progression and therapy. *Toxicology Reports*, 4, 306-318.
54. Zuhra, K., Tomé, C. S., Masi, L., Giardina, G., Paulini, G., Malagrino, F., and Giuffrè, A. (2019). N-acetylcysteine serves as substrate of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and stimulates sulfide metabolism in colon cancer cells. *Cells*, 8(8), 828.
55. D'Egidio, F., Lombardozzi, M'Barek, G., K. B.H., Mastroiacovo, G., Alfonsetti, M., and Cimini, A. (2022). The influence of dietary supplementations on neuropathic pain. *Life*, 12(8), 1125.
56. Khalefa, H. G., Shawki, M. A., Aboelhassan, R., and El Wakeel, L. M. (2020). Evaluation of the effect of N-acetylcysteine on the prevention and amelioration of paclitaxel-induced peripheral neuropathy in breast cancer patients: a randomized controlled study. *Breast Cancer Research and Treatment*, 183(1), 117-125.
57. Gregory, N. S., Harris, A. L., Robinson, C. R., Dougherty, P. M., Fuchs, P. N., and Sluka, K. A. (2013). An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *The journal of pain*, 14(11), 1255-1269.
58. Yalcin, I., Charlet, A., Freund-Mercier, M. J., Barrot, M., and Poisbeau, P. (2009). Differentiating thermal allodynia and hyperalgesia using dynamic hot and cold plate in rodents. *The Journal of pain*, 10(7), 767-773.
59. Brenner, D. S., Golden, J. P., and Gereau IV, R. W. (2012). A novel behavioral assay for measuring cold sensation in mice. *PloS One*, 7(6), e39765.
60. Ekici, M., ve Balkaya, M. (2021). Sıçanlarda oksitosin ve progesteronun paklitaksel kaynaklı nöropati üzerindeki koruyucu etkileri. *Nörolojik Bilimler ve Nörofizyoloji*, 38(4), 26
61. Akcan, G., Alimogullari, E., Abu-Issa, R., and Cayli, S. (2020). Analysis of the developmental expression of small VCP-interacting protein and its interaction with steroidogenic acute regulatory protein in Leydig cells. *Reproductive Biology*, 20(1), 88-96.

62. Kawashiri, T., Kobayashi, D., Egashira, N., Tsuchiya, T., and Shimazoe, T. (2020). Oral administration of Cystine and Theanine ameliorates oxaliplatin-induced chronic peripheral neuropathy in rodents. *Scientific Reports*, 10(1), 12665..
63. Dereli Can, G., Akcan, G., Can, M. E., Akdere, Ö. E., Çaylı, S., Şimşek, G., ve Gümüşderelioğlu, M. (2020). Surgical and Immunohistochemical Outcomes of Scleral Reconstruction with Autogenic, Allogenic and Xenogenic Grafts: An Experimental Rabbit Model. *Current Eye Research*, 45(12), 1572-1582.
64. Gouma, E., Simos, Y., Verginadis, I., Lykoudis, E., Evangelou, A., and Karkabounas, S. (2012). A simple procedure for estimation of total body surface area and determination of a new value of Meeh's constant in rats. *Laboratory Animals*, 46(1), 40-45.
65. Toyama, S., Shimoyama, N., Ishida, Y., Koyasu, T., Szeto, H. H., and Shimoyama, M. (2014). Characterization of acute and chronic neuropathies induced by oxaliplatin in mice and differential effects of a novel mitochondria-targeted antioxidant on the neuropathies. *Anesthesiology*, 120(2), 459-473.
66. Lee, J. H., Li, D. X., Yoon, H., Go, D., Quan, F. S., Min, B. I., and Kim, S. K. (2014). Serotonergic mechanism of the relieving effect of bee venom acupuncture on oxaliplatin-induced neuropathic cold allodynia in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1-7.
67. Lim, B. S., Moon, H. J., Li, D. X., Gil, M., Min, J. K., Lee, G., and Min, B. I. (2013). Effect of bee venom acupuncture on oxaliplatin-induced cold allodynia in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 369324.
68. Chukyo, A., Chiba, T., Kambe, T., Yamamoto, K., Kawakami, K., Taguchi, K., and Abe, K. (2018). Oxaliplatin-induced changes in expression of transient receptor potential channels in the dorsal root ganglion as a neuropathic mechanism for cold hypersensitivity. *Neuropeptides*, 67, 95-101.
69. Kim, C., Lee, J. H., Kim, W., Li, D., Kim, Y., Lee, K., and Kim, S. K. (2016). The suppressive effects of Cinnamomi Cortex and its phytochemical coumarin on oxaliplatin-induced neuropathic cold allodynia in rats. *Molecules*, 21(9), 1253.
70. Jung, Y., Lee, J. H., Kim, W., Yoon, S. H., and Kim, S. K. (2017). Anti-allodynic effect of Buja in a rat model of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via spinal astrocytes and pro-inflammatory cytokines suppression. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1-8.
71. Kawashiri, T., Mine, K., Kobayashi, D., Inoue, M., Ushio, S., Uchida, M., and Shimazoe, T. (2021). Therapeutic agents for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy; experimental and clinical evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1393.
72. Notartomaso, S., Scarselli, P., Mascio, G., Liberatore, F., Mazzon, E., Mammana, S., and Battaglia, G. (2020). N-Acetylcysteine causes analgesia in a mouse model of painful diabetic neuropathy. *Molecular Pain*, 16, 1744806920904292.

