



T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİSPLATİNLE OLUŞTURULAN *IN VIVO* VE *IN VITRO*  
NÖROTOKSİSİTEDE KLOROJENİK ASİTİN ROLÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**ÇİĞDEM ÇENGELLİ ÜNEL**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. KEVSER EROL**

**2019**





T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**SİSPLATİNLE OLUŞTURULAN *IN VIVO* VE *IN VITRO*  
NÖROTOKSİSİTEDE KLOROJENİK ASİTİN ROLÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**Çiğdem ÇENGELLİ ÜNEL**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Kevser EROL**

**2019**

**BAP Proje No: 2017-11004**

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

Çiğdem ÇENGELLİ ÜNEL'in Doktora Tezi olarak hazırladığı "Sisplatinle oluşturulan in vivo ve in vitro nörotoksisitede klorojenik asitin rolü" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih  
25.12.2019

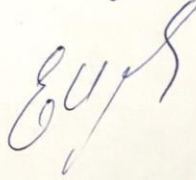
Üye : Prof. Dr. Kevser EROL



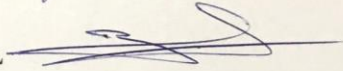
Üye : Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ



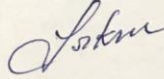
Üye : Prof. Dr. Emel ULUPINAR



Üye : Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYSAL



Üye : Prof. Dr. Fazilet AKSU



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
.../.../ tarih ve ...../..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Özkan ALATAŞ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### Sisplatinle oluşturulan *in vivo* ve *in vitro* nörotoksisitede klorojenik asitin rolü

**Amaç:** Çalışmada klorojenik asitin (CGA) primer sıçan dorsal kök gangliyon (DRG) hücre kültüründe sisplatinin (CIS) sebep olduğu nörotoksisitede ve yetişkin sıçanlarda sisplatinle oluşturulan periferik nöropatide (PN) potansiyel nöroprotektif ve antihiperaljezik etkilerinin ve bu etkilerde nitrik oksitin (NO) rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

**Kapsam:** CIS birçok tümörün tedavisinde yaygın olarak kullanılan antikanser ajandır. PN, CIS kullanımında en önemli doz-kısıtlayıcı yan etkidir. CGA antioksidan, antiinflamatuvar, nöroprotektif etkileri gösterilmiş, besinlerde bulunan fenolik bir bileşiktir. Çeşitli nöropatik ağrı çalışmalarında antihiperaljezik etkileri de olduğu bulunmuştur.

**Yöntem:** İlk olarak, CIS (200  $\mu$ M) *in vitro* nörotoksisitesinde CGA'nın (250-1000  $\mu$ M) etkileri 1 günlük yavru sıçanlardan elde edilen DRG hücre kültüründe MTT testiyle değerlendirilmiştir. *In vivo* deneylerde ise CIS 3 mg/kg dozunda 5 hafta boyunca haftada 1, Sprague Dawley sıçanlara (250-350 kg, n=8) ip uygulanarak PN gelişmesi sağlanmıştır. Tek doz CGA (50, 100, 200 mg/kg) ip uygulanmasıyla akut etkileri değerlendirilmiş olup, CGA (100 mg/kg) CIS ile beraber uygulanarak kronik etkileri de değerlendirilmiştir. L-arginin (LARG) ve L-nitro-arginin-metil-ester (LNAME) 10 mg/kg ip uygulanmıştır. Nöropati mekanik allodini, termal hiperaljezi, kuyruk sıkıştırma, soğuk plaka testleriyle değerlendirilmiştir. Motor koordinasyon testleri olarak rotarod ve ayak izi analizi, motor aktivite için de aktivitemetre uygulanmıştır. DRG, siyatik sinir, karaciğer ve böbreklerde histolojik değerlendirme toluidin mavisi, hemotoksilen eozin ve Masson trikrom boyamasıyla yapılmıştır. TNF- $\alpha$ , GSH, IL-19 ve NGF sıçanlardan alınan serum örneklerinde çalışılmıştır. Verilerin değerlendirmesinde iki yönlü varyans analizi ve Kruskal Wallis uygulanmıştır.

**Bulgular:** Yüksek konsantrasyonlardaki (1000  $\mu$ M) CGA'nın primer DRG hücre kültüründe sisplatin nörotoksisitesine karşı koruyucu potansiyeli olduğu görülmüştür. CIS mekanik allodini ve soğuk allodiniye neden olmuştur. Termal

hiperaljezi ve kuyruk sıkıştırma testinde anlamlı bir değişme saptanmamıştır Aynı zamanda CIS'in motor koordinasyonu bozduğu ve motor aktiviteyi azalttığı görülmüştür. CGA, CIS'in allodinik etkilerini anlamlı olarak düzeltmiştir. Bozulan motor aktivite ve motor koordinasyonu da iyileştirmiştir. LARG ve LNAME CGA'nın iyileştirici etkilerini mekanik allodinide değiştirmezken, soğuk allodini testinde, motor aktivite ve motor koordinasyon testlerindeki iyileştirici etkilerini azalttıkları görülmüştür. CIS'in neden olduğu periferik dokulardaki yapısal toksisiteyi de CGA'nın azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca CIS uygulaması sonucu artan TNF- $\alpha$  düzeylerini CGA'nın azalttığı bulunmuştur. TNF- $\alpha$  düzeylerinin diğer bütün gruplarda kontrole göre yüksek olduğu da görülmüştür.

**Sonuç:** CGA, CIS'in neden olduğu PN ve nörotoksisitede antihiperalezik ve sitoprotektif etkiler göstermiştir. Bu yararlı etkileri, incelenen periferik dokuların histolojisi ve önemli inflamatuvar belirteç olan TNF- $\alpha$  düzeylerini azalttığı gösterilerek desteklenmiştir. Sisplatine bağlı gelişen PN'nin mekanizma tabanlı tedavisinde kullanılabilecek aday bir ajan olabilir. NO'nun bu etkide modülatör rolü olabileceği düşünülmüştür.

### **Anahtar kelimeler**

Klorojenik asit, nitrik oksit, nörotoksisite, periferik nöropati, sisplatin

## SUMMARY

### **The role of chlorogenic acid in cisplatin induced peripheral neuropathy in vivo and neurotoxicity in vitro**

**Aim:** The aim of study was to investigate potential neuroprotective and antihyperalgesic effects of chlorogenic acid (CGA) against cisplatin (CIS) neurotoxicity in primary dorsal root ganglion (DRG) in vitro and CIS-induced peripheral neuropathy (PN) in vivo and the role of NO in these effects.

**Content:** CIS is an anticancer agent widely used in the treatment of many tumors. PN is the most important dose-limiting side effect of CIS. CGA is a phenolic compound with antioxidant, antiinflammatory, neuroprotective effects and abundant in foods. Anti-hyperalgesic effects of CGA were proposed in different neuropathic pain studies.

**Method:** The effects of CGA (250-1000  $\mu$ M) were evaluated by MTT test against CIS (200  $\mu$ M) neurotoxicity in primary DRG culture. CIS was administered to Sprague Dawley rats (250-350 kg, n = 8) at a dose of 3 mg/kg once a week for 5 weeks to develop PN. The acute effects were evaluated by single dose CGA (50, 100, 200 mg/kg) against CIS neuropathy. CGA (100 mg/kg) was concurrently administered with CIS to evaluate chronic effects. L-arginine (LARG) and L-nitro-arginine-methyl-ester (LNAME) 10 mg/kg i.p. were administered to evaluate the contribution of NO. Neuropathy was tested by mechanical allodynia, thermal hyperalgesia, tail clip and cold plate tests. Rotarod/footprint analysis and activitymeter were used to evaluate motor coordination and motor performance respectively. Histological evaluations of DRG, sciatic nerves, liver, kidney were performed by using toluidine blue, hemotoxylin eosin and Masson trichrome. TNF- $\alpha$ , GSH, IL-19 and NGF were studied in serum samples from rats. Two-way analysis of variance and Kruskal Wallis were used as statistical analysis.

**Results:** Higher concentrations of CGA (1000  $\mu$ M) were found to be protective against CIS-induced neurotoxicity. CIS caused mechanical allodynia and cold allodynia. There was no significant change in thermal hyperalgesia and tail clip tests. CIS also impaired motor coordination and reduced motor activity. CGA significantly improved allodynic effects of CIS. Impaired motor activity and motor coordination were ameliorated by CGA. Ameliorative effects of CGA were not

changed in mechanical allodynia, but reduced in cold allodynia, motor activity and motor coordination tests by LARG and LNAME. CGA also attenuated CIS toxicity in peripheral tissues. CGA decreased levels of TNF- $\alpha$  which was increased in CIS group. TNF- $\alpha$  levels were higher in other groups with respect to control.

**Conclusions:** CGA was shown to have protective and antihyperalgesic effects in CIS-induced neurotoxicity and PN. The histology of the peripheral tissues and reduced levels of TNF- $\alpha$  were supported the beneficial effects of CGA. CGA may be a candidate agent for mechanism-based treatment of CIS-induced PN. NO seems to have a modulatory role in this effect.

### **Keywords**

Chlorogenic acid, nitric oxide, neurotoxicity, peripheral neuropathy, cisplatin



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLO DİZİNİ.....	x
ŞEKİL DİZİNİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiv
1 GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Ağrı İletimi ve Mekanizmaları.....	5
2.1.1 Ağrı.....	5
2.1.2 Ağrı tipleri.....	10
2.2 Kemoterapiye Bağlı Gelişen Periferik Nöropati.....	15
2.2.1 Sisplatin .....	16
2.2.2 Kimyasal yapısı .....	17
2.2.3 Antikanser etki mekanizması .....	17
2.2.4 Genel toksik etkileri .....	20
2.2.5 Sisplatine Bağlı Gelişen Periferik Nöropati .....	21
2.3 Klorojenik asit.....	30
2.3.1 Kimyasal yapısı .....	30
2.3.2 Klorojenik asitin analjezik etkileri .....	32
2.3.3 Klorojenik asitin kognitif ve nöroprotektif etkileri .....	33
2.3.4 Klorojenik asitin metabolik etkileri.....	35
2.4 Nitrik Oksit Yolağı ve Periferik Nöropatideki Rolü.....	36
3 GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	40
3.1 Hayvanlar.....	40
3.2 İlaçlar .....	40
3.3 Sisplatinle İndüklenen Nöropatik Ağrı Deney Modeli.....	40
3.4 Deney Grupları .....	41
3.4.1 Akut deney grupları .....	41
3.4.2 Kronik deney grupları .....	41
3.5 Davranış Testleri.....	42
3.6 Deney Tasarımı.....	42

3.6.1 Klorojenik Asitin Sitoprotektif Etkisinin Değerlendirilmesi.....	43
3.6.2 Akut deneyler.....	45
3.6.3 Kronik deneyler.....	46
3.6.3.1 Mekanik allodini.....	47
3.6.3.2 Termal hiperaljezi.....	48
3.6.3.3 Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testi.....	49
3.6.3.4 Soğuk plaka (cold plate) testi.....	49
3.6.3.5 Motor performans testi - Aktivitemetre testi.....	49
3.6.3.6 Rotarod testi.....	50
3.6.3.7 Ayak izi analizi.....	51
3.7 İntrakardiyak Perfüzyon ve Periferik Dokuların Toplanması.....	52
3.8 Histopatolojik Değerlendirme.....	53
3.8.1 DRG ve siyatik sinirlerin değerlendirilmesi.....	53
3.8.2 Böbrek ve karaciğer dokularının değerlendirilmesi.....	54
3.9 Biyokimyasal Değerlendirmeler.....	55
3.9.1 Serumların ayrıştırılması ve çalışılması.....	55
3.10 İstatistiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR.....	56
4.1 Klorojenik Asitin Sitoprotektif Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	56
4.2 Akut Deneyler.....	57
4.2.1 Nöropatinin oluşması.....	57
4.2.2 Tek doz uygulanan CGA'nın 1. ve 3. saat ölçümleri.....	59
4.3 Kronik Deneyler.....	61
4.3.1 Hayvanların genel fiziksel görünümleri.....	61
4.3.2 Mekanik allodini değerlendirmesi.....	62
4.3.3 Termal hiperaljezi değerlendirmesi.....	63
4.3.4 Kuyruk Sıkıştırma (Tail Clip) testi değerlendirmesi.....	64
4.3.5 Soğuk allodini değerlendirmesi.....	64
4.3.6 Aktivitemetre değerlendirmesi.....	65
4.3.7 Rotarod değerlendirmesi.....	66
4.3.8 Ayak izi analizi değerlendirmesi.....	67
4.4 Histopatolojik Değerlendirme.....	68
4.4.1 DRG'lerde histopatolojik değerlendirme.....	68
4.4.2 Siyatik sinirlerde histopatolojik değerlendirme.....	70
4.4.3 Karaciğer kesitlerinde histopatolojik değerlendirme.....	71

4.4.4 Böbrek kesitlerinde histopatolojik değerlendirme .....	73
4.5 Biyokimyasal Değerlendirmeler .....	75
5 TARTIŞMA .....	78
6 SONUÇ VE ÖNERİLER .....	94
7 KAYNAKLAR DİZİNİ.....	96

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 2. 1</b> Periferik sinir liflerinin sınıflandırması.....	8
<b>Tablo 2. 2</b> Nöropatik ağrı sendromları .....	15
<b>Tablo 3. 1</b> Kronik deneylerde uygulanan testler ve uygulama günleri.....	42

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2. 1 Ağrı iletim yolu ve sinaptik aralıkta meydana gelen sinaptik iletimin şematize edilmesi .....	6
Şekil 2. 2 CIS'in kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2. 3 Platin ajanların hücre içine giriş yolları .....	18
Şekil 2. 4 PSS'nin kemoterapötik ajanlara ve oksidatif strese karşı duyarlı olmasının sebepleri .....	21
Şekil 2. 5 Platin-türevi ajanların neden olduğu PN'nin altında yatan mekanizmaların özeti .....	24
Şekil 2. 6 Kemoterapiye bağlı gelişen PN'de nitro-oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptoz arasındaki ilişki .....	26
Şekil 2. 7 Peroksinitrit (ONOO <sup>-</sup> ) oluşumu sonrası periferik nöronlarda meydana gelen değişiklikler .....	26
Şekil 2. 8 Klorojenik asitin kimyasal yapısı .....	30
Şekil 2. 9 Klorojenik asitin sağlık ve fizyolojik sistemler üzerinde varsayılan etkileri ve etki mekanizmaları. ....	32
Şekil 2. 10 Santral sinir sisteminde (SSS) koruyucu etkilerine aracılık eden mekanizmaların özeti .....	35
Şekil 2. 11 Klorojenik asitin metabolik sendromdaki etki mekanizması.....	36
Şekil 3. 1 Akut Deney Protokolü .....	46
Şekil 3. 2 Kronik deney protokolü.....	46
Şekil 3. 3 Dinamik plantar test düzeneği ve testin uygulandığı arka pençe plantar yüzeyi.....	47
Şekil 3. 4 Dinamik plantar test düzeneği .....	48
Şekil 3. 5 Termal hiperaljezi testi düzeneği .....	48
Şekil 3. 6 Hot/Cold plate cihazı .....	49
Şekil 3. 7 Aktivitemetre cihazı .....	50
Şekil 3. 8 Rotarod Testi .....	51
Şekil 3. 9 Ayak izi analizi yürüyüş koridoru ve ayak izlerinin görüntüsü.....	52
Şekil 3. 10 Ölçümün alındığı arka pençeler arası mesafenin şematik çizimi .....	52

<b>Şekil 3. 11</b> DRG'lerin izolasyonu öncesi intrakardiyak perfüzyon .....	53
<b>Şekil 3. 12</b> DRG soma alanlarının Image J analiz programı kullanılarak hesaplanması.....	54
<b>Şekil 4. 1</b> Hücre kültüründe CIS'in nörotoksik etkisinde CGA'nın farklı konsantrasyonlarda (250-1000 µM) etkisinin yüzde hücre canlılığı üzerinden değerlendirmesi.....	56
<b>Şekil 4. 2</b> Sıçanlarda nöropatik ağrı gelişiminin tespiti. ....	58
<b>Şekil 4. 3</b> Sıçanlarda akut klorojenik asit uygulaması öncesi motor performans değerlendirmesi.....	59
<b>Şekil 4. 4</b> Sıçanlarda tek doz CGA uygulaması sonrası ağrı testleri değerlendirmesi.....	60
<b>Şekil 4. 5</b> Sıçanlarda tek doz CGA uygulaması sonrası motor performansın değerlendirilmesi .....	61
<b>Şekil 4. 6</b> Deney hayvanlarının 0.gün vücut ölçümleri ile beşinci hafta sonrası kaydedilen vücut ağırlıkları arasındaki değişim.....	62
<b>Şekil 4. 7</b> Mekanik allodini testi sonuçları .....	63
<b>Şekil 4. 8</b> Termal hiperaljezi testi sonuçları.....	63
<b>Şekil 4. 9</b> Kuyruk sıkıştırma testi sonuçları.....	64
<b>Şekil 4. 10</b> Soğuk plaka testi sonuçları, bazal ile 35.gün karşılaştırması .....	65
<b>Şekil 4. 11</b> Aktivitemetre testi sonuçları .....	66
<b>Şekil 4. 12</b> Aktivitemetre testinde stereotipik hareket yüzdesi .....	66
<b>Şekil 4. 13</b> Rotarod testi sonuçları .....	67
<b>Şekil 4. 14</b> Ayak izi analizi. ....	68
<b>Şekil 4. 15</b> DRG'lerin histopatolojik değerlendirmesi .....	69
<b>Şekil 4. 16</b> DRG nöron soma alanı - % DRG frekans histogramı.....	70
<b>Şekil 4. 17</b> Siyatik sinirlerin histopatolojik değerlendirmesi .....	71
<b>Şekil 4. 18</b> Hemotoksilen-eozin ile boyanan karaciğer kesitlerin histopatolojik değerlendirmesi.....	72
<b>Şekil 4. 19</b> Mason trikrom ile boyanan karaciğer kesitlerin histopatolojik değerlendirmesi.....	73

<b>Şekil 4. 20</b> Hemotoksilen-eozin ile boyanan böbrek kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesi.....	74
<b>Şekil 4. 21</b> Böbrek kesitlerinde patolojik skorlama .....	75
<b>Şekil 4. 22</b> Serumda TNF-alfa düzey tayini .....	76
<b>Şekil 4. 23</b> IL-19 düzey tayini .....	76
<b>Şekil 4. 24</b> GSH düzey tayini .....	77
<b>Şekil 4. 25</b> NGF düzey tayini .....	77

## **SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ**

**ACC:** Asetil-KoA karboksilaz

**ALT:** Alanin aminotransferaz

**AMPK:** AMP ile aktive protein kinaz

**ATP:** adenozin trifosfat

**AST:** Aspartat aminotransferaz

**Ca:** Kalsiyum

**CGA:** Klorojenik asit

**CIS:** Sisplatin

**COX:** Siklooksijenaz

**CPT:** Karnitin palmitoil transferaz

**CTR:** Bakır taşıyıcı

**DRG:** Dorsal kök gangliyon

**DMEM:** Dulbecco's Modified Eagle's Medium

**DMSO:** Dimetil sülfoksit

**EDTA:** Etilendiamin tetra asetik asit

**eNOS:** Endotelyal nitrik oksit sentaz

**ETC:** elektronik taşıyıcı kanal

**FAS:** Yağ asit sentaz

**FFA:** Serbest yağ asidi

**G-6-P:** Glukoz-6-fosfataz

**GIP:** glukoz bağımlı insülinotropik peptid

**GSH:** Glutatyon

**HBSS:** Hank's dengeli tuz çözeltisi

**HMGCR:** 3-hidroksi-3-metilglutaril KoA redüktaz



## **SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)**

**IASP:** Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği

**iNOS:** İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

**IL-19:** Interlökin 19

**Kv:** voltaj duyarlı potasyum kanalı

**LARG:** L-Arginin

**LNAME:** L-nitro-arginin-metil ester

**LXR $\alpha$ :** Karaciğer X reseptör  $\alpha$

**MAPK:** Mitojen aktive protein kinaz

**mPTP:** mitokondriyal permeabiliye geçiş gözeneği

**mtDNA:** mitokondriyal DNA

**MTT:** 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür

**NGF:** Sinir büyüme faktörü

**nNOS:** Nöronal nitrik oksit sentaz

**Nav:** Voltaj duyarlı sodyum kanalı

**NO:** Nitrik oksit

**NOS:** Nitrik oksit sentaz

**OCT:** Organik katyon taşıyıcı

**PAG:** Periakuaduktal gri madde

**PBS:** Fosfat tamponlu salin

**PGE:** Prostaglandin

**PN:** Periferik nöropati

**PPAR $\alpha$ :** Peroksizom proliferatör-aktive reseptör  $\alpha$

**PPAR $\gamma$ :** Peroksizom proliferatör aktive reseptör  $\gamma$

**PSS:** Periferik sinir sistemi

## **SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam ediyor)**

**RNS:** Reaktif nitrojen bileşikleri

**ROS:** Reaktif oksijen bileşikleri

**RVM:** Rostraventral medulla

**SEM:** Standart hata

**SF:** Serum fizyolojik

**SNARE:** Solubl N-etilmaleimid duyarlı faktör bağlayıcı protein reseptörü

**SSS:** Santral sinir sistemi

**TNF- $\alpha$ :** Tümör nekroz faktör -  $\alpha$

**TRP:** Transient reseptör potansiyel

**TRPA:** TRP ankyrin

**TRPM:** TRP melastatin

**TRPV:** TRP vanilloid

# 1 GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser, dünya çapında ölüm nedenleri arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır. Yeni kemoterapi tedavi stratejileri oluşturulmasına rağmen hastalık hala önemini korumaktadır (Bray et al., 2018). 2012 yılında küresel kanser vakalarının sayısı 14,1 milyon ve buna bağlı ölüm sayısı 8,2 milyon (Torre et al., 2015) iken Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) verilerine göre 2018 yılında 18,1 yeni kanser vakası ve ardından 9.6 milyon ölüm bildirilmiştir (Bray et al., 2018). Kanser vakaları ve ölümlerin yaklaşık yarısı Asya kıtasında meydana gelmiştir. Arkasından %23,4 kanser vakası ve %20,3 ölümle Avrupa ve %21 kanser vakası ve %14,4 ölümle Kuzey Amerika gelmektedir (Bray et al., 2018; Ferlay et al., 2019).