73. Ling, B., Coudoré, F., Decalonne, L., Eschalier, A., and Authier, N. (2008). Comparative antiallodynic activity of morphine, pregabalin and lidocaine in a rat model of neuropathic pain produced by one oxaliplatin injection. *Neuropharmacology*, 55(5), 724-728.
74. Ahn, B. S., Kim, S. K., Kim, H. N., Lee, J. H., Lee, J. H., Hwang, D. S., and Kim, S. K. (2014). Gyejigachulbu-tang relieves oxaliplatin-induced neuropathic cold and mechanical hypersensitivity in rats via the suppression of spinal glial activation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 436482.
75. Janes, K., Wahlman, C., Little, J. W., Doyle, T., Tosh, D. K., Jacobson, K. A., & Salvemini, D. (2015). Spinal neuroimmune activation is independent of T-cell infiltration and attenuated by A3 adenosine receptor agonists in a model of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. *Brain, behavior, and immunity*, 44, 91–99
76. Boyette-Davis, J., & Dougherty, P. M. (2011). Protection against oxaliplatin-induced mechanical hyperalgesia and intraepidermal nerve fiber loss by minocycline. *Experimental neurology*, 229(2), 353–357.
77. Agnes J.P., Santos V.W.D., das Neves R.N., Gonçalves R.M., Delgobo M., Girardi C.S., Lückemeyer D.D., Ferreira M.A., Macedo-Júnior S.J., Lopes S.C., Spiller F., Gelain D.P., Moreira J.C.F., Prediger R.D., Ferreira J., Zanotto-Filho A. (2021)Antioxidants Improve Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy in Tumor-Bearing Mice Model: Role of Spinal Cord Oxidative Stress and Inflammation. *The Journal of Pain*, 22(8), 996-1013
78. Chukyo, A., Chiba, T., Kambe, T., Yamamoto, K., Kawakami, K., Taguchi, K., and Abe, K. (2018). Oxaliplatin-induced changes in expression of transient receptor potential channels in the dorsal root ganglion as a neuropathic mechanism for cold hypersensitivity. *Neuropeptides*, 67, 95-101.
79. Han, Y., and Smith, M.T. (2013). Pathobiology of cancer chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). *Front Pharmacol*, 18(4),156.
80. Sorge, R. E., Martin, L. J., Isbester, K. A., Sotocinal, S. G., Rosen, S., Tuttle, A. H., and Mogil, J. S. (2014). Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nature Methods*, 11(6), 629-632.





EK-1: Etik Kurul

Evrak Tarih ve Sayısı: 03.01.2020-E.801



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Didem Tuba AKÇALI
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Didem Tuba AKÇALI, Okan ERMİŞ, Elif TOPA, Hayrunnisa BOLAY BELEN'den oluşan G.Ü.ET-19.074 kod numaralı ve "*Oksaliplatin ile Nöropatik Ağrı Modeli Oluşturulan Sıçanlarda N-asetilsistein, Lidokain, Oksitosin Koruyucu Etkinliği*" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.074 and entitled "Efficacy of lidocaine, n-acetylsisteine, oxytocin in prevention of a neuropathic pain model induced by oxaliplatin" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino
Hayvan Sayısı : 30

Ek: 1 Liste

30.12.2019 Genel Evrak Sorumlusu

Esengül BOŞNAK



Ankara
Tel: 0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks: 0 (312) 202 38 76
e-Posta : hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi : http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için : Esengül BOŞNAK
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No: 03122022666

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1: (devam) Etik Kurul

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ :18.10.2019		TOPLANTI SAYISI : 08	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.Tuncay PEKER			
Prof.Dr.Fatma AKAR			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ			
Doç.Dr.Emre BARIŞ			
Doç.Dr.İpek SÜNTAR			
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR			
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

EK-1: (devam) Etik Kurul

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.11.2023-E.784120



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : E-66332047-604.01.02-784120
Konu : Değerlendirme ve Onay

01.11.202

Sayın Prof. Dr. Didem Tuba AKÇALI
Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Daha önce 03.01.2020 tarih ve E.801 sayılı yazımız ile onay alan G.Ü.ET-19.074 kod numaralı **"Oksaliplatin ile Nöropatik Ağrı Modeli Oluşturulan Sıçanlarda N-asetilsistein, Lidokain, Oksitosin Koruyucu Etkinliği"** başlıklı çalışmanız ile ilgili vermiş olduğunuz 29.08.2023 tarihli dilekçeniz **20.10.2023** tarih ve **10** sayılı Kurul toplantısında incelenmiş olup,

Dilekçede; doktora tez çalışması olan araştırmanın başvuruda belirtilen oksitosin ve lidokain grupları deneylerinin bütçe sınırlılığı ve tez öğrencisinin zaman kısıtlılığı nedeniyle, çalışmanın başlığının **"Deneyisel Oksaliplatin İlişkili Periferik Nöropati Modelinde N-asetilsisteinin Koruyucu Etkisi"** olarak değiştirilmesi ile ilgili talebinizin uygun bulunduğu oybirliği ile karar verilmiş olup, karara ilişkin imza listesi ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa ARSLAN
Kurul Başkanı

Ek:1 Liste

Belge Doğrulama Kodu :BSCHBYSE3Z

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/gazi-universitesi-ebys>

Emniyet Mahallesi Bandırma Caddesi No :6/1 06560 Yenimahalle/ANKARA
Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/
Kep Adresi: gaziuniversitesi@hs01.kep.tr

Bilgi için :Nursel Güner
Genel Evrak Sorumlusu
Telefon No:202 20 57



Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

EK-1: (devam) Etik Kurul

Evrak Tarih ve Sayısı: 01.11.2023-5784170

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 20/10/2023		TOPLANTI SAYISI : 10	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Prof.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.İlker ŞEN			
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Prof.Dr.Fatma Gökçe APAYDIN			
Prof.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Doç.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Doç.Dr. Duygu AĞAGÜNDÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Şevki Mustafa DEMİRÖZ			
Dr.Öğr.Üyesi Sühan GÜRBÜZ			
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep YIĞMAN			
Dr.Öğr.Üyesi Nur Banu BAL			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr. Beyza AYDOĞAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ERMİŞ, Okan
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Nöroloji	Devam ediyor
Tıpta Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anestezi and Reanimasyon AD	2016
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi	2010
Lise	60. Yıl Anadolu Lisesi İzmir	2004

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
Devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	Öğr. Gör. Dr. Anesteziyoloji ve Reanimasyon
2016- 2019	Iğdır Devlet Hastanesi	Uzman Dr., Anesteziyoloji ve Reanimasyon
2015	Academisch Medisch Centrum, UVA	Fellowship, Anesteziyoloji
2012-2016	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	Arş.Gör.Dr., Anesteziyoloji ve Reanimasyon
2010–2011	Muş Varto Devlet Hastanesi	Tıp Doktoru, Acil Servis

Yayınlar

Atasever, A.G., Ermiş, O., Demir, B.S., Kaşalı, K., ve Karadeniz, M.S. (2020). Comparison of bupivacaine alone and in a combination with lidocaine for caudal block in patients undergoing circumcision: A historical cohort study *Turkish Journal Of Urology*, 46(3):243-248.