Kemoterapi kontrolsüz çoğalma özelliği gösteren kanser hücrelerini durdurmak için kullanılan kanser tedavisidir. Agresif tedaviler sayesinde kanser sağ kalımlarının artmasına rağmen, yeni antikanser ilaçlar günlük yaşamda karşılaşılan ve yıllarca sürebilen ciddi yan etkileri de beraberinde getirmektedir. Periferik sinir sistemi (PSS) nörotoksitesisi kanser kemoterapisinin hala etkili bir tedavisi olmayan önemli bir yan etkisidir (Brown, Sedhom, & Gupta, 2019). Kemoterapiye bağlı gelişen periferik nöropati çeşitli tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan paklitaksel, vinkristin ve platinler gibi antikanser ajanların en fazla doz-kısıtlayıcı yan etkisidir. Periferik nöropati genellikle ağrılı semptomlarla karakterize olan nöropatik ağrı sendromu olarak kendini gösterir. Ancak çoğu ciddi vakada duyu kayıplarına kadar ilerleyebilir. Buna ek olarak motor ve/veya otonomik periferik nöropatiler de meydana gelebilir (Brown et al., 2019). Kemoterapiye bağlı gelişen periferik nöropati hastanın yaşam kalitesini bozar ve böylece doz kısıtlamalarına hatta tedavinin sonlandırılmasına bile neden olabilir (Miltenburg & Boogerd, 2014). Dolayısıyla hastalar antikanser ajanların etkilerinden optimum düzeyde yararlanamayabilirler.

Sisplatin (cis-diaminodichloroplatinum, CIS) antineoplastik ajan olarak kullanılan ilk platin bileşiğidir. 1970'lerden itibaren birçok solid tümörün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak CIS sinir sistemine ciddi oranda toksik bir ajandır. Dorsal kök gangliyonlarında (DRG'lerde) biriktiği ve

bunun sonucunda doz-bağımlı PN'ye sebep olduğu bilinmektedir. CIS tedavisinde meydana gelen PN, hastaların hayat kalitelerini oldukça etkileyen ciddi distal parestezilere ve uyuşmalara neden olur. PN tedavi sırasında görülebildiği gibi, tedavi kesildikten haftalar sonra ortaya çıkan ve aylar süren bir nöropati olarak da karşımıza çıkabilir. Bu olay “coasting fenomeni” olarak adlandırılır.

CIS'in da dahil olduğu platin-türevi kemoterapötik ajanlar DNA'ya çapraz bağlanarak nükleer ve mitokondriyal DNA'nın denatürasyonuna neden olurlar. DNA'da meydana gelen bu bağlanma sonucunda mitokondri ve buna bağlı ATPaz aktivitesinde hasar oluşur ve kanser hücrelerinde apoptoz ve nekroz sonucu ölüm meydana gelir. DNA'ya çapraz bağlanmaya ek olarak CIS hücre içinde reaktif oksijen bileşiklerinin (ROS) ve reaktif nitrojen bileşiklerinin (RNS) üretiminde artışa yol açar (Kelley et al., 2014; Marullo et al., 2013). ROS üretiminin artmasının altında yatan sebep ise mitokondriyal DNA'ya da eklentiler oluşturması, mitokondriyal fonksiyonu ve respiratuvar zincir fonksiyonun bozulmasına da neden olmasıdır. Ardından immün sistem aktivasyonu meydana gelir bunu takiben proinflamatuvar sitokinler salıverilir. Kalsiyum sinyalizasyon yollarının ve hücre içi protein kinaz ailelerinin etkilenmesiyle tümör hücrelerinde apoptoz indüklenmiş olur.

CIS'in neden olduğu periferik nöropatinin mekanizması hala net olarak anlaşılamamıştır ancak antitümoral mekanizmaların nörotoksik etkilerinden de sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Platin türevi ajanların nöronal ve glial hücreleri de yapısal ve fonksiyonel olarak etkiledikleri bilinmektedir (McKeage, Hsu, Screnci, Haddad, & Baguley, 2001). Ayrıca artan ROS ve RNS ile meydana gelen nitrooksidatif stresin nosiseptif duyu nöronlarının duyarlılığını artırdığı da gösterilmiştir (Ferrari, Chum, Bogen, Reichling, & Levine, 2011; Ridger et al., 1997).

Periferik nöropati (PN), sinir sisteminde bir hasar, hastalık ya da disfonksiyon sonucu görülen ağrı olarak tanımlanabilir. Hiperaleji (ağrılı uyarana karşı aşırı hassasiyet), allodini (zararsız bir uyarının ağrılı olarak algılanması) ve spontan ağrı ile karakterize klinik bir durumdur. Kemoterapi tedavisi alan kanser hastalarında %80-%90'lara varan klinik insidans gösterir ve

hastaların hayat kalitesini oldukça etkiler. Buna rağmen kemoterapiye bağılı görülen bu nöropatik ağrının patofizyolojik mekanizmaları konusunda bilgiler oldukça kısıtlıdır (Miltenburg & Boogerd, 2014). Ana etkenler olarak mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif hasar üzerinde durulmaktadır. Mitokondriyal fonksiyonu artıran ve antioksidan etki gösteren ajanların CIS'in sebep olduğu nörotoksisiteyi engellediği ya da koruyucu etki gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Ghirardi et al., 2005; Melli et al., 2008). Ancak klinikte mevcut analjezik ve adjuvan terapiler yetersiz kalmaktadır.

PSS'de hematoensefalik bir bariyerin olmaması ve bu sistemin bir komponenti olan dorsal kök gangliyon kapillerlerinin oldukça geçirgen olması sonucu duyu nöronları kemoterapi ajanlarının nörotoksik etkisine yüksek oranda maruz kalmaktadır. Post-mortem çalışmalarda platin bileşiklerinin dorsal kök gangliyonlarında tutulduğu gösterilmiştir (Gregg et al., 1992; McKeage et al., 2001). CIS nörotoksisitesinin çalışıldığı deneysel modellerde de ana hasar dorsal kök gangliyonlarında bulunan nöron gövdelerinde meydana gelmektedir. CIS'a bağılı meydana gelen nörotoksisitenin mekanizmasının aydınlatılması ve potansiyel koruyucu ajanların bulunması amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Oluşan yan etkiyi önlemek amacıyla CIS'in dozunun azaltılmasına yönelik öncelikle kombinasyon tedavileri kullanılmıştır. Ancak oluşan nörotoksik etkiler engellenememiştir. Bunun yanında birçok kemoprotektif ajan ve çeşitli nörotrofik faktörler tedavi sırasında kullanılmıştır. Birçok antioksidan ajanın CIS'a bağılı hücre hasar mekanizmalarında rol oynayan serbest oksijen radikal oluşumunu engelleyerek sitoprotektif etki gösterdikleri bulunmuştur (Pace et al., 2003; Pisano et al., 2003; Planting et al., 1999). Ancak klinikte hala mevcut tedaviler yetersiz kalmakta ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir.

Klorojenik asit (5-caffeoylquinic acid, CGA) bitkilerde, meyvelerde ve sebzelerde bulunan polifenolik bir bileşiktir (Clifford, 1999; Priftis et al., 2018). Özellikle yeşil kahve ve kahve çekirdeklerinde yüksek konsantrasyonda bulunduğu bilinmektedir (Farah, Monteiro, Donangelo, & Lafay, 2008). CGA'nın antioksidan (Santana-Galvez, Cisneros-Zevallos, & Jacobo-Velazquez, 2017), antiinflamatuvar (Liu et al., 2017), antijenotoksik (Abraham, Schupp, Schmid, &

Stopper, 2007), antikanser (R. Xu, Kang, Ren, Li, & Xu, 2013) ve hatta nöroprotektif (Heitman & Ingram, 2017) aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gsterilmiştir. PC12 hücre kültüründe alkole bağlı hücre hasarına karşı ve Alzheimer hastalığında önemli role sahip beta-amyloid nrotoksisitesine karşı da belirgin bir şekilde koruyucu olduğu bulunmuştur (Fang et al., 2016),(M. Wei et al., 2016). CGA içeren bitkilerle yapılan çalışmalarda CGA'nın antinosiseptif etkiden de sorumlu olduğu gsterilmiştir (Gorzalczany, Marrassini, Mino, Acevedo, & Ferraro, 2011; Yonathan, Asres, Assefa, & Bucar, 2006). Ancak nöroprotektif etki ve antinosiseptif etki hakkında yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. CGA ile ilgili çalışmaların yetersiz kalmasının yanı sıra CIS gibi oldukça sık kullanılan ve önemli terapötik değeri olan bir ajanın neden olduğu nörotoksisiteye karşı etkisi bilinmemektedir.

Çalışmamızda CGA'nın primer sıçan DRG hücre kültüründe CIS'in sebep olduğu nörotoksisitede ve yetişkin sıçanlarda CIS ile oluşturulan PN'de potansiyel nöroprotektif ve antihiperaljezik etkilerinin hem akut hem de kronik uygulanmasıyla detaylı ve sistematik şekilde araştırılması amaçlanmıştır. CIS ve CGA'nın etkilerinde NO sinyal yolağının olası katkıları nitrik oksit donörü L-Arginin (LARG) ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü l-nitro-arginin-metil ester (LAME) kullanılarak araştırılmış olup, nöropatik ağrıda modülatör etkileri olan nörotrofinler ve inflamasyon belirteçleri değerlendirilmiştir. Sonuçlarımızın CIS'a bağlı gelişen PN'nin tedavisinde alternatif yardımcı ilaçlar hakkındaki araştırmalara katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

## 2 GENEL BİLGİLER

### 2.1 Ağrı İletimi ve Mekanizmaları

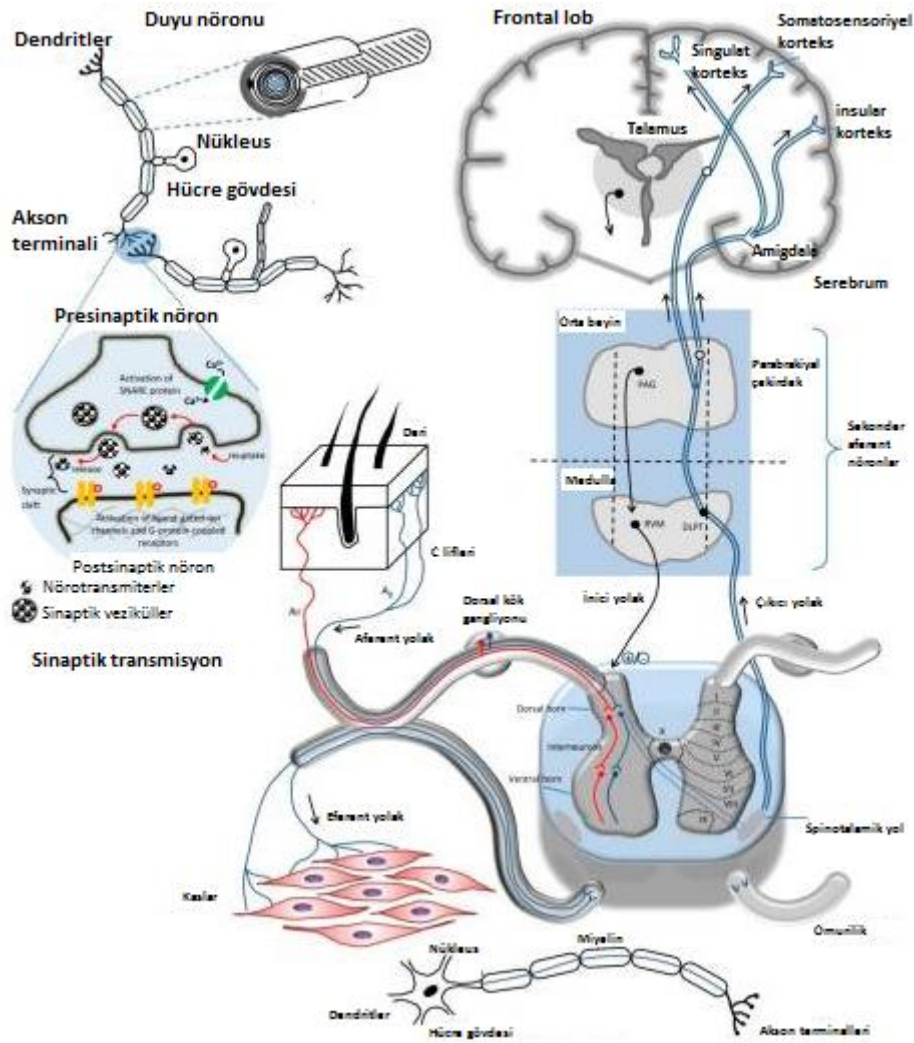
#### 2.1.1 Ağrı

Ağrı yıllar boyunca bilim insanları tarafından farklı tanımlamaları yapılan multifaktöriyel kompleks bir olgudur. Uluslararası Ağrı Araştırmaları Derneği (International Association for the Study of Pain, IASP) tarafından yapılmış olan tanım en fazla kabul gören ağrı tanımı olmuştur. IASP'ye göre ağrı, “gerçek veya potansiyel doku hasarıyla ilişkili, duyuşsal ve emosyonel hoş olmayan oldukça sübjektif bir deneyimdir” (Byers MR, 2001). Dolayısıyla ağrının bir duyu değil bir algı olduğu sonucuna varılabilir. Ağrı, bizi tehlikeli ortamdan korunmamıza yardımcı olan önemli bir erken uyarı işaretidir ve nahoş bir his olsa da göz ardı edilmemelidir. “Akut ağrı” genellikle geçicidir ve noksiyoz (zararlı) uyarı ortadan kalktığında veya ana hasar/patoloji iyileştiğinde sona erer. Genellikle analjezik ilaçlara ve ağrının nedenine yönelik yapılan tedavilere yanıt verir. Ancak “kronik ağrı” semptomları iyileşmesi için gereken zamanı aşarak devam eder. Klinikte bir dizi kronik ağrı durumu vardır ve bunlar genellikle hasar bölgesi ya da tipine göre sınıflandırılır. Yaralanma sonrası periferde, omurilikte ve beyinde değişiklikler meydana gelebilir ve bu, algılanan ağrının derecesini artırabilir dolayısıyla kronik ağrı gelişiminde rol oynayabilir (Petersen-Felix & Curatolo, 2002).

Esas olarak, noksiyoz bir uyarı durumunda temel ağrı mekanizması dört olaya dayanır: transdüksiyon, transmisyon, modülasyon ve persepsiyon. Örneğin, transdüksiyon, nosiseptif yol boyunca şu sıralamayı izleyerek meydana gelir: (1) uyarı, dokuda kimyasal değişikliklere sebep olur; (2) dokuda ve sinaptik aralıkta meydana gelen kimyasal değişiklikler nöronlarda elektriksel aktiviteye dönüşür ve (3) nöronlardaki elektriksel aktivite ise sinapslarda kimyasal olaylara dönüştürülür. Transdüksiyon tamamlandıktan sonra, transmisyon meydana gelir. Sinaptik aralıktaki nörotransmitterlerin bir hücrenin post-sinaptik terminalinden diğerinin pre-sinaptik terminaline bilginin aktarılması sonucu elektriksel aktivitenin nöronal yollar boyunca iletilmesiyle gerçekleşir. Bu arada, modülasyon olayı, birincil afferent nöron, dorsal kök ve daha yüksek beyin merkezleri gibi nosiseptif yolların bütün düzeylerinde meydana gelir. Nosiseptif bilginin yüksek

beyin korteksinde işlenip, ağrı hakkında bilgiye ve ağrıya karşı tepkiye yol açması da persepsiyon olarak tanımlanır. Bütün bu olaylar ağrının başlaması ve algılamanın tamamlanmasıyla sonuçlanır. Böylece uyarı tarafından tetiklenen ağrı hissi algılanmış olur (F. Xu, Wen, Lu, & Seffen, 2008; Yam et al., 2018).

Somatosensoryel sistem deriden, iç organlardan ve kas-iskelet sisteminden alınan duyu bilgini farkındalığa dönüştürülmesini sağlayan nosisepsiyon, mekanosepsiyon, propriosepsiyon, termosepsiyon ve viserosepsiyon algı sistemlerinden oluşur (Cruccu et al., 2008).



**Şekil 2. 1** Ağrı iletim yolu ve sinaptik aralıkta meydana gelen sinaptik iletimin şematize edilmesi (Yam et al., 2018).



## *Nöronlar*

Nöronların SSS ve PSS'de yukarıda bahsedilen temel ağrı mekanizmasında meydana gelen tüm nosiseptif bilgileri birbirine bağlayan, alan ve işleyen ana komponenti oluşturdukları bilinmektedir. Vücudumuzda üç tip nöron bulunur: duyu nöronları (afferent nöronlar), ara nöronlar (afferent ve efferent nöronlar arasındaki sinyalleri iletirler) ve motor nöronlardır (efferent nöronlar). Tüm nöronlar elektriksel olarak uyarılabilir ve aynı bölümlerden oluşur: soma, akson (miyelinli veya miyelinsiz) ve dendritler. Nöronlar vücudumuzda kimyasal ve elektriksel sinyallerin iletildiği sinaps adı verilen özel bağlantılar aracılığıyla birbirlerine bağlanarak vücutta kompleks sinir ağları oluştururlar. Bir nörondan gönderilen sinaptik sinyaller, başka bir nöronun dendritleri ve somaları tarafından alınır (sinaptik transmisyon). Bu sinyaller inhibitör veya eksitator karakterde olabilir. Sinyaller dendritler veya soma yoluyla alındıktan sonra, nöronda aksonlar tarafından iletilir. Bu iletim nöronda aksiyon potansiyeli oluşturur ve bilginin başka nöronlara iletilerek sinyalin kaynağından cevabın oluşturulacağı omuriliğe ve beyne kadar ilerlemesi sağlanmış olur.

Özelleşmiş nöronların iki ana sınıflandırması vardır: duyu nöronları ve motor nöronlar. Duyu nöronları dermis ve epidermiste bulunur ve dokunma uyarı oluşturur. Motor nöronlar ise beyinden ve omurilikten gelen sinyalleri alır. Kas kasılmalarına ya da glandular salgılara neden olan cevabın ortaya çıkmasından sorumludur. Sonuç olarak sinir sisteminde bulunan, sinyalleri ileten nöronların varlığı vücudumuzun çevreden kaynaklı tehlikeli uyaranlara tepki vermesi bakımından son derece önemlidir (Yam et al., 2018).

## *Aksonlar*

Aksonlar bir nöronun temel komponentlerinden biridir ve sinir lifleri olarak bilinir. Aksiyon potansiyellerinin dendritlerden aksonal sinir uçlarına, dolayısıyla bir nörondan diğer bir nörona iletilmesinde görev alırlar. Aksonlar miyelinli ya da miyelinsiz olabilirler. Ranvier boğumu olarak bilinen miyelin kılıf sinyallerin iletim hızını artırır ve aynı zamanda izolasyon maddesi gibi davranarak transmisyon boyunca elektriksel sinyallerin aksondan ayrılmamasını sağlar. Miyelinsiz sinir liflerinde sinyaller daha yavaş ilerler. Primer aferent nöronlarda,

A $\delta$  lifleri miyelinli, C lifleri ise miyelinsizdir. Eferent nöronlarda çoğu pregangliyonik nöronlar miyelinlidir. Ranvier boğumlarında K<sup>+</sup> ve Na<sup>+</sup> kanalları bulunur, aksiyon potansiyelinin nöron boyunca iletilmesinde aksama olmamasını sağlar. Aferent (duyu) ve eferent (motor) sinir lifleri sinyal iletim hızı, akson çapı ve akson fonksiyonlarına göre gruplara ayrılır (Hall, 2016).

**Tablo 2. 1** Periferik sinir liflerinin sınıflandırması (De Hert, De Baerdemaeker, & De Maeseneer, 2014)

Sinir lifi tipi	Sınıf	Çapı ( $\mu\text{m}$ )	İletim hızı (m/s)	Fonksiyon
A $\alpha$	Ia, Ib	12-20	80-120	Motor, propriyosepsiyon
A $\beta$	II	5-12	30-70	Propriyosepsiyon, dokunma
A $\delta$	III	2-5	15-30	Ağrı, soğuk, dokunma
C (miyelinsiz)	IV	0.4-1.2	0.5-2	Ağrı, dokunma, sıcak/soğuk

### *Sinaptik iletim*

Sinaptik iletim, nöronlar arasındaki sinyallerin iletiminde yer alan kimyasal olaylardır. Presinaptik ve postsinaptik membranlar arasında kimyasal sinapsın meydana geldiği boşluğa sinaptik aralık adı verilir. Sinaptik transmisyon, presinaptik akson terminalindeki aksiyon potansiyelinin iletilmesi ile başlar. Presinaptik terminaldeki aksiyon potansiyeli ise membran depolarizasyonuna yol açar. Bunun sonucunda Na<sub>v</sub> kanalları açılır. Na<sup>+</sup>'nın girişi voltaj-duyarlı sodyum kanallarının daha da aktive olmasına neden olur ve bu da Ca<sup>+2</sup>'nin akson terminaline girmesine neden olur. Kalsiyum iyonları, daha sonra SNARE (solubl N-etilmaleimid duyarlı faktör bağlayıcı protein reseptörü) ile bağlantılı kalsiyum algılayıcı proteine bağlanır. SNARE proteinlerinin rolü, sinaptik veziküllerin presinaptik akson terminallerine ulaşmasını sağlamaktır. Böylece veziküller içindeki nörotransmitterlerin ekzositoz aracılığıyla sinaptik

aralığa boşaltılmasına neden olur (J. Han, Pluhackova, & Bockmann, 2017). Sinaptik aralığa yayılan nörotransmitterler postsinaptik nöron membranı üzerinde yer alan ligand kapılı iyon kanallarına bağlanır ve ikinci nöronun aksonunda lokalize bir aksiyon potansiyeline neden olur (Yam et al., 2018).

### *Ağrı iletimi*

Temel olarak, ağrı iletimi, somatosensöriyel sistemin nöron devreleri üzerinde etkili olan eksitatör ve inhibitör etkilerin dengesine bağlıdır. Ağrının iletilmesinde rol oynayan birçok SSS düzeyi vardır: omurilik (supraspinal), beyin sapı (orta beyin, medulla oblongata ve pons) ve kortikal bölgeler (beyin korteksi). Birincil afferent nöronlar ve lokal ara nöron ağların oluşturduğu omuriliğin dorsal kökü omuriliğe gelen çeşitli sinyallerin entegrasyonunda önemli role sahiptir ve aynı zamanda supraspinal merkezlerden inisiyatif sinyallerin oluşturulmasından da sorumludur. Çıkıcı sistemde primer aferent nosiseptörlerin görevi noksiyöz uyaran bilgisinin omuriliğin dorsal kökünde bulunan projeksiyon nöronları tarafından alınmasıdır. Projeksiyon nöronları duyu bilgisiyi spinotalamik yoldan talamusa iletir böylece noksiyöz uyaran hakkında bilginin oluşmasına neden olur (Kandel, 2013). Spinotalamik yol iki kısımdan oluşur: lateral ve anterior. Lateral spinotalamik yol, ağrı ve sıcaklık duyusunun iletiminden sorumludur. Anterior spinotalamik yol ise dokunma ve hafif basınç duyu bilgisini talamusa taşır. Diğer projeksiyon nöronları ise, singulat ve insular korteks bölgelerine parabrakiyal nükleus ve amigdaladaki bağlantılar yoluyla ulaşarak ağrı deneyimlerine katkıda bulunur. Orta beyinde bulunan periakvaduktal gri madde (PAG) ve rostraventral medulla (RVM) inisiyatif feedback sistemde yer alır ve omurilikten gelen bilginin düzenlenmesinden sorumludur (Basbaum, Bautista, Scherrer, & Julius, 2009). PAG'ın temel işlevi, hipotalamus, amigdala ve frontal lobun yer aldığı yüksek beyin merkezlerinden alınan bilgilerin ve aynı zamanda dorsal kökten aldığı nosiseptif girdilerin entegrasyonunu sağlamaktır. Dolayısıyla PAG madde, omuriliğin dorsal kökünde nosiseptif bilginin düzenlenmesinden sorumlu önemli bir merkezdir. Endojen opioid ve kanabinoid sistem ve 5-hidroksitriptamin (5-HT) ve noradrenalin (NA) gibi diğer nörotransmitterler PAG/RVM yolağında yoğun bir şekilde ekspres edilir (Yam et al., 2018).

## **2.1.2 Ağrı tipleri**

### **2.1.2.1 Nosisepsiyon**

Nosiseptif ağrı, gerçek doku hasarına veya potansiyel olarak dokuya zarar veren uyarılara ikincil olan nöral yollardaki aktiviteden kaynaklanır (Nicholson, 2006). Nosisepsiyon, noksiyoz bir uyarana karşı refleks geri çekilmeye neden olarak oluşabilecek hasara karşı korunma sağlar (Latremoliere & Woolf, 2009). Ağrı nosisepsiyon başlığı altında bir algılama olayıdır (Yegül, 1993). Latince Noci zarar veya hasarlanma anlamına gelir. Travmatik veya noksiyoz uyarana karşı verilen nöral bir cevaptır. Tüm nosiseptör uyarılar ağrı oluştururken, her ağrı nosisepsiyon kaynaklı olmayabilir (Dubin & Patapoutian, 2010).

Periferik nosiseptörler vücuttaki dokular ve organlarda sonlanan, zararlı uyarılara cevap oluşturmak amacıyla yerleşmiş serbest sinir uçlarıdır. Diğer reseptörlerin aksine periferik nosiseptörler sıcaklık, mekanik ve kimyasal uyarı gibi çok çeşitli uyarılara cevap vermek üzere özelleşmişlerdir (Beck, Handwerker, & Zimmermann, 1974; Bessou & Perl, 1969; Van Hees & Gybels, 1981).

Vücudun birçok noktasında ağrı duyusunu algılayan nosiseptörler de bulunur. Kutanöz sinirlerdeki afferent liflerin yaklaşık %90'ı nosiseptiftir. Bu lifler A $\beta$ , A $\delta$  ve C lifleri olarak adlandırılır. C lifleri en büyük grubu oluşturur; yaklaşık % 90'ı kutanöz sinirlerde bulunur. A $\beta$  lifleri, ayırt edici dokunma, titreşim ve propriyosepsiyon için özelleşmiş mekanoreseptörleri oluşturur. A $\delta$  ve C lifleri, mekanik, kimyasal veya termal (genellikle  $\geq 45^\circ$ ) noksiyoz uyarılara yanıt verir. Serbest sinir sonlanmalarından gelen afferent sinir lifleri miyelinli veya miyelinsiz olabilmektedir. Duyusal nöronların akson çapları, ağrının iletim hızı ve ayrıca nöronların miyelinli olup olmadıkları ile doğrudan ilişkilidir. Periferik sinirler aynı zamanda sempatik sinir sistemine bilgi taşıyan eferent liflerden de oluşmaktadır. Nosiseptörlerden gelen sinyaller motor ve sempatik reflekslere dönüştürülmek üzere omuriliğe iletilir. Bu sinyaller ayrıca, ağrı ile ilgili sinyallerin, ağrının tanımlanmasından ve lokalizasyonundan sorumlu beyin korteksine iletilerek beyinde de işlenir. Nosiseptör nöronların hücre gövdeleri

dorsal kök gangliyonlarda bulunur. Periferik ve santral dallara ayrılır. Periferik bir sinirin dağılımını her bir nosiseptif DRG hücrelerinin periferik dalı takip eder. Nosiseptörlerin terminal uçları hedef organı inerve eder. Santral dal omuriliğe bağlanır ve duyuusal bilgiyi SSS'ye iletir (Bingham, Ajit, Blake, & Samad, 2009).

### **2.1.2.2 Nöropatik ağrı**

Nöropatik ağrı, IASP tarafından “sinir sistemindeki primer bir lezyon ya da disfonksiyon sonucu ortaya çıkan ağrı” olarak tanımlanmıştır (Finnerup et al., 2016). Ancak bu tanım 2008 yılında bir çalışma grubu tarafından yeniden düzenlenmiş ve nöropatik ağrının yeni tanımı “somatosensoriyel sistemi etkileyen bir lezyon ya da hastalığın direkt sonucu olarak ortaya çıkan ağrı” şeklinde değiştirilmiştir (Treede et al., 2008). Bu tanım 2011 yılında IASP tarafından onaylanmıştır (Jensen et al., 2011).

Nöropatik ağrıyı sağlıklı primer aferentlerin tepkisiyle oluşan ve gelen tehlikeyi bildirerek organizmayı koruyan nosiseptif ağrıdan ayıran en belirgin özelliği sürekli bir nosiseptif uyaran olmamasıdır (Nicholson, 2000). Sorun normal bir fonksiyonun bozulmasından kaynaklanır: diyabet, immün yetersizlikler, kemoterapi, inflammatuvar süreçler, malign, travmatik ya da iskemik durumlar gibi periferik ve santral nedenlerden kaynaklanabilir (Yucel & Cimen, 2005). Nöropatik ağrı uyarandan bağımsız ortaya çıkabildiği gibi duyarlılığın artması sonucu ya da duyu nöronlarından değişiklikler sonucu meydana gelebilir (Campbell & Meyer, 2006).

Nöropatik ağrı, insanlarda spontan ağrı, allodini (ağrılı olmayan uyarana karşı verilen cevap) ve kausalji (spontan ağrının yakıcı nitelik kazanması) ile karakterizedir. Spontan ağrı, sıklıkla disestezi ve parestezi ile ilişkili “iğne batması şeklinde”, yanıcı, keskin ve paroksizmal ağrı (elektrik çarpması gibi) ile karakterizedir (Attal & Bouhassira, 2004). Bu ağrı algısı sadece hastanın duyu sistemini değil aynı zamanda sağlığını, ruh halini, odaklanmasını ve düşünme yeteneğini de etkiler.

Nöropatik ağrı fizyopatolojik mekanizmaları periferik ve santral olarak ikiye ayrılabilir. Periferik mekanizmalar arasında ektopik deşarj, primer aferent nosiseptörlerde sensitizasyon, sinir lifleri arası anormal iletişim, artmış

katekolamin duyarlılığı yer alır. Mekanizmaalar primer aferent nöronlardaki farklılıklara bağlı olarak görülür. Santral mekanizmalar ise sensoriyel yolların iritasyonunu, sempatik sinir sistemi iritasyonunu, hipotalamik değişiklikleri, inhibitör inisi mekanizmaların kaybını, alternatif çıkıcı yolların aktivasyonunu kapsar (Woolf & Mannion, 1999; Zimmermann, 2001).

### **2.1.2.3 Nöropatik ağrı semptomları ve klinik özellikleri**

Dolayısıyla nöropatik ağrı hem negatif (duyu kaybı, uyuşma) hem de pozitif semptomlarla (pareteziler, spontan ağrı, ağrıya karşı aşırı duyarlılık) ifade edilebilir (Zilliox, 2017).

Başlıca nöropatik ağrı semptomları ve ilgili tanımlar: (Yucel & Cimen, 2005)

*Allodini:* Allodini, hafif bir dokunma gibi normalde ağrıyı tetiklemeyen bir uyarının ağrı yanıtına neden olmasıdır (Colloca et al., 2017). Mekanik algı ve nosisepsiyonda rol oynayan hücreler aynı zamanda allodiniden de sorumludur.

*Hiperalezi:* Hiperalezi, termal veya mekanik uyarının neden olduğu ağrıya (primer hiperalezi) karşı duyarlılık ya da ağrı eşiğinin düşmesi olarak adlandırılabilir. Bu durum hasar bölgesinde daha fazla ağrının algılanmasına yol açar (R. Lu et al., 2015). Sitokinler ve kemokinler, travma yerinde ve etrafında hasarlanan bölgeden daha geniş bir alanda bulunan kimyasal reseptörlere dağılır. Prostaglandinler, nosiseptörlerin duyarlılaşmasını sağlar.

Hem hiperalezi hem de allodini, omuriliğin dorsal kökündeki COX sinyali yolağının aktivasyonu sonucu dokudan prostaglandin E2'nin (PGE2) salınmasıyla meydana gelir (Boyce-Rustay, Honore, & Jarvis, 2010).

*Hiperpati:* Tekrarlanan uyaranlara karşı ağrı eşiğinin düşmesi sonucu verilen cevabın artması

*Parestezi:* Ektopik deşarj sonucu meydana gelen, ağırlı bir uyarı olmasa da karıncalanma benzeri nahoş his

*Dizestezi:* Santral sensitizasyon sonucu meydana gelen, iğne batması ya da yanma gibi algılanan his

*Hipostezi veya Hiperestezi: Zararsız bir uyarana karşı vücudun artan ya da azalan şekilde duyarlılık göstermesi*

*Periferik sensitizasyon*

Nosiseptörler mekanik ve termal aktivasyon eşikleri düştüğünde ve membran eksitabiliteleri arttığında dolayısıyla aşırı uyarılabilir hale geldiğinde meydana gelir. Aşırı aktif nosiseptörler omuriliğin dorsal kökünde sinaptik plastisiteyi ya da santral sensitizasyonu tetikler. Primer aferentlerin sensitizasyonu doku hasarı, inflamasyonu ya da direkt aktivasyonu sonrasında meydana gelebilir. Bu olay, nöronlardan, kan damarlarından ve immün hücrelerden bradikinin, prostaglandin, 5-hidroksitriptamin (5HT), nitrik oksit (NO), asetilkolin, adenosin-5'trifosfat (ATP) gibi kimyasalların ve inflamatuvar mediyatörlerin saliverilmesi ile sonuçlanır (Kress & Reeh, 1996). Bu maddeler primer aferent nöronları ya direkt (Kress & Reeh, 1996) ya da inflamatuvar hücreler (makrofajlar, mast hücreleri, fibroblastlar) aracılı IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  gibi sitokinlerin saliverilmesine neden olup indirekt etkileyerek ağrı ve duyarlılığa neden olurlar (Bianchi, Dib, & Panerai, 1998). IL-1 $\beta$  çok çeşitli yollarla primer aferent duyarlılaşmasına neden olur. Bu mekanizmalar arasında prostaglandin E2'nin (PGE2) saliverilmesi (Dayer, de Rochemonteix, Burrus, Demczuk, & Dinarello, 1986), sinir büyüme faktörünün (NGF) indüklenmesi (Yoshida & Gage, 1992) ve nöronlardaki P maddesinin upregülasyonu yer alır (Jonakait, Schotland, & Hart, 1990). İnflamatuvar cevabın bir kısmı hasarlanmış hücrelerin hücre içi içeriklerinin saliverilmesiyle de aktif hale gelebilir ve primer aferentleri uyaran histamin, 5-hidroksitriptamin (Leon et al., 1994) ve sitokinler gibi çeşitli inflamatuvar mediyatörler saliverilir.

Böylece santral aferent sinir uçlarından büyük oranda glutamat ve P maddesi saliverilmesine neden olan direkt ve indirekt mekanizmalar hipereksitabilite, aktivasyon için gereken eşğin azalması, düşük eşikli uyarandan gelen inputlar ve spontan ateşlemede artışlar ile sonuçlanır (Woolf, 1983, 1991; X. J. Xu, Dalsgaard, & Wiesenfeld-Hallin, 1992). Ek olarak daha önceden pasif olan sessiz nosiseptörler de aktif hale gelir (Coggeshall, Hong, Langford, Schaible, & Schmidt, 1983; Schaible & Schmidt, 1988).

### *Santral sensitizasyon*

Santral sensitizasyon, doku hasarı ya da periferik inflamasyon sonucunda sürekli nosiseptör aferent girdisiyle uyarılır. Sensoriyel iletimin post-sinaptik potensiyalizasyonu ve/veya bütün nörotransmitterlerin salıverilmesine neden olan NMDA reseptörlerinin (Mayer, Mao, Holt, & Price, 1999), dinorfin (Vanderah, Ossipov, Lai, Malan, & Porreca, 2001), AMPA/kainat reseptörlerinin (Kest, McLemore, Kao, & Inturrisi, 1997), CGRP'nin (Powell et al., 2000), siklooksijenazın (Powell et al., 1999) modülasyonu gibi birçok mekanizma sonucu ortaya çıkabilir.

Sonuç olarak düşük yoğunluğa sahip normal şartlar altında zararsız bir uyarının ağrı algısını başlattığı hipersensitivite durumu ortaya çıkar. Bu mekanizma, iyileşme gerçekleşirken hasarlanan vücut parçalarını daha fazla yaralanmadan koruma amacına sahiptir (Woolf, 1991). Kalıcı nosiseptif girdiler ardından çeşitli fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Bunlar dorsal kökteki nöronların aktivasyon eşiğinde azalma; dorsal kökteki nöronların çevreye karşı duyarlılığında artış ve dorsal kökteki nöronların çevresel alıcı alanının genişlemesi olarak söylenebilir (Woolf, 1991).

Kronik ağrı durumlarında primer aferentlerde ya da dorsal kökte plastik değişiklikler meydana gelmesi santral sensitizasyonda artışa neden olur. Bu durum dorsal kökteki nöronlarda uyarılabilirliği artırarak düşük-yoğunluklu stimülasyonlarına yol açar (Neumann, Doubell, Leslie, & Woolf, 1996). Büyük, miyelinli afferent lifler de normal olarak sonlandıkları dorsal kökün derin düzeylerinden köken alarak C liflerinin sonlandığı lamina II'de sonlanarak davranışı değiştirir (Baba, Doubell, & Woolf, 1999; Koerber, Mirnics, Brown, & Mendell, 1994; Woolf, 1991).

Yukarıda belirtilen bütün fizyolojik değişiklikler sonucunda normal şartlar altında zararlı olmayan bir uyaran hipersensitiviteye neden olarak ağrı algısını başlatabilir.



#### 2.1.2.4 Nöropatik ağrı nedenleri

Sinir hasarı tipine göre nöropatik ağrı sendromları farklılık gösterir. Nöropatik ağrı etiyojileri oldukça farklı tipte olabilir. İnfeksiyonlar, travma, metabolik bozukluklar, kemoterapi, cerrahi işlem, radyasyon, nörotoksinler, sinir sıkışması, inflamasyon da nöropatik ağrı semptomlarına neden olabilir. Aşağıdaki tabloda sadece periferik ve santral nöropatik ağrı sendromları gösterilmektedir (Dworkin, 2002).

**Tablo 2. 2** Nöropatik ağrı sendromları

<b>Periferik nöropatik ağrı sendromları</b>	<b>Santral nöropatik ağrı sendromları</b>
Kemoterapiye bağlı nöropati	Santral poststrok ağrı
Kompleks rejyonel ağrı sendromu	Multipl skleroz ağrısı
HIV duyuşsal nöropatisi	Parkinson hastalığında görülen ağrı
Tümör infiltrasyonuna sekonder gelişen nöropati	Omurilik zedelenmelerine bağlı gelişen ağrı
Ağrılı diyabetik nöropati	
Postherpetik nöralji	
Postmastektomi ağrısı	
Trigeminal nöralji	

## 2.2 Kemoterapiye Bağlı Gelişen Periferik Nöropati

Nöropatik ağrı, sinir sisteminde (periferik ya da santral) somatosensoriyel sistemi etkileyen bir hasar, hastalık ya da disfonksiyon sonucu görülen kronik ağrı olarak tanımlanabilir (Baron, Binder, & Wasner, 2010). Periferik nöropati mekanik travma, metabolik hastalıklar, nörotoksik ajanlar ve infeksiyonların neden olduğu PSS hasarından kaynaklanır (Costigan, Scholz, & Woolf, 2009). Genellikle distal ekstremitelere uyuşma ve/veya termal ya da mekanik uyarıya

karşı aşırı hassasiyet ile açığa çıkar. Birçok antineoplastik ajanın da neden olduğu yaygın bir yan etkidir. CIS ve oksaliplatinin dahil olduğu platin-türevi ajanlar, taksan (paklitaksel ve dosetaksel), vinka alkaloidleri (özellikle vinkristin ve vinblastin), epotilonlar ve eribulin gibi mikrotübülleri hedefleyen ajanlar, proteazom inhibitörleri (bortezomib) ve immünmodülatör ilaçları (talidomid) kullanan hastalarda PN görüldüğü yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Seretny et al., 2014).

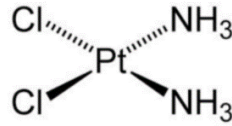
CIS tedavisinde duyuşal nöropatinin geliştiğı ve özellikle büyük dorsal kök gangliyonlarında bulunan hücre gövdelerinde büyük ve uzun miyelinli sinir liflerinin kaybıyla karakterize duyuşal nöropati geliştiğı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Krarup-Hansen, Helweg-Larsen, Schmalbruch, Rorth, & Krarup, 2007; Podratz et al., 2011).

### **2.2.1 Sisplatin**

Sisplatin (*cis*-dichlorodiammineplatinum II) ilk olarak 1844 yılında Peyrone tarafından sentez edilmiş olup “Peyrone tuzu” olarak bilinmekteydi. Kimyasal yapısı ise 1893 yılında Alfred Werner tarafından aydınlatılmıştır. 1960’ların başında Rosenberg’in laboratuvarında kullandığı platin elektrotlarla uyguladığı elektrik akımının *E.coli* bakterilerini öldürdüğünü, elektrik akımını kapattıktan sonra ise yaşayan bakterilerin boyunun uzadığını yani bölünemediklerini farketmiştir (Rosenberg, Van Camp, Grimley, & Thomson, 1967). Bunun da elektrolit olarak kullandığı amonyum klorür solüsyonunun platin elektrotlarla reaksiyona girmesi sonucu açığa çıkan diklorodiaminplatin bileşiginden kaynaklandığını bulmuştur. Daha sonrasında farelerdeki tümör hücreleri üzerinde CIS etkilerini araştırdığında bazı kanser türlerine karşı oldukça etkili olduğunu keşfetmiştir (Dasari & Tchounwou, 2014). CIS testis, ileri over ve mesane kanserlerinde kullanılmak üzere FDA tarafından 1978 yılında onaylanmış ilk platin bileşigidir (Kelland, 2007). 1960’larda sitotoksik özellikleri keşfedilmesiyle beraber CIS 1970’lerden itibaren küçük hücreli akciğer, over, testis, baş-boyun ve endometriyum gibi birçok solid tümörün tedavisinde en çok kullanılan ve en etkili tedavi ajanlarından biridir (Dasari & Tchounwou, 2014).

### 2.2.2 Kimyasal yapısı

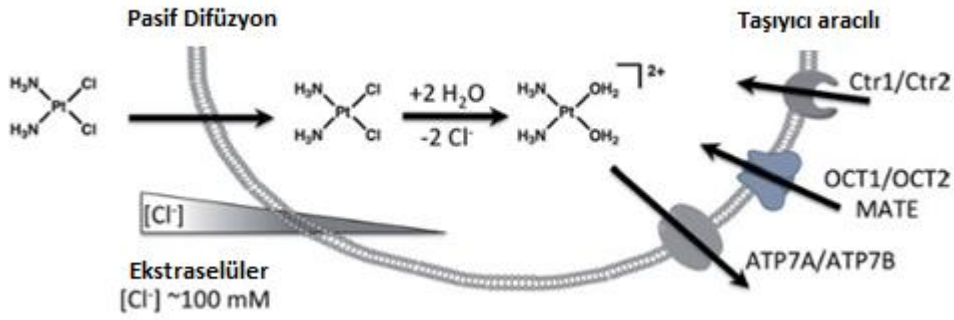
CIS'in kimyasal yapısı diğer bütün tipik organik antikanser ajanların kimyasal yapısından farklıdır. CIS kare planar geometriye sahip bir metal (platin) koordinasyon bileşiğidir (Şekil 2.2). Çift yüklü platin iyonunun 4 ligandla birleşmesinden oluşur: solda platin iyonuyla güçlü etkileşim oluşturan amin ligandları, sağda ise platin iyonunun DNA bazlarıyla bağ kurmasını sağlayacak klorür ligandları yer alır (Şekil 2.2) (Goodsell, 2006). Oda sıcaklığında beyaz ya da koyu sarı-turuncu kristal toz formundadır. Normal sıcaklık ve basınçta stabildir ancak zaman içinde trans izomerine dönüşebilir. Molekül ağırlığı 301.1 gm/mol, özgül ağırlığı 3.74 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 270°C'dir (Dasari & Tchounwou, 2014). Yarılanma ömrü 35,5°C'de 1.05 saattir.