Ermiş, O. (2020). *Deney hayvanlarında serebrovasküler olay modelleri, klinik bilimlerde deney hayvani modelleri*. Ankara: Akademisyen Yayınevi Kitabevi, 253-257.

- Ermiş, O., Ersun, B., Camgöz Eryılmaz, N., İnan, G., Yıldırım, E., Şıvgın, V., ve Günaydın, B. (2021). Yeni koronavirus COVID-19 ile enfekte gebelerin sezaryenle doğumunda anestezi yönetimi ve korunma. *Uluslararası Modern Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(1): 24-27.
- Ermiş, O., ve Akçalı, D.T. (2019). *Lomber bölgede ağrıya yönelik enjeksiyonlar, Ağrı ve enjeksiyonlar*. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi, 46-50.
- Ermiş, O., ve Akçalı, D.T. (2023). Kemoterapi ilişkili periferik nöropati ve tedavisi. *JARRS*, 31(2):109-117.

Hakemli Kongre/Sempozyum Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

- Atasever, A.G., Ermiş, O., Demir, B.S., Kaşalı, K., ve Karadeniz, M.S. (2018). *Çocuklarda sünnnet operasyonlarında bupivakain veya lidokain+bupivakain karışımı ile uygulanan kaudal epidural bloğun intraoperatif ve postoperatif etkilerinin değerlendirilmesi; Retrospektif kohort araştırma*. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 52.Ulusal Kongresi, Antalya
- Eğritaş Gürkan, Ö., Öztürk, H., Kaya, C., Teker Düztaş, D., Ceylan, K., Ünlüsoy Aksu, A., ve Sönmez, K. (2022). *Modified Sharma's classification for gastric outlet obstruction beyond infantile hypertrophic pyloric stenosis; A paediatric gastroenterologist's perspective*. 54th Annual Meeting of ESPGHAN, Kobenhavn, Danimarka.
- Erel, S., Ermiş, O., Nadastepe Öztürk, O., ve Karabıyık, L. (2020). *Evaluation of Sepsis Awareness among Various Groups in Turkey:a Survey Study e-ISICEM2020*.
- Ermiş, O., Abbasoğlu Topa, .EG. , Akçalı, D.T., ve Bolay Belen, H. (2020). *Effect of N-acetylcysteine in oxaliplatin induced neuropathic pain in rat model*. Global Migraine and Pain, (3): 1-17.
- Ermiş, O., Karabıyık, L., Akçalı, D.T., ve Taştepe, A.İ. (2016). *Kronik posttorakotomi ağrısının değerlendirilmesi*. 14.Ulusal Ağrı Kongresi, Antalya, 1-52.
- Ersun, B., Erel, S., Ermiş, O., ve Pampal, H.K. (2021). *Not every syndrome means a difficult airway*. Case Report 1st International Medical Records Congress.
- İnan, G., Ermiş, O., Ersun, B., Camgöz Eryılmaz, N., ve Günaydın, D.B. (2020). *Yeni koronavirus COVID-19 ile enfekte gebelerin sezaryenle doğumunda anestezi yönetimi ve korunma*. 54.e-TARK, Ankara, 262.
- Karabıyık, L., Boyacı, N., Ermiş, O., Gaygısız, Ü., ve Bashiri, M. (2015). 20. *Karbonmonoksit zehirlenmesine bağlı hipoksik ensefalopati ve kardiyak etkilenme*. Klinik Toksikoloji Ulusal Kongresi, Ankara.
- Karabıyık, L., Gaygısız, Ü., Ermiş, O., ve Boyacı, N. (2015). *A history of a long term intensive care unit stay due to prolonged weaning complicated by tracheal stenosis in a case of myasthenia gravis*. 20th International Intensive Care Symposium, (13), 153.
- Muratoğlu, D.S., Ermiş, O., Yavuz, A., ve Alkan, M. (2022). *Alfa1 antitripsin eksikliği olan hastada anestezi yönetimi*. 8.Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi, Antalya, Türkiye, 135-140



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