Şekil 2. 2 CIS'in kimyasal yapısı

### 2.2.3 Antikanser etki mekanizması

CIS esas olarak pasif difüzyonla hücre içine taşınır. CIS'in hücre içine taşıyan başka mekanizmalar da vardır. Bunlar CTR1 ve CTR2 bakır taşıyıcı proteinlerdir (Eljack et al., 2014). Organik katyon taşıyıcıları (OCT1 ve OCT2) ve organik anyon taşıyıcıları da CIS'in hücre içine girmesini sağlayan diğer kanallardır (Şekil 2.3). İnsan hücrelerine girdikten sonra CTR1'in hızla parçalanmasına neden olduğu dolayısıyla hücre içine giren CIS miktarında azalmaya sebep olması CIS direncinde primer rolü oynamaktadır (Holzer, Manorek, & Howell, 2006).



**Şekil 2. 3** Platin ajanların hücre içine giriş yolları (azalan hücre içi klorür konsantrasyonuna bağlı pasif difüzyon ve bakır taşıyıcılar CTR1 ve CTR2'nin ve organik katyon taşıyıcıların Ctr1 ve Ctr2'nin dahil olduğu taşıyıcı aracılı hücre içine giriş yolları, hücre dışına çıkmasında ise etkili olan P-tipi ATPazlar ATP7A ve ATP7B taşıyıcıları (Riddell, 2018).

CIS hücre içine girdiğinde hızla aktive olur. Sitoplazmada klorür atomları su molekülleriyle yer değiştirir. Bu hidrolize ürün herhangi bir nükleik asitteki nitrojen donör atomlarla ve proteinlerdeki sulfhidril grupları gibi herhangi bir nükleofil molekülle reaksiyona girebilecek güçlü bir elektrofil moleküldür. CIS kanser hücrelerinde pürin rezidülerinin reaktif N7 merkezine bağlanır, DNA sarmalında eklentiler oluşturur, DNA hasarına neden olarak hücre bölünmesini durdurur ve apoptotik hücre ölümüne yol açar (Dasari & Tchounwou, 2014). Çünkü DNA'nın çift sarmal yapısında değişikliklere neden olarak DNA'nın replikasyon, hücre döngüsü ve tamir mekanizmalarını inhibe eder.

Platin türevi ajanlar nükleer DNA'da olduğu gibi mitokondriyal DNA'da da eklentiler oluşturur. Mitokondriyal DNA'nın replikasyon ve transkripsiyon mekanizmalarında bozulmalara aynı zamanda da mitokondri içinde morfolojik değişikliklere neden olur. Mitokondride meydana gelen morfolojik anormallikler mitokondriyal disfonksiyona yol açar (Jiang, Guo, Vasko, & Kelley, 2008). Mitokondriyal düzeyde tamir mekanizmasının çalışmaması sebebiyle DNA lezyonlarında birikim meydana gelir. Sonuç olarak primer aferent duyu nöronlarında dejenerasyonla beraber enerji eksikliği meydana gelir bunun da sonucunda kronik PN indüklenmiş olur (Bennett, Doyle, & Salvemini, 2014; Xiao

& Bennett, 2012). PSS'de mitokondrilerin %95'i aksonlarda lokalizedir. Dolayısıyla mitokondriyal disfonksiyon meydana geldiğinde enerji gereken aksonal taşımada aksaklıklar ortaya çıkar (Carozzi, Canta, & Chiorazzi, 2015). Mitokondriyal fonksiyondaki bu değişikliklerin "coasting fenomeni" için altyapıyı oluşturduğu düşünülmektedir (Windebank & Grisold, 2008). Platin ilaçlara bağlı gelişen mitotoksisite genellikle nöronal hasardan sorumlu reaktif oksijen bileşiklerinde (ROS) artışa neden olur (Areti, Yerra, Naidu, & Kumar, 2014). Oksidatif stres koşullarında ROS artışı da hücre protein, lipid, DNA'ya bağlı hücre hasarı ve mitokondriyal disfonksiyona neden olan bir diğer faktördür (Dasari & Tchounwou, 2014; Masuda, Tanaka, & Takahama, 1994). CIS tedavisi sonrası ROS'un aşırı üretilmesi ektrinsik ve intrinsik hücre ölüm yollarını aktive ettiği ve dolayısıyla otofaji yoluyla hücre ölümüne yol açtığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Dasari & Tchounwou, 2014; Ozben, 2007; Shrivastava, Kuzontkoski, Groopman, & Prasad, 2011).

Oksidatif dengenin bozulmasının ağrının başlamasıyla bağlantılı olduğu bilinmektedir. Düşük klorür konsantrasyonuna sahip bir ortamda CIS molekülündeki klorür iyonlarının su ile yer değiştirmesi sonucu açığa çıkan bu kompleks yapının ROS düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (M. Hara et al., 2001; Iseri, Ercan, Gedik, Yuksel, & Alican, 2007). CIS'in in vitro ve in vivo uygulanmasıyla ROS düzeylerinde artışa neden olduğu ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonda artış, katalaz aktivitelerinde ve glutatyon peroksidazda azalma, kaspaz 3/7'nin aşırı aktivasyonu, apoptoz ve DNA fragmentasyonu görüldüğü bilinmektedir (Carozzi, Marmioli, & Cavaletti, 2010; Pan et al., 2009). Melli ve arkadaşları yaptıkları in vitro çalışmada CIS toksisitesine maruz kalan DRG nöronlarında mitokondriyal fonksiyonda azalma, membran potansiyelinin kaybı ve mitokondrilerde yapısal değişiklikler gözlemlenmiştir (Melli et al., 2008).

CIS düşük klorür iyon konsantrasyonlarında yüklü reaktif bileşiklere hidrolize olur. Bu hidrolize formlar normal CIS'a göre 1000 kat daha reaktiftir ve mitokondriyal respirasyonunu inhibe eder. Bunun sonucunda mitokondriden kalsiyum eflusu meydana gelir ve hücre içi kalsiyum düzeylerinde ani bir artış olur. Böylece normal kalsiyum homeostazı ve normal hücre fonksiyonları

bozulmaya başlar. Mitokondriyal glutatyon mitokondriyal geçirgenliğin ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir diğer moleküldür. DNA hasarı CIS'in tümör hücreleri ölüme götüren primer mekanizmadır ancak aynı zamanda bölünen diğer sağlıklı hücelere karşı da toksik olması CIS kullanımında önemli bir tehdit oluşturmaktadır.

#### **2.2.4 Genel toksik etkileri**

Platin bileşikleri metal iyonları içeren bileşiklerdir ve proteinler, nükleik asitler ve diğer hücrel molekül için bağlanma noktaları oluştururlar. Bu özellikleri etkilerinin önemli bir kısmından sorumlu olduğu gibi aynı zamanda toksisiteyi açısından da önem taşır.

CIS tedavisi birçok toksik yan etkileri de beraberinde getirir: Nefrotoksisite (de Jongh et al., 2003), hepatotoksisite ve kardiyotoksisite (Al-Majed, 2007), ototoksisite, gastrotoksisite, miyelosüpresyon, alerjik reaksiyonlar ve bazı üremeye ilgili toksik etkileri gösterilmiştir (Hartmann et al., 2000; Hartmann & Lipp, 2003).

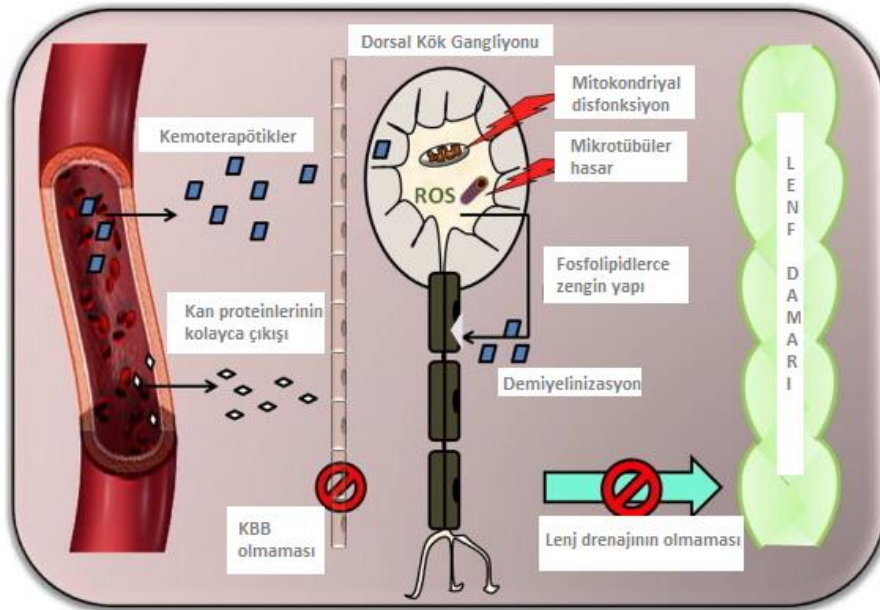
CIS'a bağlı toksisitenin, özellikle nefrotoksisitenin, azalan hücre içi glutatyon konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bunun sonucunda da açığa çıkan ROS ve dolayısıyla oksidatif stresin membran bütünlüğünde ciddi hasarlar oluşturduğu gösterilmiştir (Aggarwal, 1998). CIS'in neden olduğu kalsiyum homeostazındaki bozulma, lipid peroksidasyon ve enzim inhibisyonu gibi primer olayları başlatır. Bu olaylar mitokondriyal hasar, mitokondri fonksiyonunun inhibisyonu ve enerji düzeylerinin ve kofaktörlerin de azalmasıyla hücrelerdeki hasara katkıda bulunur. Böylece apoptoz ve doku nekrozları açığa çıkar.

Nefrotoksisite böbreklerde ciddi hasar oluşturur ancak intravenöz ön-hidrasyonla ve hastalarda diüretiklerin kullanılmasıyla bu toksik etki minimize edilebilir (Rabik & Dolan, 2007). Antiemetik ilaçlar da bulantı ve kusmada etkilidir. Ototoksisite ise sıkı takip gerektirir (McWhinney, Goldberg, & McLeod, 2009). Tiyol grubu içeren antioksidanlarla yapılan ön-tedavi ototoksisite için önemli bir tedavi seçeneği olarak öne sürülmektedir (McWhinney et al., 2009).

Periferik nörotoksisite ise CIS tedavisinde en yaygın görülen, dozunu sınırlayan ve hala etkin tedavisi bulunamamış bir yan etki olarak önemini korumaktadır.

### 2.2.5 Sisplatine Bağlı Gelişen Periferik Nöropati

Sisplatin kan-beyin bariyerini hemen hemen hiç geçemese de PSS'ye yüksek oranda afinite gösterir (Quasthoff & Hartung, 2002). PSS'nin yapısal ve fonksiyonel bazı özellikleri de, CIS'in da dahil olduğu kemoterapi ilaçlarının ve bazı nörotoksinlerin birikmesi açısından risk oluşturmaktadır. Literatürde PSS'de etkin bir vasküler bariyerin olmaması ve endonöronal alandaki lenfatiklerin toksinleri uzaklaştırmada yetersiz kalması gibi nedenlerle, PSS'nin toksik kimyasallara karşı daha fazla risk altında olduğu belirtilmektedir (Areti et al., 2014; Avan et al., 2015). Lenfatik sistemin olmaması ve serebrospinal sıvının periferik sinirlerin etrafında olması zararlı maddelerin sinir dokusu etrafında birikimine neden olur ve bu da nöropatik hasarın daha da artmasına neden olur (Şekil 2.4) (Areti et al., 2014).



Şekil 2. 4 PSS'nin kemoterapötik ajanlara ve oksidatif strese karşı duyarlı olmasının sebepleri (Areti et al., 2014).

CIS efikasitesine rağmen hastaların yaşam kalitesini etkileyen, kullanılan dozu sınırlandıran ve etkili tedavi rejiminin değiştirilmesine neden olan en önemli etkisi, özellikle duyu nöronlarında aksonal PN'ye neden olmasıdır (Starobova & Vetter, 2017). Bu yan etki zaman ve doza bağlı şekilde ortaya çıkar. PN kemoterapi tedavisi gören hastaların hayat kalitelerini oldukça etkilemektedir. Başlıca semptomlar olarak duyu kayıpları, ağrılı paresteziler, güçsüzlük, tremorlar, “çorap eldiven tarzı” uyuşmalar, ısıya duyarlılık ve hiperaljezi görülür (Amptoulach & Tsavaris, 2011). Semptomlar ilk doz sonrası ya da tedavi sonunda başlayabileceği gibi tedavi kesildikten haftalar hatta aylar sonra başlayabilir. Bu durum çoğunlukla platin bileşikleriyle görülen “coasting fenomeni” olarak adlandırılır (Starobova & Vetter, 2017). Yüksek kümülatif dozlar ve uzun süreli CIS tedavisi kronik ve geri-dönüştürülebilir PN'ye neden olabilir (Gregg et al., 1992).

CIS'in neden olduğu PN'nin ilk ortaya çıkışı her hastada farklıdır, bazı hastalar ilk dozdan sonra semptomları gördüğünü belirtirken bazıları 12 siklus tedaviyi aldıktan sonra yaşadıklarını belirtmişlerdir (Cersosimo, 1989; van der Hoop, van der Burg, ten Bokkel Huinink, van Houwelingen, & Neijt, 1990). PN sisplatin tedavisi gören hastalarda 350 mg/m<sup>2</sup> üzerindeki dozlarda gelişmeye başlar ve 500-600 mg/m<sup>2</sup> kümülatif dozlara çıktığında ise CIS'a bağlı PN hastaların %92'sinde ortaya çıkar (Krarup-Hansen et al., 2007). CIS'a bağlı nöropatik semptomların klinik insidansı %49 ile %100 arasında değişirken, 12 aylık tedavi altındaki hastaların %5-%20'sinde kronik sisplatine bağlı PN geliştiği gösterilmiştir (Mollman, Glover, Hogan, & Furman, 1988; S. B. Park et al., 2013). Kemoterapi tedavisinde total kümülatif sisplatin dozu 225-500 mg/m<sup>2</sup> alan hastaların yaklaşık %60'ında periferik sinir hasarı (Argyriou, Bruna, Marmioli, & Cavaletti, 2012) ve %10'unda ise nörotoksisite görülmektedir (Sutton et al., 2000). CIS'a bağlı PN şiddeti ve kronik seyri yüksek kümülatif dozlar ve sisplatine uzun süre maruziyetle artış göstermektedir (Gregg et al., 1992). Sisplatin 500-600 mg/m<sup>2</sup> kümülatif dozlarına ulaşıldığında hastalarda görülen nörotoksik semptomlar karıncalanma, uyuşma, mekanik ve termal hiperaljezidir (Starobova & Vetter, 2017). Deney hayvanlarında ise sisplatinin mekanik ve soğuk allodiniye neden olduğu da gösterilmiştir (Deng et al., 2012).

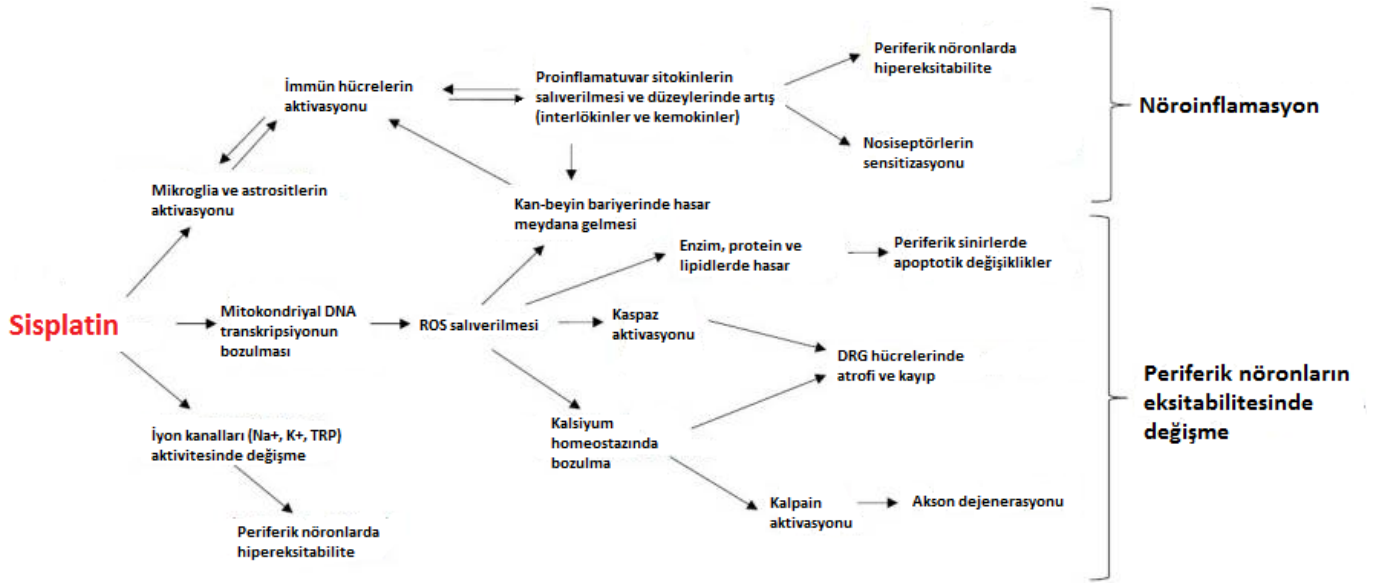


CIS'a bağlı meydana gelen PN en çok alt ve st ekstremiteleri etkiler, karma tipte (mixed-type) vibrasyon duyusu kaybı, pareteziler, gcszlk ve tremorların görüldüğü hem duysal hem de motor etkilere neden olur (Amptoulach & Tsavaris, 2011; LoMonaco et al., 1992). Azalan vibrasyon duyarlılığı ve paretezileri olan hastalarda yapılan motor sinir iletim hızı ölçümleri sural sinir cevabının olmadığını göstermektedir (Thompson, Davis, Kornfeld, Hilgers, & Standefer, 1984). Bununla beraber yüksek CIS dozlarında duysal sinir aksiyon potansiyellerinde azalma ve büyük miyelinli liflerin kaybını ortaya koymaktadır (Krarup-Hansen et al., 2007). Öncelikle duysal lifler etkilenirken, ilk olarak duyu nöronunun tamamının mı yoksa duyu aksonunun distal kısmının mı patolojik sürece dahil olduğu kesin değildir. Hastaların oğunda CIS tedavisine bağlı meydana gelen "eldiven-çorap tarzı" dağılım gösteren duysal semptomlar ilk önce alt ekstremitelerin distal kısımlarına daha sonra st ekstremitelere lokalize olur. Dolayısıyla bu PN'nin uzunluğa bağlı uçtan geriye doğru (dying-back) gelişen nöropati sendromuyla tutarlılık gösterdiği ve duyu nöronlarının distal dejenerasyonu sonucu meydana geldiği iddia edilmiştir (Gastaut & Pellissier, 1985; Hansen, Helweg-Larsen, & Trojaborg, 1989). Bu durum önemlidir nk distal aksonal dejenerasyon tedavinin kesilmesiyle geri-döndürülebilir şekilde iyileşirken, duyu nöronunun hücre gövdesinde meydana gelen bir dejenerasyon geri-dönüşsüz aksonal kayıplara neden olacağı ne sürülmüştür (Hansen et al., 1989).

Sıçan embriyosundan elde edilen DRG kültürlerinde de CIS nörotoksisitesi üzerine çalışmalar yapılmıştır (Windebank, Smith, & Russell, 1994). CIS insanda toksik olduğu bilinen konsantrasyonlara benzer miktarda uygulandığında doz-bağımlı olarak aksonal büyümeyi inhibe ettiği bilinmektedir. CIS büyük ve kk nöronların spinal kök gangliyon hücrelerinin ekirdekiklerinde anormalliklere neden olur (Tomiwa, Nolan, & Cavanagh, 1986). CIS'a bağlı gelişen PN gangliyon hücre gövdelerinde nükleer ve nükleolar değişikliklerden kaynaklandığı hipotezi sıçanlarda doğrulanmıştır (Cavaletti et al., 1992). Kronik sisplatin uygulaması spinal gangliyonlar ve periferik sinirlerde hücre boyutunda azalmaya neden olur. Aynı zamanda siyatik ve peroneal sinirlerde aksonopati özellikleri gösteren değişiklikler görülebilir (Cavaletti et al., 1992). Bu değişiklikler sıçanlarda

gösterildiği gibi farelerde de doğrulanmıştır (Carozzi, Canta, et al., 2010). Sisplatin spesifik olarak DRG’lerde büyük ve orta boyuttaki nöronların sayısında belirgin derecede azalmaya neden olur ve bu durum farelerde servikal DRG’lerdeki belirgin nöropeptid kaybıyla ilişkili nöronal atrofiyi gösterdiği de öne sürülmüştür (Schmidt, Unger, Bartke, & Reiter, 1995).

Sisplatinin de dahil olduğu platin-türevi ajanların neden olduğu PN’nin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Ancak antikanser etki mekanizmalarının nörotoksik etkilerinden de sorumlu olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.5) (Zajaczkowska et al., 2019).



**Şekil 2. 5** Platin-türevi ajanların neden olduğu PN’nin altında yatan mekanizmaların özeti (Zajaczkowska et al., 2019).

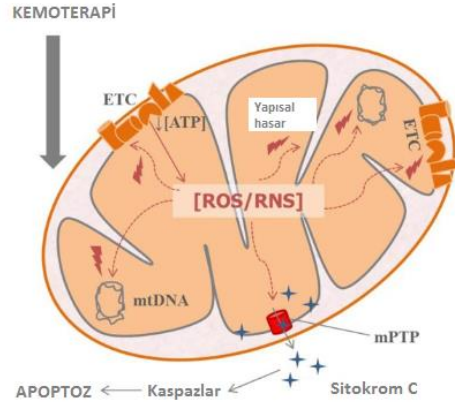
### 2.2.5.1 Patofizyolojik mekanizmalar

#### *Mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stress*

Mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stresin sisplatinine bağlı gelişen PN’de ana nedenler olduğu söylenebilir. CIS’in nöronal ve non-nöronal hücrelere girmesiyle oluşturduğu mitokondriyal DNA’daki eklentiler fizyolojik replikasyon ve transkripsiyon mekanizmalarını bozar. Bunun sonucunda protein sentezinde bozulma ve mitokondride respiratuvar zincirde bozulmalar meydana gelir (Canta,

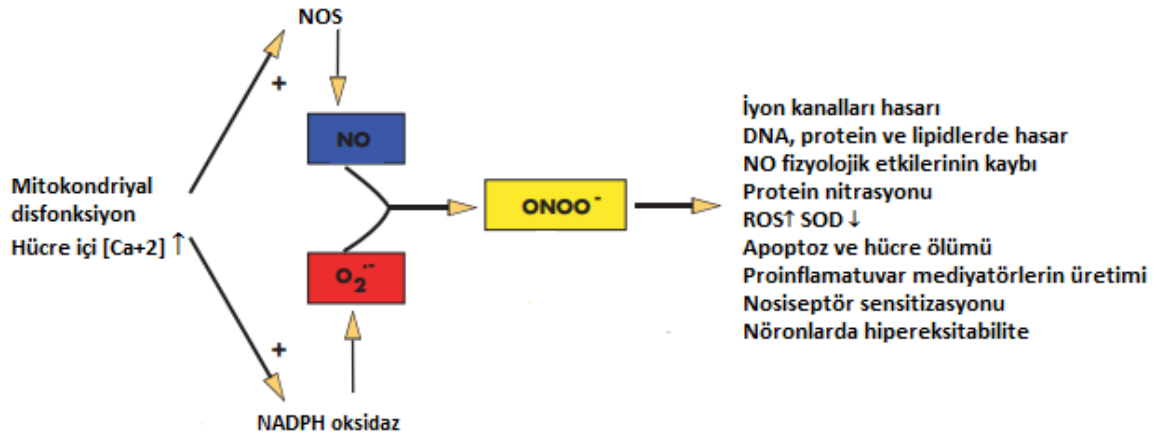
Pozzi, & Carozzi, 2015; Kober et al., 2018; Podratz et al., 2011). Mitokondride fizyolojik fonksiyonlarda meydana gelen bozulma hücrel metabolizmada azalmaya, reaktif oksijen bileşikleri üretiminde artışa ve oksidatif strese yol açar (Di Cesare Mannelli, Zanardelli, Failli, & Ghelardini, 2012; Joseph, Chen, Bogen, & Levine, 2008). CIS'in kültür edilmiş Schwann hücrelerinde de mitokondriyal disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir (Imai et al., 2017). Hücrel metabolizmanın inhibisyonu, patolojik ve yüksek düzeylerdeki hücre içi reaktif oksijen bileşikleri enzim, protein ve lipidlerde hasara neden olarak periferik sinirlerin yapısal olarak değişmesine de neden olur (Waseem, Kaushik, Tabassum, & Parvez, 2018). CIS uygulanmış farelerde meydana gelen oksidatif stresin siyatik sinirlerde apoptotik değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir (Sharawy, Rashed, & Youakim, 2015).

Kemoterapötik ajanların duyu nöronlarında ve omurilikte hem ROS hem de RNS üretimini arttırdıkları gösterilmiştir (Doyle et al., 2012; Jiang et al., 2008). ROS ve RNS tarafından meydana gelen nitrooksidatif stres nosiseptif duyu nöronlarında duyarlılığı artırır (Ferrari et al., 2011; Ridger et al., 1997). Kemoterapötik ajanlara bağlı ortaya çıkan ROS ve RNS nöronlar, destekleyici satellit hücreler ve inflamatuvar hücreler tarafından üretilirler (Hamanaka & Chandel, 2010; D. Kim et al., 2010). ROS ve RNS hücre içinde ise elektron transport zinciri aracılığıyla mitokondriden ve plazma membranında bulunan NADPH oksidazın artan aktivitesi sonucu açığa çıkar (H. J. Jang et al., 2008). Nitrooksidatif stres DNA hasarına, sinir liflerinde demiyelinizasyona, mitokondriyal hasar ve disfonksiyona, sinyal iletim yollarında aktivasyona ve apoptoz ile nöronal hücre ölümüne neden olarak duyu nöronların ve destek hücrelerin sağkalımı ve fonksiyonları açısından risk oluşturur (Şekil 2.6) (Hamilton et al., 2013; Janes et al., 2013; Russell et al., 2002).



**Şekil 2. 6** Kemoterapiye bağlı gelişen PN’de nitro-oksидatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptoz arasındaki ilişki (ATP: adenozin trifosfat, ETC: elektronik taşıyıcı kanal, mtDNA: mitokondriyal DNA, mPTP: mitokondriyal permeabiliye geçiş gözenegi, ROS/NOS: reaktif oksijen bileşikleri/reaktif nitrojen bileşikleri)(Carrasco, Naziroglu, Rodriguez, & Pariente, 2018).

Önemli bir serbest radikal olan NO, CIS toksisitesinde önemli bir rol oynar. Patolojik bir durumda NO aşırı üretimi peroksinitrit oluşmasına yol açarak morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olabilir (Şekil 2.7).



**Şekil 2. 7** Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) oluşumu sonrası periferik nöronlarda meydana gelen değişiklikler

### *Hücre içi kalsiyum sinyalizasyonu*

Mitokondrinin fizyolojik fonksiyonlarında meydana gelen bozulma, kalsiyum sinyal yollarını etkileyebilir, nöronal ve glial hücrelerde patolojik

fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri daha da arttırabilir. Hücre içi  $Ca^{+2}$ 'nin depoları olarak mitokondriyal ve endoplazmik retikulum bütünlüğü  $Ca^{+2}$  homeostazı için çok önemlidir, çünkü hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundaki değişiklikler membran uyarılabilirliğini, nörotransmitör salıverilmesini, nöronal ve glial hücrelerin gen ekspresyonunu etkileyebilir (Carozzi et al., 2015). Hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundaki artış, doğrudan akson dejenerasyonunu tetikleyen düzensiz proteolize yol açan kalpain (güçlü proteaz) aktivasyonuna neden olabilir (J. T. Wang, Medress, & Barres, 2012). Protein kinazların ve kaspazların kemoterapötiklerle aktivasyonu, hücre içi yapılara da zarar verebilir. CIS ve oksaliplatinin, DRG nöronlarında MAPK ile ilişkili apoptoza neden olduğu ve MAPK inhibitörlerinin platin bazlı ajanların indüklediği DRG hasarını önleyebileceği gösterilmiştir (Scuteri et al., 2009).

### *İyon kanalları*

Nöronal ve glial fonksiyondaki bozuklukların (membran eksitabilitesi ve nörotransmitterlerin salıverilmesi) klinikte PN ile sonuçlanması kısmen kalsiyum kanalları, sodyum kanalları (NaV), potasyum kanalları (KV) ve transient reseptör potansiyel (TRP) kanallarındaki aktivitenin değişmesi sonucu meydana geldiği söylenebilir. CIS'in neden olduğu PN'de  $Ca^{+2}$  ve TRP kanallarının etkisi önem taşır. CIS'a bağlı gelişen nöropatik ağrıya DRG'lerdeki N-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının upregülasyonunun aracılık ettiği gösterilmiştir (Leo et al., 2017). Oksidatif stres ve soğukla aktive olan transient reseptör potansiyel ankrin 1'in (TRPA1) CIS'in neden olduğu mekanik ve soğuk duyarlılığına aracılık ettiği düşünölmüş olup, TRPA1 antagonistinin CIS'in neden olduğu mekanik allodiniyi düzelttiği gösterilmiştir (Nassini et al., 2011).

### *Glia hücreleri*

Mikroglia ve astrositler, pro-inflamatuvar mediyatörleri salıverilmeleri bakımından nöropatik ağrıda önem taşır (Watkins & Maier, 2002). Son dönemlerde yapılan çalışmalarda glial hücrelerin de platin-türevi ajanlara bağlı gelişen PN gelişmesine aracılık edebileceği düşünölmüştür (Di Cesare Mannelli et al., 2013; Di Cesare Mannelli et al., 2014; Hu et al., 2018). Farelerde yeni yapılan bir çalışmada CIS uygulaması sonrası, mekanik allodini, duyuusal bozukluklar ve

intraepidermal sinir liflerinde azalma görülmüştür. Bu çalışmada omurilikteki mikrogliaların ilk CIS injeksiyonundan beşinci haftaya kadar devam eden şekilde aktive olduğu gözlenmiştir (Hu et al., 2018). Aktive olan mikroglialar tarafından salıverilen sitokinler toll-like reseptör (TLR) ailesini aktive edebilir (özellikle de TLR4). Bu reseptörün genetik olarak silindiği farelerde CIS'a bağlı gelişen ağrı davranışında azalma olduğu gösterilmiştir (H. J. Park, Stokes, Corr, & Yaksh, 2014). Proinflamatuvar sitokinlerin nosiseptörlerin duyarlılaşmasına yol açması yapılan çalışmada doğrulanmıştır (Jin & Gereau, 2006).

### *Akson dejenerasyonu*

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan birçok çalışma, uzun süreli kullanılan kemoterapötik ajanların, duyu-motor PN ile bağlantılı miyelinli büyük, miyelinsiz küçük (daha nadiren) ve intraepidermal sinir liflerinin (IENF) kaybına neden olan akson dejenerasyona yol açtığını göstermiştir (Bennett, Liu, Xiao, Jin, & Siau, 2011; Boehmerle, Huehnchen, Peruzzaro, Balkaya, & Endres, 2014; Bradley, Lassman, Pearce, & Walton, 1970; Cavaletti et al., 1992). İnteraepidermal sinir lifleri, miyelinsiz ya da dermisteki ince miyelinli nosiseptörlerdir ve periferden kaynaklanan ağrının hissedilmesinde rol oynar. Ek olarak, miyelin kaybı ve aksonal hücre iskeletindeki değişiklikler periferik sinirlerin yapısını ve işlevini değiştirir ve bu durum değişmiş algının gelişimine katkıda bulunabilir. Ancak demiyelinizasyon ve periferik sinir dejenerasyonunun kemoterapiye bağlı PN patobiyolojisine katkısı tamamen açık değildir. CIS uygulanan hastalardan alınan periferik sinirlerin elektron mikroskopi görüntüleri büyük ve miyelinli sinir liflerinde dejenerasyonu ve vibrasyon duyarlılığında azalmayı göstermiştir (Boehmerle et al., 2014). Farelerde de CIS'ın miyelinli siyatik sinirlerde hasar oluşturduğu, aksiyon potansiyel amplitudünde azalmaya neden olduğu ve kaudal duyu sinirinde iletim hızını azalttığı gösterilmiştir (Boehmerle et al., 2014).

Aksonal fonksiyon ve yapısal değişikliklerin kaynaklandığı moleküler mekanizmalar konusunda bilgiler kısıtlıdır. PN'ye neden olan kemoterapi ajanları aksonlar üzerine direkt toksik etkiler gösterebildiği gibi gen ekspresyonunda değişikliklere neden olarak indirekt etkilerden de sorumlu olabilirler (Boehmerle et al., 2014).

### ***2.2.5.2 Sisplatin nörotoksisitesinin önlenmesine yönelik yaklaşımlar***

CIS doz rejimlerini düzenlemeye yönelik girişimler ortaya çıkan nörotoksisitenin şiddetini etkilememiştir (Hilkens et al., 1995). CIS'in anti-tümör aktivitesini etkilemeden yan etkilerini azaltmaya yönelik beraberinde kullanılmak üzere kemoprotektif ya da kurtarma tedavileri gibi sisplatinin terapötik etkinliğini güçlendirecek etkin ajanlar aranmaktadır. Bu amaçla platin ajanlara bağlı gelişen nöropatiyi önlemede etkili olabilecek çeşitli ajanlar araştırılmıştır. ACTH analogu Org 2766, glutatyon (GSH), amifostin ve çeşitli nörotrofik büyüme faktörleri sisplatine bağlı gelişen nörotoksisiteyi önlemek amacıyla klinik ve deneysel modellerde denenmiştir (Links & Lewis, 1999). Asetil-l-karnitin CIS modelinde nöroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Pisano et al., 2003). GSH ve vitamin E insan deneylerinde platin bileşikleriyle beraber kullanılmıştır (Cascinu et al., 2002; Pace et al., 2003).

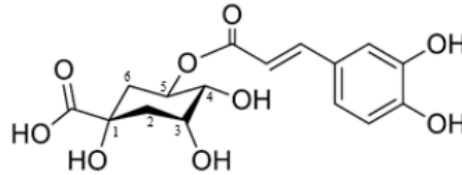
Organik tiyofosfat yapısında olan amifostinin serbest oksijen radikali kovucu olarak davrandığı ve anti-tümör etkilerini değiştirmeden radyasyon, alkilleyici ajanlar ve platin bileşiklerine bağlı oluşan toksisiteye karşı sitoprotektif etkiler gösterdiği öne sürülmüştür (Planting et al., 1999). Dietilditiyokarbamatın (DDTC) bir şelasyon ajanı olarak CIS'in anti-tümör etkisine müdahale etmeden dokuya-bağlanan platine bağlanıp onu ayırdığı düşünülmüştür (Gandara et al., 1995). Glutatyonun (GSH) tiyo nükleofilik bölgesi ağır metaller için yüksek afiniteye sahiptir ve DRG'lerde platin birikimine engel olacağı düşünülmüştür (Cascinu et al., 2002). Bir nöropeptid olan Org2766 ise trofik etkileriyle ve endojen sinir hücrelerinde tamir mekanizmalarını güçlendirerek sisplatin nöropatisini düzelttiği öne sürülmüştür (van Gerven et al., 1994). Vitamin E bir antioksidan molekül olarak, CIS'a bağlı gelişen ototoksisite, nefrotoksisitede ve nörotoksisitede koruyucu olabileceği yine öne sürülmüştür (Pace et al., 2003). Asetilsistein (N-asetilsistein, NAC) glutatyonun tam kan konsantrasyonlarını artırarak platin eklentilerinin birikimini ve klinikte oksaliplatin nörotoksisitesini engelleyebileceği düşünülen bir besin desteğidir (Lin et al., 2006). BNP7787 (disodyum 2,2' ditiyobisetan sülfonat) kemoprotektif bir ajan olarak geliştirilmiş bir moleküldür (A. A. Miller et al., 2008).

Kalsiyum ve magnezyum infüzyonlarının oksalat şelasyonu yaparak oksalatların voltaj-bağımlı sodyum kanalları üzerindeki etkilerini azalttıkları öne sürülmüştür (Gamelin et al., 2004). Okskarbazepin antiepileptik bir ilaç olan karbamazepine benzer ve voltaja duyarlı sodyum ve bazı kalsiyum kanallarını bloke eder. Bu özellikleriyle oksaliplatin nöropatisine karşı nöroprotektif olarak geliştirilmiş bir moleküldür (Argyriou et al., 2006).

## 2.3 Klorojenik asit

### 2.3.1 Kimyasal yapısı

Klorojenik asit (CGA) hidrokisisinamik asit ailesine mensup fenolik bir bileşiktir. Kimyasal yapısında bir kafeik asit ve quinik asit molekülü içerdiği için aynı zamanda 5-kafeolquinik asit (5-CQA) olarak da bilinmektedir (Şekil 2.8).



Şekil 2. 8 Klorojenik asitin kimyasal yapısı (5-kafeolquinik asit)

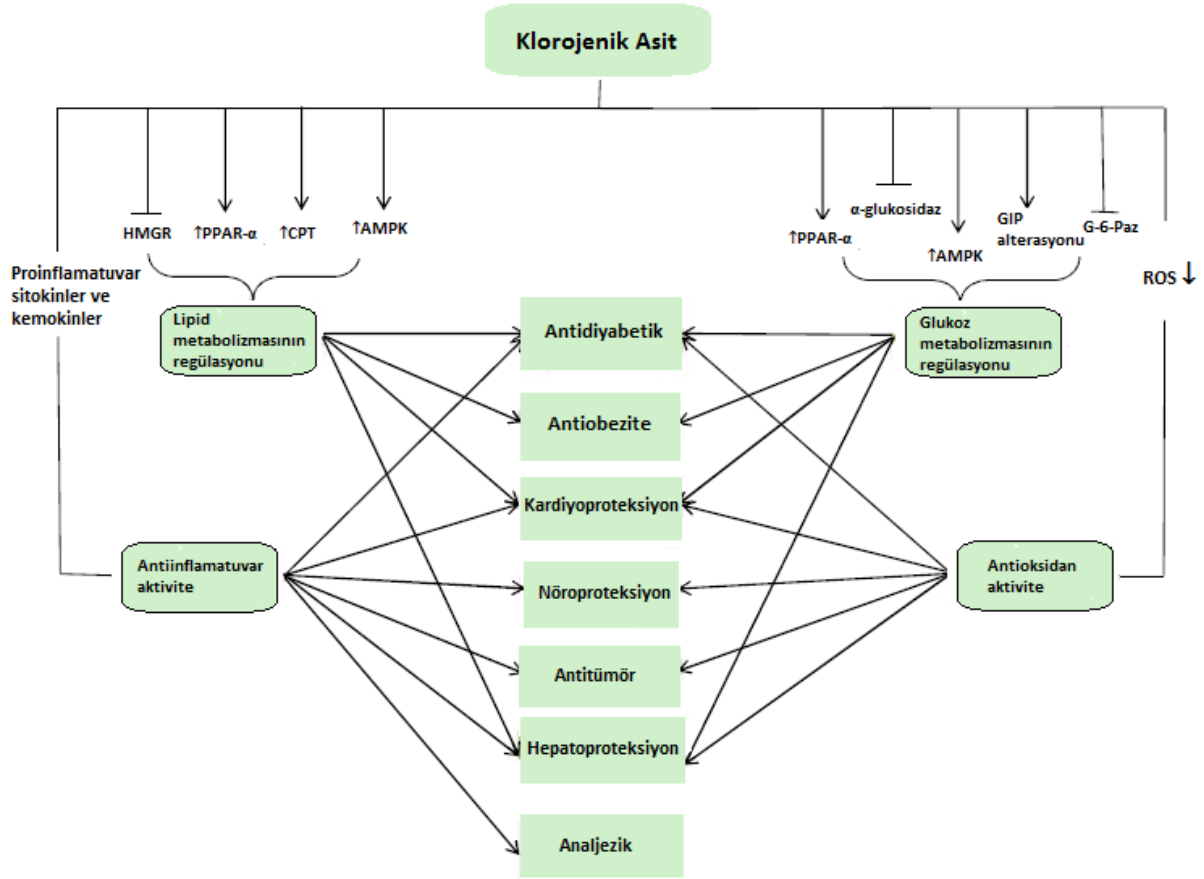
Bitkilerde yaygın olarak bulunduğu, besinlerle alınan başlıca polifenollerden biri olduğu ve birçok sağlığı destekleyici özelliklere sahip olması sebebiyle geniş ölçüde araştırılmış bir moleküldür. CGA besinlerde ve bazı otlarda bulunabilir. Örneğin elma (Tsao, Yang, Young, & Zhu, 2003), enginar (Vereshchagina et al., 2014), betel ağacı (Bhattacharyya, Majhi, Saha, & Mukherjee, 2014), dulavrat otu (Lou, Wang, Zhu, Ma, & Wang, 2011), havuç (Jacobo-Velazquez, Martinez-Hernandez, Del, Cao, & Cisneros-Zevallos, 2011), patlıcan (Niggeweg, Michael, & Martin, 2004), üzüm (Karunanidhi, Thomas, van Belkum, & Neela, 2013), armut (Niggeweg et al., 2004), erik (Niggeweg et al., 2004), patates (Torres-Contreras, Nair, Cisneros-Zevallos, & Jacobo-Velazquez, 2014), çay (Bhattacharyya et al., 2014), tütün yaprakları (Niggeweg et al., 2004), domates (Niggeweg et al., 2004), pelin otu (Fiamegos et al., 2011) içeriklerinde CGA bulunur.



En fazla oranda kahve çekirdeklerinde (Niggeweg et al., 2004) ve yeşil çayda (Graham, 1992) olduğu bilinmektedir. Bir bardak (200 ml) kahvenin 70 ila 350 mg CGA içerdiği bildirilmiştir (Clifford, 1999).

Ayrıca CGA'nın antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri (Liang & Kitts, 2015), antikanser (Belkaid, Currie, Desgagnes, & Annabi, 2006; Yagasaki, Miura, Okauchi, & Furuse, 2000), (Noratto, Porter, Byrne, & Cisneros-Zevallos, 2009), antilipidemik ve antidiyabetik etkileri (Meng, Cao, Feng, Peng, & Hu, 2013), antihipertansif (Zhao, Wang, Ballevre, Luo, & Zhang, 2012), antinörodejeneratif (Aseervatham et al., 2016; K. Lee et al., 2012) aktiviteye sahip olduğu ve öne sürülen etki mekanizmaları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Şekil 2.9). Aynı zamanda klorojenik asit bakteri, mantar, küf, virüs ve amip gibi çok çeşitli mikroorganizmaya karşı da etkili bir moleküldür. Bu açıdan sahip olduğu antimikrobiyal özellikleriyle doğal koruyucu bir madde olarak gıda endüstrisi için de ilgi çekici bir moleküldür (Santana-Galvez et al., 2017).

Klorojenik asit sağlık üzerine geniş perspektifteki yararlı etkileriyle bazı kronik hastalıklarda farmakolojik ya da invazif olmayan bir yaklaşım olarak düşünülebilir. Ancak fizyolojik etki mekanizmalarının doğrulanması için daha çok çalışmaya gerek vardır.



**Şekil 2. 9** Klorojenik asitin sağlık ve fizyolojik sistemler üzerinde varsayılan etkileri ve etki mekanizmaları. HMGR: 3-hidroksi-3-metil glutaril koenzim A redüktaz, PPAR-α: peroksizom proliferatör aktive edici reseptör α, CPT: karnitin palmitoil transferaz, AMPK: AMP-aktive edici protein kinaz, GIP: glukoz bağımlı insülinotropik peptid, G-6-Paz: glukoz-6-fosfataz, ROS: reaktif oksijen bileşikleri (Tajik, Tajik, Mack, & Enck, 2017)

### 2.3.2 Klorojenik asitin analjezik etkileri

Tıbbi bitkiler dünya çapında geleneksel tıpta ağırlı durumlar için kullanılmaktadır. Daha az yan etki gösteren daha yeni analjezik ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle terapötik ilaçların gelişiminde doğal ürünlerin kullanılması ön plandadır (Calixto et al., 2000). Fenolik bileşiklerin antinosiseptif etkilerinin araştırıldığı çok çeşitli çalışmalar vardır. Tıbbi bitki ve tükettiğimiz besinlerde bulunan doğal fenolikler, kanser ve inflamatuvar, kardiyovasküler veya nörodejeneratif hastalıklar gibi farklı patolojik durumlarda terapötik veya profilaktik rol oynar. Bu biyoaktif bileşiklerin terapötik potansiyellerinin kısmen

antioksidan ve antiinflamatuvar yeteneklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Huang, Cai, & Zhang, 2010; Manach, Scalbert, Morand, Remesy, & Jimenez, 2004; Scalbert, Manach, Morand, Remesy, & Jimenez, 2005).

CGA'nın çeşitli ağrı modellerindeki etkilerini gösteren çalışmalar kısıtlıdır. Diyabetik nöropati modelinde ve deneysel nöropatik ağrı modeli olan kronik konstriktif sinir hasarı modelinde antihiperalezik etkileri gösterilmiştir (Bagdas, Cinkilic, Ozboluk, Ozyigit, & Gurun, 2013; Bagdas, Ozboluk, Cinkilic, & Gurun, 2014). CGA içeren bitkilerden elde edilen ekstraktlarla yapılan ağrı çalışmalarında da ortaya çıkan antinosiseptif etkilerden CGA'nın sorumlu olduğu gösterilmiştir (Gorzalczany et al., 2011; Marrassini, Acevedo, Mino, Ferraro, & Gorzalczany, 2010). Bunun yanında saf olarak kullanılan CGA'nın formalin ağrı testinde antinosiseptif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (M. D. dos Santos, Almeida, Lopes, & de Souza, 2006). Ancak CGA'nın nöropatik ağrı üzerine etkilerini ve altında yatan mekanizmaları inceleyen çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

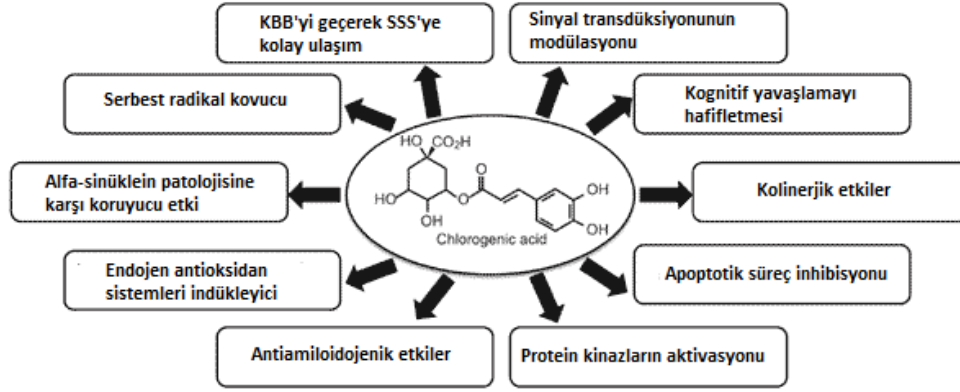
### ***2.3.3 Klorojenik asitin kognitif ve nöroprotektif etkileri***

Antioksidan etkilere sahip klorojenik asit saf halde veya metabolitleri şeklinde kan beyin bariyerini geçebilir (Y. F. Chu et al., 2009; Ito, Sun, Watanabe, Okamoto, & Hatano, 2008; Smith, 2002). Rodentlerle yapılan çeşitli pre-klinik çalışmalarda CGA'nın öğrenme ve belleği geliştirdiği (J. Han, Miyamae, Shigemori, & Isoda, 2010), skopolaminle-indüklenen hafıza bozukluğunu hafiflettiği (Y. J. Jang et al., 2013; Kwon et al., 2010) hafıza bozukluğunu azalttığı (J. Han et al., 2010) gösterilmiştir. Ayrıca anksiyeteyi azalttığı ve motor fonksiyonu arttırdığı (Bouayed, Rammal, Dicko, Younos, & Soulimani, 2007; K. Lee et al., 2012) ve iskemiye bağlı nöronal hasara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (K. Lee et al., 2012). CGA'nın nöroprotektif etkileri altında yatan nörofarmakolojik etki mekanizmaları şekil 2.10'da gösterilmektedir.

Mekanizma üzerine yapılan pre-klinik çalışmalarda farelerden alınan primer kortikal nöron kültüründe glutamata-bağlı hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu inhibe ettiği ve glutamata bağlı hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir (Mikami & Yamazawa, 2015). Mikroglia hücre kültüründe yapılan bir çalışmada hem mRNA hem de protein düzeylerinde toll-like reseptörü 2 ve 9'u

(TLR2, TLR9) artırdığı, TNF-alfa ve IL6 düzeylerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Guo et al., 2015). In vitro f3tal sıçan raphe n3ronlarında yapılan bir çalışmada ise serotonin salıverilmesine neden olduğu ve akson ve dendritlerin b3y3emesini stim3le ettiği g3sterilmiştir (Guo et al., 2015). Farelerde pilokarpin kaynaklı n3betleri azalttığı bunu da lipid peroksidasyonu ve nitrit içeriği azaltarak, NMDA resept3r3 ve metabotropik resept3rlerin (1,5) ekspresyonlarını azaltarak yaptığı d3ř3n3lmektedir (Aseervatham et al., 2016). Sıçan PC12 h3crelerinde etanole bağlı gelişen apoptozu 3nlediği bu etkiye b3y3me ilişkili protein 43 (GAP43) ekspresyonlarını artırıcı, mitokondriyal transmembran potansiyelini d3zenleyici, Bcl-2 ekspresyonunu artırıcı ve kaspaz 3 ekspresyonunun azaltıcı etkilerinin aracılık ettiği d3ř3n3lm3řt3r (Fang et al., 2016).

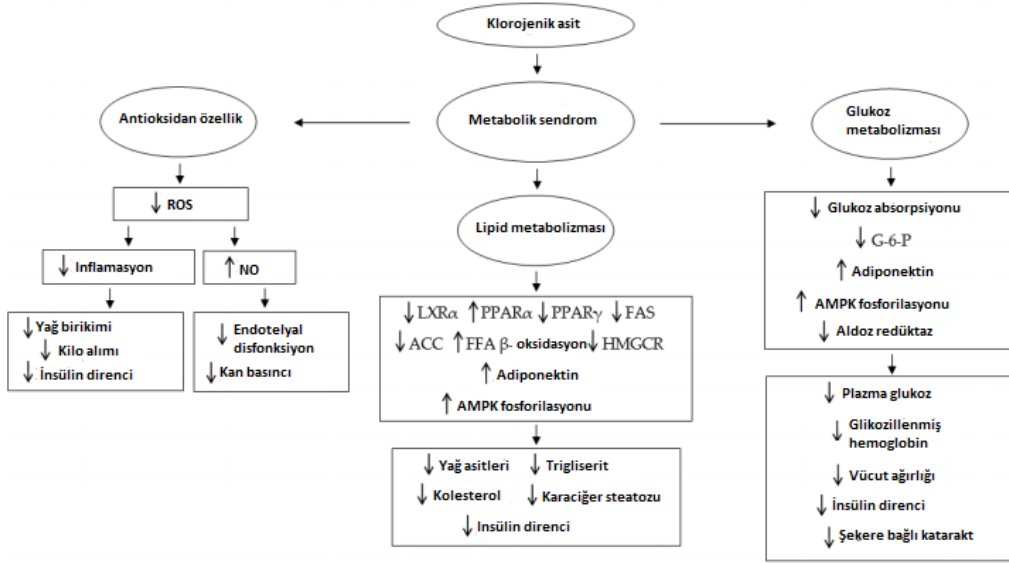
CGA'nın sadece kendisinin değil v3cuda girdikten sonra ortaya çıkan metabolitlerinin de faydalı etkileri bulunmaktadır. Sıçanlarda CGA t3knetimi sonrasında plazma ve idrar 3rneklerinde belirlenen başlıca metabolitleri: kafeik asit, ferulik asit ve aynı zamanda quinik asitin barsak mikroflorası ile metabolizması sonucu açığa çıkan hippurik asittir (Gonthier, Verny, Besson, Remesy, & Scalbert, 2003). Kimyasal yapısı nedeniyle antioksidan 3zelliklere sahip metaboliti kafeik asittir (Rice-Evans, Miller, & Paganga, 1996). Sıçan beyninde yapılan *in vitro* alışmalar her iki fenolik bileşiğin de asetilkolinesteraz aktivitesini ve lipid peroksidasyonu inhibe ettiği dolayısıyla Alzheimer hastalığında yararlı etkileri olabileceği 3ne s3r3lm3řt3r (Oboh, Agunloye, Akinyemi, Ademiluyi, & Adefegha, 2013). Aynı zamanda primer serebellar gran3l n3ron k3lt3r3nde hem CGA hem de kafeik asitin nitroprusside bağlı NO oluşumuna (nitrosatif stres) karşı koruma sağladığı g3sterilmiştir (Taram, Winter, & Linseman, 2016). Parkinson hastalığında alfa-sin3klein terap3tik hedeflerden biri olduğu ve CGA'nın bu molek3le bağlı gelişen sitotoksiteyi azalttığı ve Parkinson tedavisinde koruyucu etkileri olabileceği 3ne s3r3lm3řt3r (Teraoka et al., 2012).



**Şekil 2. 10** Santral sinir sisteminde (SSS) koruyucu etkilerine aracılık eden mekanizmaların özeti (Nabavi et al., 2017).

### **2.3.4 Klorojenik asitin metabolik etkileri**

CGA'nın metabolik sendromdaki etkileri genel olarak antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle bağlantılıdır. Yağ hücrelerinde meydana gelen oksidatif stress obezite ile ilişkili metabolik sendromda tetikleyici faktör olduğu öne sürülmüştür (Furukawa et al., 2004). Metabolik sendrom aynı zamanda kronik inflamasyon ilişkilendirilmiştir (Monteiro & Azevedo, 2010). Ma ve arkadaşları obez farelerde yaptıkları araştırmada CGA'nın beslenmeye bağlı obeziteyi ve obezite ile ilişkili metabolik sendromu önlediğini göstermişlerdir (Ma, Gao, & Liu, 2015). CGA'nın metabolik sendromdaki yararlı etkileri şekil 2.11'de özetlenmektedir.



**Şekil 2. 11** Klorojenik asitin metabolik sendromdaki etki mekanizması (ACC: asetil-KoA karboksilaz, AMPK: AMP ile aktive protein kinaz, FAS: yağ asit sentaz, FFA: serbest yağ asidi, G-6-P: glukoz-6-fosfataz, HMGCR: 3-hidroksi-3-metilglutaril KoA redüktaz, LXRα: karaciğer X reseptör α, NO: nitrik oksit, PPARα: peroksizom proliferatör-aktive reseptör α, PPARγ: peroksizom proliferatör aktive reseptör γ, ROS: reaktif oksijen bileşikleri. (Santana-Galvez et al., 2017).

## 2.4 Nitrik Oksit Yolağı ve Periferik Nöropatideki Rolü

Nitrik oksit (NO) vücutta çeşitli biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir serbest radikal gaz transmitterdir. 1980'lerde vazoaaktif küçük bir molekül olarak tanımlanmasından sonra NO vasküler gevşetici fonksiyona sahip olmasıyla ve antitrombotik/antiinflammatuar etkileri dolayısıyla kardiyovasküler etkileri özellikle dikkat çekmiştir (Ignarro, Buga, Wood, Byrns, & Chaudhuri, 1987; Ignarro, Napoli, & Loscalzo, 2002). Oysa kan akışının regülasyonuna ek olarak NO, nörotransmisyon, immün sistem cevabının fasilasyonu ve antipatojenik cevap gibi diğer fizyolojik fonksiyonlarda da yer aldığı bilinmektedir (D. A. Geller & Billiar, 1998; Quinn, Petros, & Vallance, 1995).

Normal fizyolojik şartlarda hücrelerde NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla l-argininin l-sitruline dönüştürülmesinden üretilir. NOS enziminin 3

izoformu vardır: nöronal NO sentaz (nNOS, NOS1), indüklenbilir NO sentaz (iNOS, NOS2) ve endotelial NO sentaz (eNOS, NOS3) (Alderton, Cooper, & Knowles, 2001; D. A. Geller & Billiar, 1998). Konstitütif NOS (cNOS) hem nNOS hem de eNOS'u içerir ve aktive edildiğinde sadece saniyeler/dakikalar içinde nanomolar konsantrasyondaki NO üretimine yol açar. Öte yandan indüklenbilir bir izoform olan iNOS mikromolar aralıkta ve saatler veya günler gibi daha uzun aralıklarla daha yüksek miktarlarda NO üretir (Michel & Feron, 1997). cNOS'a katkıda bulunan her iki üyenin aktiviteleri artan kalsiyum iyon konsantrasyonuna bağlıdır, oysaki iNOS kalsiyumdan bağımsız aktivite gösterir. Genel olarak bir dokudaki iNOS düzeyi aynı zamanda o dokuda veya çevresinde üretilen NO düzeyinin bir ölçüsüdür (Alderton et al., 2001). nNOS ve eNOS enzim aktivitesinin posttranslasyonel regülasyonu ile konstitütif yapıdayken iNOS belli bir uyarıya (örn sitokinler) cevap olarak üretilir. nNOS ve iNOS sitozolik enzimlerdir, eNOS ise membrana bağlıdır. Her bir NOS enziminin nosisepsiyona katkısı, periferik inflamasyonun spinal korddaki 3 NOS enzimini de modüle etmesi sebebiyle patolojik ağrı durumunun ilerlemesine bağlı olarak değişir (Y. C. Chu et al., 2005).

NO bir radikal olmasına rağmen, kimyasal ve fiziksel özellikleri onun hem oksidan hem de antioksidan etkilerine yol açar. NO'nun oksidan ya da antioksidan etkilerinin lokal doku çevresine bağlı olduğu düşünülmektedir. Eğer çevresinde oksidan yük düşükse NO'nun yüksek reaktif özellikleri moleküle oksidan özellikler kazandırır. Ancak oksidan yük fazla olduğunda (örn astım ya da ARDS gibi durumlarda), NO'nun superoksit ve diğer reaktif oksijen bileşiklerini süpürerek antioksidan role sahip olduğu öne sürülmüştür (Dweik, 2005).

NO ağrı, kanser gibi birçok patolojik durumda ikili etkilere sahiptir. Hücre içindeki kararlı durum NO konsantrasyonu 3 NOS enziminden enzimatik sentezi ve çeşitli metabolik yollarla yıkılması arasındaki dengeye bağlıdır ve doku oksijen konsantrasyonuna güçlü bir bağlılık gösterir (Hickok, Vasudevan, Jablonski, & Thomas, 2013). Düşük konsantrasyonlarda (10-150 nM) NO hücre içi ve hücreler arası düzenleyici molekül olarak etki eder, nöronal farklılaşma, nöronal sağkalım, nöroproteksiyon, vasküler homeostaz, vazodilatasyon gibi çeşitli

fizyolojik fonksiyonlarda rol oynar (Vallance & Leiper, 2002). Diğer taraftan yüksek düzeylerde (300 nM) nörotoksisite ve patolojik ağrı gibi patolojik ve patofizyolojik olaylarda sitotoksik bir molekül gibi davranır (M. R. Hara & Snyder, 2007).

NO beyinde nöronal hastalık, spinal kord hasarı, nöropatik ağrı gibi patolojik durumlara katkıda bulunarak bir nörotransmitter ya da hücreler arası haberci molekül olarak görev yapar (Chun, Auh, Lee, & Ro, 2012). NO'nun etkileri direkt ya da indirekt olabilir. Direkt etkileri solubl guanilil siklaz (GC-S) aktivasyonu ile ikinci haberci siklik guanozin monofosfat (sGMP) üretimi ve iyon kanallarının direkt aktivasyonu ile ortaya çıkar. İndirekt etkilerine ise yapıcı sitotoksik olan oksidatif ve nitrosatif stres aracılık eder (Carvajal, Germain, Huidobro-Toro, & Weiner, 2000). Nitrosatif stres karsinojenik potansiyele sahip nitrozaminlerin üretiminden sorumludur ve lipidleri, proteinleri ve DNA'yı hasarlandırarak moleküler, hücresel ve doku düzeyinde multipl disfonksiyona neden olur (Antosova, Plevkova, Strapkova, & Buday, 2012). NO düz kas hücrelerinin gevşetilmesi, endotel geçirgenliğinin etkisi, kardiyak koruma, nöronal plastisite, bilişsel fonksiyonların iyileştirilmesi ve diğerleri gibi çeşitli biyolojik olaylarda rol oynar. NO, eksitator amino asitlerin (aspartat, glutamat) serbest kalmasına aracılık eden NMDA reseptörleri yoluyla sinaptik transmisyonu kuvvetlendirme yeteneğine sahiptir. Patolojik durumlarda nitrik oksit nöronal hasardan sorumludur ve nörodejeneratif hastalıklarda rol oynar (Calabrese et al., 2007).

NO inflamasyon ve hasarlanmadan kaynaklanan nosisepsiyonda da önemli bir role sahiptir. Hem hiperaljezik etkiye hem de analjezik etkiye yol açabilir. Periferik sinir hasarı ya da inflamasyon sonrasında DRG'lerde nNOS eksprese eden hücre sayısında artış olduğu gösterilmiştir (Levy & Zochodne, 2004). NO'nun aşırı üretilmesi nöropatik ağrı patofizyolojisiyle bağlantılı gösterilmiştir (Ahlawat, Rana, Goyal, & Sharma, 2014; Mukherjee, Cinelli, Kang, & Silverman, 2014; Zhou et al., 2015). Sisplatin injeksiyonu sonrası indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) mRNA düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir (Hu et al., 2018). Memeli sinir liflerinin fosfolipid ve aksonal mitokondri açısından zengin olması sebebiyle



serbest radikaller olan reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen bileşiklerinin etkisine daha duyarlıdır (Areti et al., 2014). Hidroksil ve süperoksit ( $O_2^-$ ) ve nitrik oksit (NO) nöropatik ağrı fizyopatolojisinde yer aldığı belirtilmiştir (Kawaguchi, Satoh, Otsubo, & Kazama, 2014).

Sonuç olarak önemli kemoterapötik ajanlardan biri olan CIS'in neden olduğu PN ilacın kullanımını sınırlandırmaktadır ve klinikte de bu yan etkinin etkili bir tedavisi bulunmamaktadır. Çalışmamızda CIS uygulanan sıçanlarda oluşan PN modelinde güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle öne çıkan CGA'nın PN'ye bir katkısının olup olmadığı, katkı sağlıyorsa bu etkide NO'nun bir etkisinin olup olmadığı kapsamlı bir şekilde ele alınmıştır. CGA'nın potansiyel sitoprotektif etkileri primer DRG hücre kültüründe, antihiperaljezik etkileri akut uygulamayla tek doz ve sisplatinle eş zamanlı olarak kronik uygulanmasıyla değerlendirilmiştir.

### 3 GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmanın yapılabilmesi için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (Etik kurul no: 543-1/2017).

#### 3.1 Hayvanlar

Akut çalışmada, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, 32 adet erkek sıçan, kronik çalışmada ağırlıkları 250-300 g arasında değişen 56 erkek sıçan kullanılmıştır. *In vitro* değerlendirmeler için de 10 dişi gebenin 1 günlük yavruları kullanılmıştır.

Hayvanlar Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş ve bir haftalık adaptasyon süresi boyunca sıcaklık kontrolü sağlanan odada (22-23 °C) 12 saat aydınlık/karanlık döngüde, yeme ve suya erişimleri serbest olacak şekilde barındırılmıştır. Davranış deneyleri her gün saat 9:00-14:00 arasında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2 İlaçlar

Sisplatin (CIS, 3 mg/kg) (Cisplatin, Sigma); Klorojenik Asit (CGA, 50,100 ve 200 mg/kg) (Chlorogenic Acid, Sigma); L-ARG (10 mg/kg) (L-Arjinin, Sigma), L-NAME (10 mg/kg) (L- nitro-arjinin metil ester hidroklorür, Sigma). CIS ve CGA 0,5:9,5 DMSO:SF, LARG ve LNAME serum fizyolojik (SF) içerisinde çözülmüştür. Tüm ilaçlar hayvanlara intraperitoneal (ip) olarak verildi. Sıçanlarda nefrotoksisite gelişimini engellemek amacıyla sisplatinle eş zamanlı olarak i.p 2 ml salin uygulanmıştır.

#### 3.3 Sisplatinle İndüklenen Nöropatik Ağrı Deney Modeli

CIS ile indüklenen nöropatik ağrı modeli olarak Han ve arkadaşlarının literatürde belirttiği model esas alındı (F. Y. Han, Wyse, & Smith, 2014). Sıçanlara, 5 hafta boyunca haftada bir kez ip olarak 3 mg/kg CIS uygulandı. Kontrol grubuna benzer şekilde SF verildi. CIS uygulamasına bağlı olarak sıçanlarda nefrotoksisite gelişimini engellemek için CIS injeksiyonuyla eş zamanlı olarak 2 ml ip SF uygulandı.

Nöropatik ağrı gelişimini, motor fonksiyonu ve tedavi ajanlarının etkilerini değerlendirmek için nöropatik ağrı testleri olarak dinamik plantar testi, termal

hiperaljezi testi, soğuk plaka testi, kuyruk sıkıştırma testi kullanılmıştır. Motor performans aktivitemetre ve motor koordinasyon ise rotarod testiyle değerlendirilmiştir. PN'nin bir diğer değerlendirmesi genellikle siyatik sinir ligasyonu modellerinde kullanılan ve siyatik fonksiyon indeksinin hesaplandığı “ayak izi analizi” ya da “yürüyüş yolu analizi” de uygulanmıştır.

İlaç injeksiyon protokolüne başlamadan önce bazal ölçümler alınmıştır. Akut ve kronik deneylerde ilaç injeksiyon protokolüne başladıktan sonra her ilaç injeksiyonundan sonraki 6. günde testler gerçekleştirilmiştir.

### **3.4 Deney Grupları**

#### ***3.4.1 Akut deney grupları***

**G1:** CIS nöropati grubu, 5 hafta boyunca haftada 1 kez 3 mg/kg CIS + 2 ml SF

**G2:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1,3 mg/kg+2 ml SF+CGA50mg/kg (Tek doz)

**G3:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1,3 mg/kg+2 ml SF+CGA100mg/kg (Tek doz)

**G4:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1,3 mg/kg+2 ml SF+CGA200mg/kg (Tek doz)

Akut deneylerde CGA 100 mg/kg dozu optimum etkili doz olarak belirlenerek kronik deneylere bu doz ile devam edilmiştir.

#### ***3.4.2 Kronik deney grupları***

**G5:** Kontrol, DMSO:SF 0.5:9.5 ml

**G6:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF

**G7:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF + CGA100 mg/kg (optimum doz, kronik)

**G8:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF + CGA100 mg/kg + L-ARG 10 mg/kg

**G9:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF + CGA100 mg/kg + L-NAME 10 mg/kg

**G10:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF + L-ARG 10 mg/kg

**G11:** CIS 5 hafta boyunca haftada 1, 3 mg/kg + 2 ml SF + L-NAME 10 mg/kg

**Tablo 3. 1** Kronik deneylerde uygulanan testler ve uygulama günleri

	Mekanik Allodini	Termal Hiperaleji	Kuyruk Sıkıştırma	Soğuk Allodini	Aktivite Metre	Rota rod	Ayak izi analizi
<b><i>Alıştırma Haftası</i></b>							
<b>Bazal ölçümler</b> 0.gün	X	X	X	X	X	X	
<b>1.hafta</b> 1.gün injeksiyon 7.gün ölçüm	X	X	X	X	X	X	X
<b>2. hafta</b> 8.gün injeksiyon 14.gün ölçüm	X	X	X	X	X	X	
<b>3. hafta</b> 15.gün injeksiyon 21.gün ölçüm	X	X	X	X	X	X	X
<b>4.hafta</b> 22.gün injeksiyon 28.gün ölçüm	X	X	X	X	X	X	
<b>5.hafta</b> 29.gün injeksiyon 35.gün ölçüm	X	X	X	X	X	X	X

### 3.5 Davranış Testleri

Davranış deneyleri, her gün aynı saatte ve tek bir gözlemci tarafından gerçekleştirilmiştir.

### 3.6 Deney Tasarımı

Çalışma üç aşamada gerçekleştirildi. İlk aşamada, CIS'in neden olduğu nörotoksisite 1 günlük yavru sıçanlardan hazırlanan primer DRG hücrelerinde değerlendirildi. Sonrasında CGA'nın sitoprotektif etkisi incelenmiştir. İkinci

aşamada CGA'nın olası akut antinosisseptif etkisi CIS ile nöropati oluştuktan sonra tek doz CGA uygulaması sonrası 1. ve 3. saatlerde yapılan termal hiperaljezi, mekanik allodini, kuyruk sıkıştırma (tail clip), soğuk allodini ve aktivitemetre testleriyle değerlendirildi. Üçüncü aşamada ise CGA'nın etkili olduğu optimum doz 100 mg/kg olarak belirlendi ve kronik olarak CIS ile eş zamanlı uygulanarak CGA'nın koruyucu etkisi termal hiperaljezi, mekanik allodini, kuyruk sıkıştırma (tail clip) ve soğuk allodini testleriyle, motor koordinasyon üzerine etkileri rota rod testi ve ayak izi analizi ile, motor performans üzerine etkileri ise aktivitemetre testiyle değerlendirilmiştir.

Kronik deneylerde son CIS injeksiyonundan 2 hafta sonra sıçanlardan serum örnekleri alındı ve ketamin (60-80 mg/kg)+ksilazin (10-15 mg/kg) anestezisi altında sıçanların kalbinden alınan kanlardan serum örnekleri alındı ve sonrasında paraformaldehit ile intrakardiyak perfüzyon yapıldı. Bu 2 haftalık süreç boyunca hayvanlara ilaç uygulanmamıştır. Bu süre yapısal değişikliklerin görülmesi için gereken zaman olarak belirtilmiştir (Wongtawatchai, Agthong, Kaewsema, & Chentanez, 2012). Sıçanlardan karaciğer, böbrek, siyatik sinir ve dorsal kök ganglionları toplanarak histolojik olarak değerlendirmeleri yapılan kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

### ***3.6.1 Klorojenik Asitin Sitoprotektif Etkisinin Değerlendirilmesi***

Bir günlük yavru sıçanların hayatına dekapitasyon yöntemiyle son verildikten sonra DRG'ler izole edildi. Daha önceki çalışmalarımızda kullandığımız protokol aşağıdaki şekilde uygulanmıştır (Donertas et al., 2018; Erol, Yigitaslan, Unel, Kaygisiz, & Yildirim, 2016).

- İzole edilen DRG'ler 5 ml'lik kalsiyum magnezyum içermeyen Hank's dengeli tuz çözeltisine kondu.
- Sterilizasyonu sağlamak amacıyla hücreler 2 kez santrifüj işlemi gerçekleştirilip besiyeri solüsyonları değiştirilerek yıkanmaları sağlandı.
- En son yıkama işleminden sonra 5 ml'lik Hank's çözeltisi üzerine 2 ml tripsin-EDTA eklendi. Bu şekilde DRG'ler 37°C'de 40 dakika inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

- Süre bitiminde tüp içine tripsin etkisini sonlandırmak amacıyla içerdiği HBSS miktarı kadar DMEM (Dulbecco's (5 ml) eklendi. Tripsini inhibe etmek için tripsin hacminin en az iki katı kadar %10 FBS'li besiyeri kullanıldı.
- Hücreleri tripsinden arındırılmasını sağlamak amacıyla 2 kez 1000 devirde 5 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Her seferde supernatantlar boşaltılarak hücreler üzerine 5 ml DMEM çözeltisi eklendi ve son santrifüj işleminden sonra hücreler tripsinden arındırılmış oldu.
- Daha sonrasında hücrelerin mekanik olarak da ayrışmasını sağlamak amacıyla tüp içerisinde hücrelere zarar vermemek için uçları bek alevinde hafif yuvarlatılmış bir pastör pipet yardımıyla 5 dakika süresince tritürasyon işlemi gerçekleştirildi.
- Daha önceden poly-d-lizin ile kaplanmış olan kültür flasklarına hücreler alınarak yüzeye yapışmaları sağlandı.
- Kültür flaskları 37°C, nemlendirilmiş %95 hava ve %5 CO<sub>2</sub> koşullarını sağlayan inkübatöre alındı.
- Ekim işlemi gerçekleştirildikten 30 dakika sonra kültür ortamını yapışmayan hücrelerden arındırmak amacıyla flasklardaki DMEM çözeltisi boşaltıldı ve yapışan hücreler üzerine yeni DMEM (5ml) çözeltisi eklendi.
- Besiyerleri haftada 2 kez değiştirildi.
- DRG hücreleri toplam 8 günlük in vitro inkübasyon sonunda hücreler 96 kuyucuklu plakaya her kuyucukta yaklaşık 5-10x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde ekilmiştir. 1 gece hücrelerin kuyucuk tabanlarına tutunmaları için beklendikten sonra ilaçlar uygulanmıştır.
- CIS daha önceki çalışmamızda belirlenen submaksimal konsantrasyonda (200 µM) uygulanmıştır (Donertas et al., 2018). CGA ise 250-1000 µM konsantrasyonlarda uygulanmıştır. NO etkisini değerlendirmek için LARG ve LNAME ise 100 µM konsantrasyonda hücre kültürüne eklenmiştir (Marks, Boriboun, & Wang, 2005).

- 10. günde sonuçlar MTT testi ile değerlendirilmiştir.

#### *MTT sitotoksosite testi*

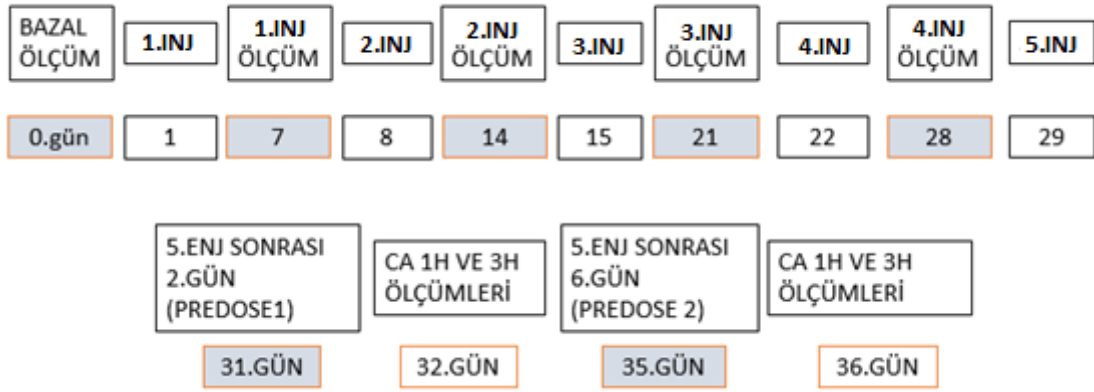
MTT (3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür) testi MTT boyasının yaşayan hücrelerin mitokondrileri tarafından formazan kristallerine dönüştürülmesi esasına dayanır. Birçok hücre popülasyonu için total mitokondriyal aktivite canlı hücre sayısı ile ilişkilendirilir. Dolayısıyla canlı hücreler renk reaksiyonu vererek ölü hücrelerden ayrılır.

Çalışmada MTT 5 mg/ml konsantrasyon olacak şekilde Hank's dengeli tuz çözeltisinde çözüldükten sonra steril filtreden geçirildi. Çalışmanın son gününde (10.gün) 10 µl MTT mikroparka kuyucuklarına uygulandı ve karbondioksitli inkübatörde 4 saat bekletildi. Dört saatlik inkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki besiyerleri boşaltıldıktan sonra 150 µl DMSO eklendi ve ELISA okuyucuda 540 nm'de sonuçlar elde edildi. Elde edilen verilerin yüzde hücre canlılığı değerleri her grup için kendi mikroparkasında yer alan kontrol ortalamasına göre hesaplanmıştır. Yüzde hücre canlılığı aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır. (Aşağıdaki denkleme n sayısı absorbans değerini ve  $k_{ort}$  ise ortalama kontrol absorbans değerini simgeler.)

$$\%Hücre\ canlılığı = (n/n_{k_{ort}}) * 100$$

#### **3.6.2 Akut deneyler**

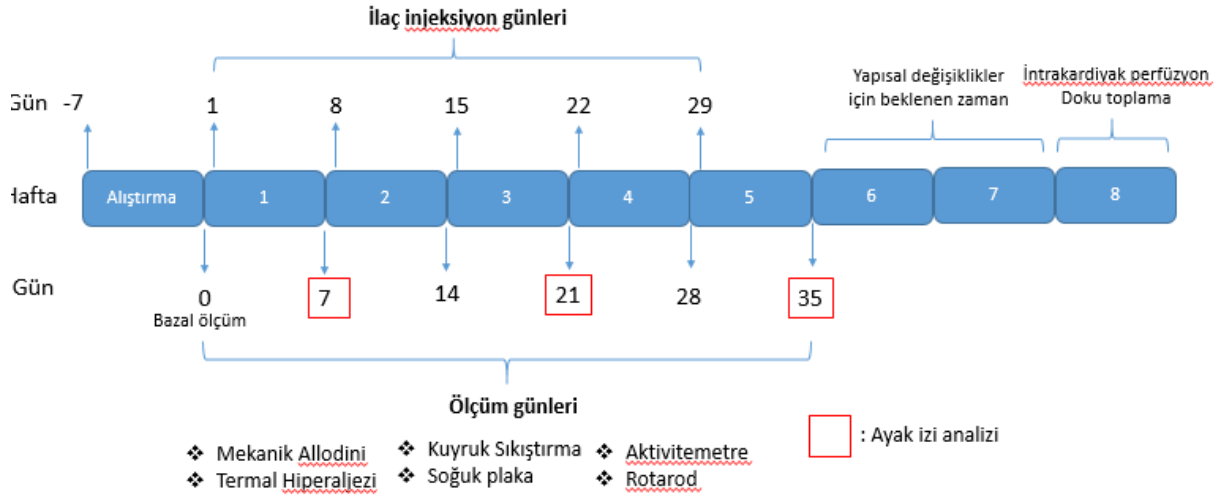
Bütün gruplara 5 hafta boyunca haftada 1 sadece CIS uygulaması yapılmıştır. Ölçümler her ilaç injeksiyonunu takiben 6.günde yapılmıştır. Deneyin 29.gününde uygulanan son sisplatin injeksiyonundan sonra 32.gün ve 36.günde tek doz CGA uygulanarak 1. saatte ve 3. saatteki ölçümler değerlendirilmiştir. CGA uygulamasından bir gün önce yapılan pre-doza ölçümleriyle karşılaştırılmıştır (31. ve 35. günlerde). Protokol ayrıntılı şekilde aşağıda gösterilmektedir (Şekil 3.1). Akut deney ölçümlerinde mekanik allodini, termal hiperaljezi, kuyruk çekme latensi ve soğuk allodini değerlendirilmiştir. Motor performanstaki etki ise aktivitemetre testiyle değerlendirilmiştir.



Şekil 3. 1 Akut Deneysel Protokolü (CA: Klorojenik asit)

### 3.6.3 Kronik deneyler

Kronik deneylerde yapılan bütün ilaç uygulamaları CIS ile eş zamanlı uygulanmıştır. Her ilaç enjeksiyonunu takiben 6.günde ölçümler yapılmıştır. Son ilaç uygulaması (5.hafta 29.gün) sonrasında 2 haftalık periyod ilaçsız dönem olarak geçirilmiştir. Sekizinci haftada sıçanların kalbinden kan örnekleri alındıktan sonra intrakardiyak perfüzyon yapılarak periferik dokular toplanmıştır (Şekil 3.2).

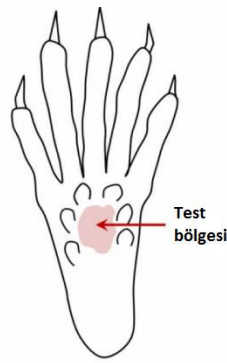
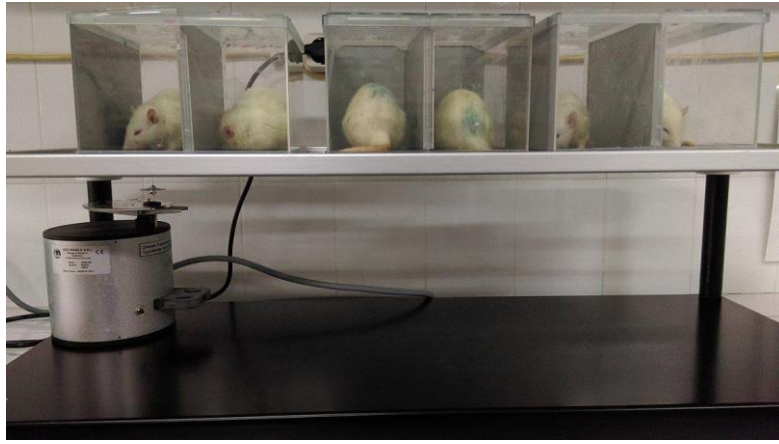


Şekil 3. 2 Kronik deney protokolü

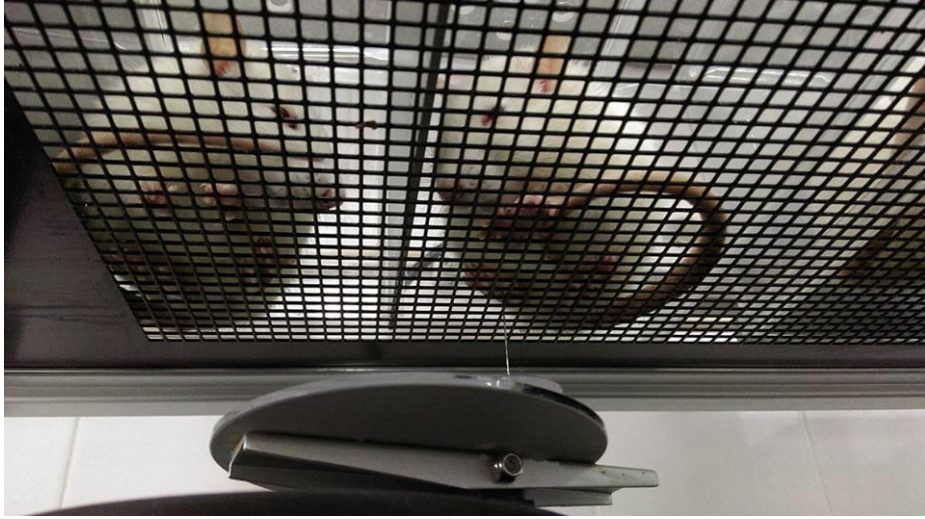


### 3.6.3.1 Mekanik allodini

Allodini değerlendirmesi öncesinde hayvanlar, altı tel örgülü kabinlere 30 dakika boyunca konulmak suretiyle alışmaları sağlandı. Mekanik allodini elektronik Dinamik Plantar *Aesthesiometer* (Ugo Basile S.R.L. 37400-002, İtalya) kullanılarak değerlendirildi (Sandkuhler, 2009). *Aesthesiometer*'in çapı 0,5 mm olan sivri ucu, dik olarak artan bir kuvvet ile (20 saniyede 0-50 g) hayvanların sağ arka pençesinin orta plantar yüzeyine uygulandı. Mekanik allodininde pençe çekme gecikmesi (latensi) olarak tanımlanan durum, dinamik plantarın cihazındaki sivri ucunun peneye değmesiyle penenin geri çekilmesi arasında geçen süre olarak tanımlandı. Bu zaman elektronik *aesthesiometer* ile tespit edilmiştir. Buna göre pençe geri çekilme eşiği mN (mili newton) ve latensi saniye olarak kaydedildi (şekil 3.3 ve 3.4).



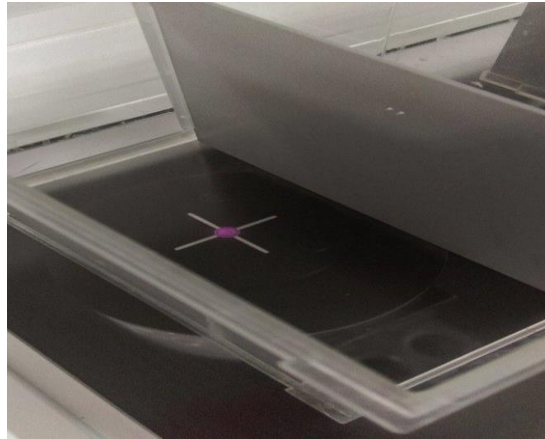
**şekil 3. 3** Dinamik plantar test düzeneği ve testin uygulandığı arka pençe plantar yüzeyi



**Şekil 3. 4** Dinamik plantar test düzeneği

### **3.6.3.2 Termal hiperaljezi**

Termal hiperaljezi ölçümü için termal plantar testi cihazı (Commat, Ankara, Türkiye) ile hayvanların sağ arka pençesinin orta plantar yüzeyine radyan ısı uygulanarak termal nosiseptif eşik ölçüldü (Sandkuhler, 2009). Sıçanlar, ölçümlere başlamadan 30 dakika önce cam tabana sahip olan kabinlere yerleştirilerek ortama alışmaları sağlandı. Pençe çekme latensi, radyan ısının ilk uygulandığı andan pençenin geri çekilmesine kadar geçen süre olarak tanımlandı. Bu süre, kullanılan cihazın fotoseli ve zamanlayıcısı ile tespit edildi. Hayvanların pençelerinde oluşacak olası doku hasarına karşı sınır değer 20 saniye olarak seçildi (Şekil 3.5).



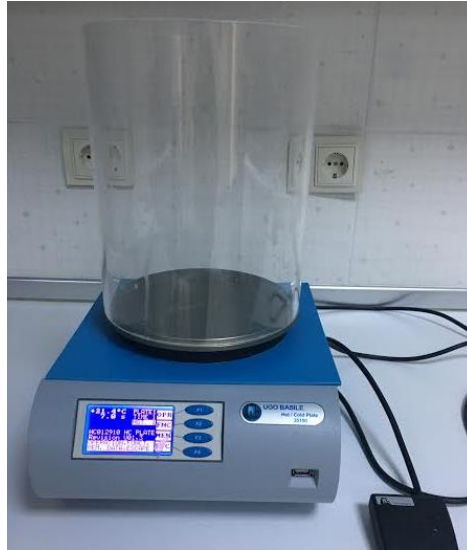
**Şekil 3. 5** Termal hiperaljezi testi düzeneği

### **3.6.3.3 Kuyruk sıkıştırma (tail clip) testi**

Sıçanlarda mekanik uyarıya karşı duyarlılığı değerlendirmek amacıyla tail clip testi kullanıldı (Bhadoriya, Mishra, Raut, Ganeshpurkar, & Jain, 2012). Sıçanların kuyrukları, kuyruk ucundan 1 cm yukarıdan bir *bull dog* klipsle sıkıştırıldı. Hayvanların kuyruklarında oluşacak olası doku hasarına karşı sınır değer 20 saniye olarak seçildi. Sıçanların klipsi ısırana kadar geçen süre kaydedildi. *Tail clip* testi, her mekanik allodini ve termal hiperaljezi ölçümleri bittikten sonra gerçekleştirildi.

### **3.6.3.4 Soğuk plaka (cold plate) testi**

Çalışmada sıçanların pençelerinde soğuk allodiniyi değerlendirmek amacıyla soğuk plaka testi uygulandı (Deuis, Dvorakova, & Vetter, 2017). Tüm sıçanlar ölçümden önce adapte olmaları amacıyla soğukta ( $5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) tutuldu, 5 dakikalık adaptasyon süresi sonrasında  $5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki cihazın (Hot/Cold Plate, Ugo Basile, Italy) soğuk plakası üzerine konulan sıçanların pençe çekip, tutma süreleri 3 dakika boyunca gözlemlendi (Şekil 3.6). Pençelerini ilk kaldırdıkları süre latens olarak kaydedildi ve değerlendirilmesi yapıldı.



**Şekil 3. 6** Hot/Cold plate cihazı

### **3.6.3.5 Motor performans testi - Aktivitemetre testi**

Deney hayvanlarının spontan lokomotor aktivitelerini ölçmek için aktivitemetre cihazı kullanıldı. Lökomotor aktivite değerlendirilmesi amacıyla

bilgisayar donanımlı, manyetik sahalı bir aktivite kafesi (50x50x30 cm) kullanıldı (May-AMS 02, Commat, Ankara, Türkiye) (Şekil 3.7). Bu sistem, infrared ışık kaynağını ve bir aktivite ölçeri olarak X ve Y koordinatları üzerindeki dedektörü kullanmaktadır ve başarılı ışık kırılmaları bir aktivite sayısı olarak skorlanmaktadır. Kaşınma, tırmalama ve kazma aktiviteleri gibi tek bir ışık demetini kesen aktiviteler stereotipik aktivite sayısı olarak kaydedilmektedir. Hayvanların aktivite kafesini terk etme çabaları ise ambulatuvar hareket sayısı olarak kaydedilmektedir. Laboratuvar şartlarına alıştırmak amacıyla sıçanlar deney odasına 1 saat önce getirildi. İlaç enjeksiyonundan hemen sonra aktivite kafesine konulan sıçanların stereotipik ve ambulatuvar hareket sayıları 5 dk boyunca izlenmiştir. Çalışmada toplam hareket mesafesi mm değerinden kaydedilmiştir. Grafiklerde toplam hareket mesafesi ve stereotipik hareket yüzdesi değerlendirilmiştir.



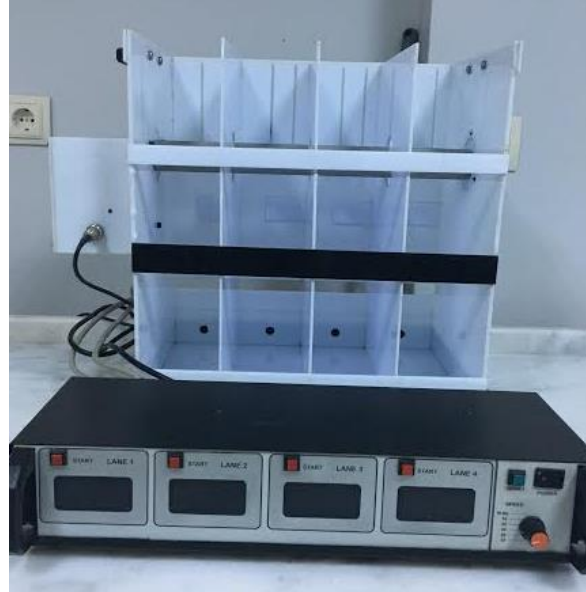
**Şekil 3. 7** Aktivitemetre cihazı

### **3.6.3.6 Rotarod testi**

Deney hayvanlarında motor fonksiyonlardaki bozulmayı değerlendirmek ve denge/motor koordinasyon seviyelerini ölçmek amacıyla rotarod testi kullanıldı. Test için 4 kulvarlı otomatik rotarod ünitesi (MAY RR 0711) kullanılmıştır (Şekil 3.8). Bu cihaz 7,3 cm çapında dönebilen bir mil ve her sıçana özgü bireysel

kompartmentlardan oluşur. İstenen hız ve ivme ayarlanabilir ve kaydedilebilir. Kızılötesi sensörler ile cihazın zeminine düşen sıçan algılanıp, o sıçana ait kulvarın gösterdiği süre cihaz tarafından otomatik olarak sabitlenerek kaydedilir. Dört sıçandan hepsi düşünceye kadar ya da sisteme girilen süre bitinceye kadar sistem çalışmaya devam eder (Carter, Morton, & Dunnett, 2001).

Çalışmaya başlamadan önce sıçanların alıştıırılabilmesi için 3 gün boyunca 15'er dakika 5 rpm'de öğrenme yaptırılmıştır. 3. gün sonunda 300 sn boyunca rotarod üzerinde bütün sıçanlar kalmış ve test aşamasına geçilmiştir. Rotarod testi haftada 1 gün aynı saatte tüm gruplara uygulanmıştır. Test için sıçanlar rotarod üzerine yerleştirilmiş ve 20 rpm'de yürütülerek rotarod üzerinden düşme latensleri kaydedilmiştir. Çalışma 5 dk boyunca gözlenmiştir.



**Şekil 3. 8** Rotarod Testi

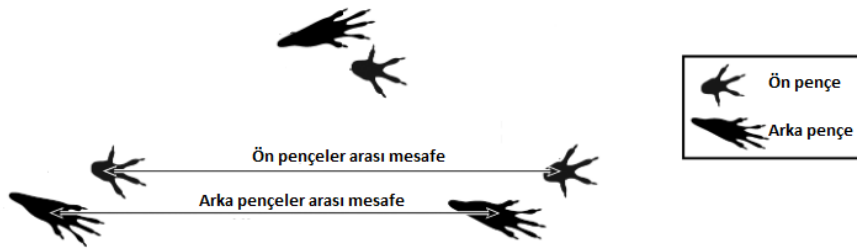
### ***3.6.3.7 Ayak izi analizi***

Yürüyüş/ayak izi analizi sıçanların ayak-izi paternleri (yürüme yolları) kullanılarak yapıldı (Carter et al., 2001). Her hayvanın ön ve arka pençeleri, iki farklı renkli toksik olmayan gıda boyasıyla boyanmıştır ve dar, kağıt kaplı bir koridor boyunca yürüyüp ayak izlerini bırakmalarına izin verildi (Şekil 3.9). Ayak izlerinin kuruması beklendikten sonra arka ayak izleri arasındaki mesafe

ortalamaları kaydedilmiştir (Şekil 3.10). Ayak izi analizi kronik deney protokolünün 1, 3 ve 5. haftalarında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 9 Ayak izi analizi yürüyüş koridoru ve ayak izlerinin görüntüsü



Şekil 3. 10 Ölçümün alındığı arka pençeler arası mesafenin şematik çizimi

### 3.7 İntrakardiyak Perfüzyon ve Periferik Dokuların Toplanması

Kronik deneylerin bitiminde son ilaç enjeksiyonlarından 2 hafta sonra DRG izolasyonu için ketamin (60-80 mg/kg) + ksilazin (10-15 mg/kg) anestezisi altında kardiyak kan alınmasından sonra sıçanlar transkardiyak yolla önce fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonu, sonra da %4'lük paraformaldehid (0,1 M fosfat tamponda [pH=7,4] hazırlanan) solüsyonu ile perfüze edildi (Şekil 3.11).

Mikroskopik inceleme yapıncaya kadar izole edilen DRG ve siyatik sinirler glutaraldehit + fosfat tampon solüsyonunda (PBS) muhafaza edildi. Rutin takip yapılp, yarı ince kesitler alındı. DRG ve siyatik sinirler toluidin mavisi ile boyandı ve ışık mikroskobisiyle değerdendirildi.

Karaciğer ve böbrekler toplanarak tamponlu formol çözeltilisine alındı, böbrek dokuları hemotoksilen-eozinle, karaciğer dokuları ise hemotoksilen-eozin ve mason trikrom ile boyanarak histolojik olarak değerdendirmeleri yapıldı.

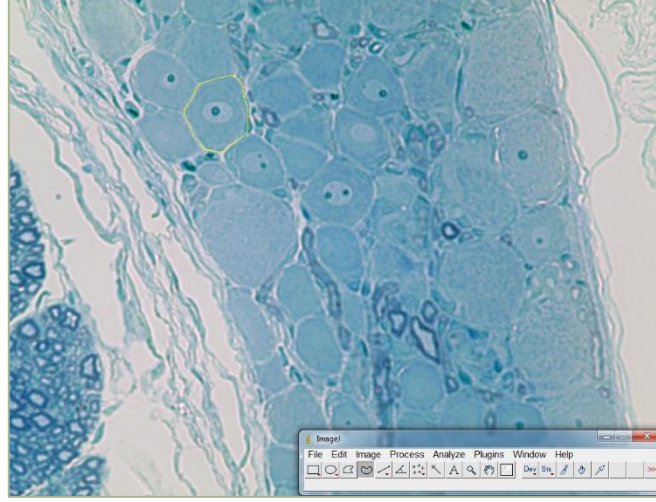


**Şekil 3. 11** DRG'lerin izolasyonu öncesi intrakardiyak perfüzyon

### **3.8 Histopatolojik Değerdendirme**

#### **3.8.1 DRG ve siyatik sinirlerin değerdendirilmesi**

Sağ siyatik sinirler ve toplanan DRG'ler izole edildikten sonra aynı fiksatif solüsyona konmuştur. DRG'ler epon-araldit reçineye gömülmüştür. Mikrotom aracılığıyla 3 farklı bölgeden seri şekilde 700 nm kalnlığındaki yarı-ince kesitler alınmıştır. Sonrasında kesitler toluidin mavisiyle boyanarak ışık mikroskobisi altında değerdendirilmiştir. DRG nöronlarının soma alanları Image J (NIH, Bethesda, MD, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 3.12). Her gruptaki rastgele seçilen 5 hayvandan yaklaşık 100 nöronun alan hesabı yapılmıştır.



**Şekil 3. 12 DRG soma alanlarının Image J analiz programı kullanılarak hesaplanması**

Siyatik sinir doku örnekleri 0,1 M fosfat tamponu içinde %2,5 glutaraldehit solüsyonunda fiksasyon yapılmıştır ve 4°C’de en az 24 saat muhafaza edilmiştir sonrasında fosfat tamponuyla yıkanması sağlanmıştır. Dokularda daha sonra oda sıcaklığında 2 saat boyunca 0,1 M fosfat tamponu içinde osmiyum tetroksitle post-fiksasyon yapılmıştır. Bütün örneklerin seri etil alkol çözeltileri (%30, %50, %70, %90, %96 ve %100) kullanılarak dehidrasyonları sağlanmıştır. Bu örnekler de epon-araldit reçineye gömülmüştür. Yarı-ince kesitler (700 nm) toluidin mavisiyle boyanmıştır. Kesitlerin ışık mikroskobu (Olympus BX50) kullanılarak histolojik değerlendirmeleri yapılmıştır. Dejenere aksonlar 2 kritere göre belirlenmiştir: miyelin birikintileri oluşumu ve aksonlardaki dejenerasyon (Özatic O, 2016).

### ***3.8.2 Böbrek ve karaciğer dokularının değerlendirilmesi***

Böbrek ve karaciğer dokularından rotary mikrotom (RM 2135, Leica) aracılığı ile 5 µm’lik parafin kesitler alınmıştır. Deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C’lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30’ar dakika iki değişim ksilen ile muamele edildi. Ardından rehidratasyon işlemi için %95’den %60’a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akan su altında yıkandı. Kesitler 3 dakika hematoxilen ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akan suda yıkanan kesitlerin 30 saniye eozin ile boyanmaları sağlandı. Aynı şekilde 5 dakika akan su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95’lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma



amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı. Işık Mikroskobu altında (Zeiss Axiovision) her bir gruba ait kesitler kör 2 histolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi. Böbrek hasarı tübüler nekroz, tübüler vakuoler değişiklikler, hemoraji ve tübüler dilatasyon şiddet ve yaygınlığı dikkate alınarak incelendi. Her bir kesit 0-4 arasında skorlandı (0: hasar yok, 1: minimal hasar ( $\leq$  % 5), 2: orta derecede hasar (% 5-25), 3: yaygın hasar (% 25-75), 4: şiddetli hasar ( $\geq$  %75).

### **3.9 Biyokimyasal Değerlendirmeler**

#### ***3.9.1 Serumların ayrıştırılması ve çalışılması***

Kardiyak perfüzyon uygulamasından hemen önce hayvanların kalplerinden alınan kan örnekleri EDTA (etilendiamin tetra asetik asit) içeren tüplere alınıp buz içerisinde santifüje götürüldü ve 20 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Deney tüplerine alınan plazma örnekleri kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı. IL-19, TNF- $\alpha$ , GSH, NGF (sinir büyüme faktörü) düzeyleri, rat ELISA kiti ile kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar, Biotek ELx800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu.

### **3.10 İstatistiksel Analiz**

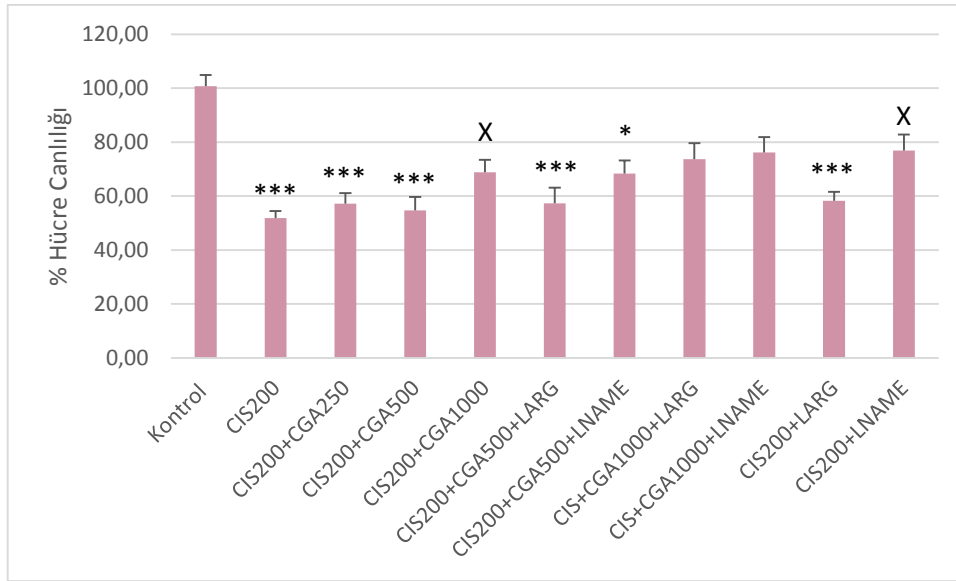
Deney gruplarından elde edilen veriler SPSS 21.0 ve Sigma STAT istatistik programları kullanılarak analiz edilmiştir. *In vitro* değerlendirmede Kruskal Wallis ve ileri karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanılmıştır. Ağrı deneylerinde, motor performans ve motor koordinasyon deneylerinde verilerin analizinde iki yönlü varyans analizi ve ileri karşılaştırma testi olarak Tukey kullanılmıştır. DRG nöron soma alanı – frekans histogramında ve böbrek kesitlerinin patolojik skorlamasında Kruskal Wallis testi ve ileri karşılaştırma olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir.  $P < 0,05$  anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Klorojenik Asitin Sitoprotektif Etkilerinin

#### Değerlendirilmesi

CIS önceki çalışmamızda belirlediğimiz submaximum nörotoksik konsantrasyonda (200  $\mu\text{M}$ ) primer DRG hücre kültürüne uygulanmıştır (Donertas et al., 2018). CIS kontrole göre anlamlı şekilde hücre canlılığını azaltmıştır. CGA düşük konsantrasyonda (250-500  $\mu\text{M}$ ) CIS'dan farklı olmayıp ancak yüksek konsantrasyonda (1000  $\mu\text{M}$ ) CIS'a göre sitoprotektif olduğu bulunmuştur. L-ARG (100  $\mu\text{M}$ ) veya L-NAME'in (100  $\mu\text{M}$ ) CGA'nın 1000  $\mu\text{M}$  konsantrasyonu ile kombine uygulanan gruplarda anlamlılık bulunmamıştır. CIS ile beraber verilen L-ARG kontrole göre anlamlı şekilde hücre canlılığını azaltırken L-NAME grubunda CIS'a göre hücre canlılığı fazla bulunmuştur (Şekil 4.1).

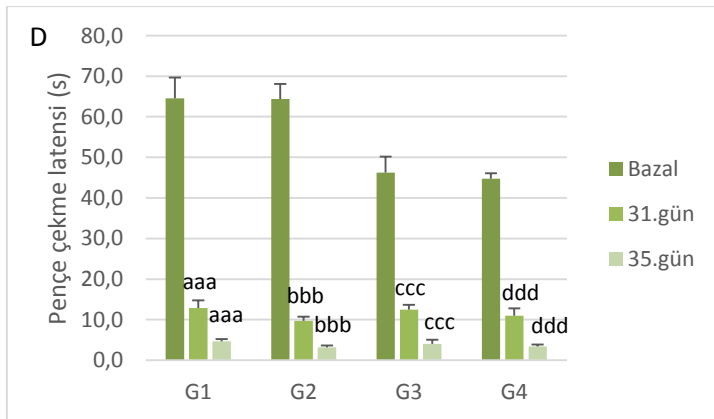
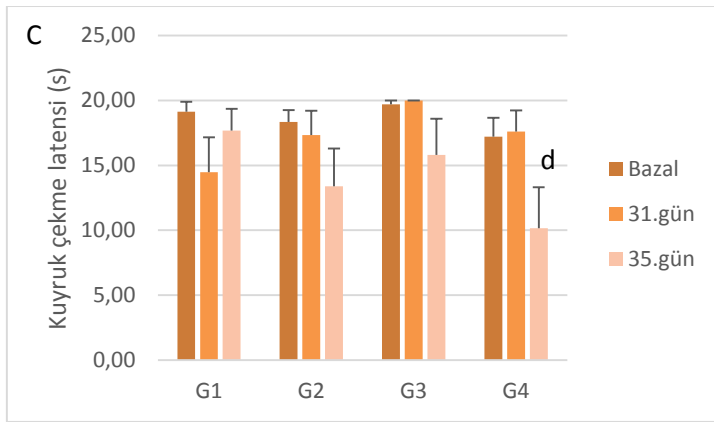
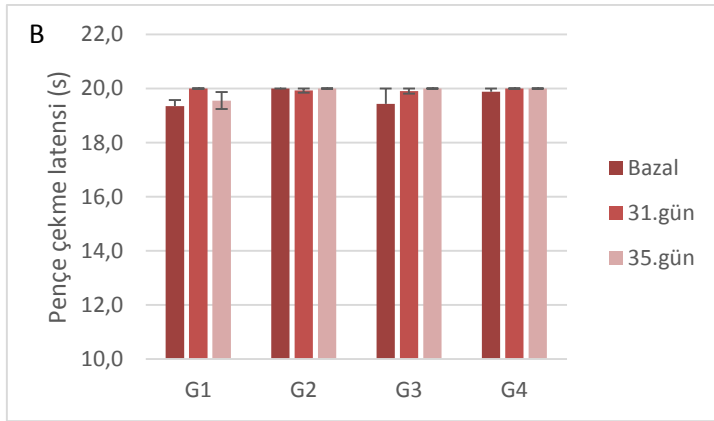
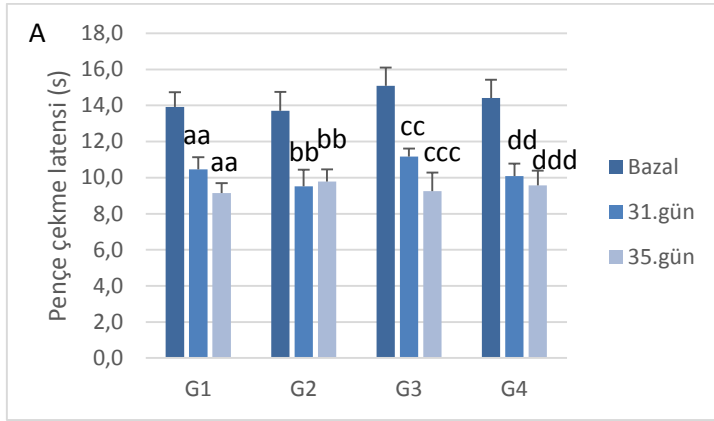


**Şekil 4. 1** Hücre kültüründe CIS'in nörotoksik etkisinde CGA'nın farklı konsantrasyonlarda (250-1000  $\mu\text{M}$ ) etkisinin yüzde hücre canlılığı üzerinden değerlendirmesi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*:  $p < 0,05$ , \*\*\*:  $p < 0,001$  kontrole göre; x:  $p < 0,05$  CIS200'e göre)

## 4.2 Akut Deneyler

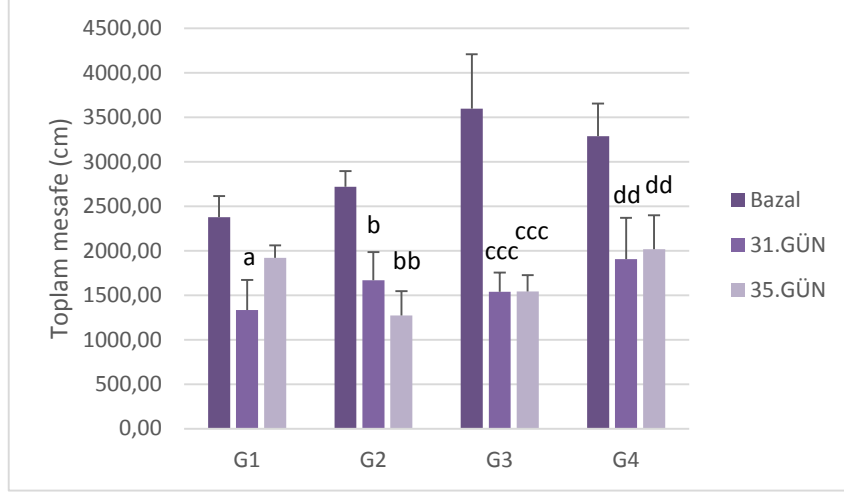
### 4.2.1 Nöropatinin oluşması

İlk 5 haftalık süreçte CIS uygulanan bütün gruplarda nöropati gelişmesi hedeflenmiştir. Nöropati değerlendirilmesi bazal ölçüm ile son ölçüm günleri (31 ve 35.gün) arasında yapılmıştır. Yapılan değerlendirmelerde sisplatin uygulamasıyla sıçanlarda mekanik allodini gelişirken, termal duyarlılıkta ve kuyruk sıkıştırma testinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 4.2A,B,C). Soğuk plaka ölçümlerinde ilk ayağını kaldırına kadar geçen süre latens olarak kaydedilmiş ve bu ölçüm değerlendirilmiştir. CIS uygulanan bütün gruplarda bazal ölçüm ile 31 ve 35. günler arasındaki ölçümler arasında anlamlı farklılık vardır (Şekil 4.2D). Latens bazale göre anlamlı ölçüde azalma vardır dolayısıyla sisplatinin soğuk allodini yaptığı saptanmıştır. Aktivitemetre testinde ise CIS'in motor aktiviteyi de bozduğu görülmüştür (Şekil 4.3).



**Şekil 4. 2** Sıçanlarda nöropatik ağrı gelişiminin tespiti. Bütün gruplara 5 hafta boyunca sadece CIS uygulanmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. **(A)** Mekanik allodini testi, **(B)** Termal hiperaljezi testi, **(C)** Kuyruk sıkıştırma testi, **(D)** Soğuk allodini testi

(aa:  $p < 0,01$ , aaa:  $p < 0,001$  G1 bazal değerine göre; bb:  $p < 0,01$ , bbb:  $p < 0,001$  G2 bazal değerine göre; cc:  $p < 0,01$ , ccc:  $p < 0,001$  G3 bazal değerine göre; d:  $p < 0,05$ , dd:  $p < 0,01$ , ddd:  $p < 0,001$  G4 bazal değerine göre)



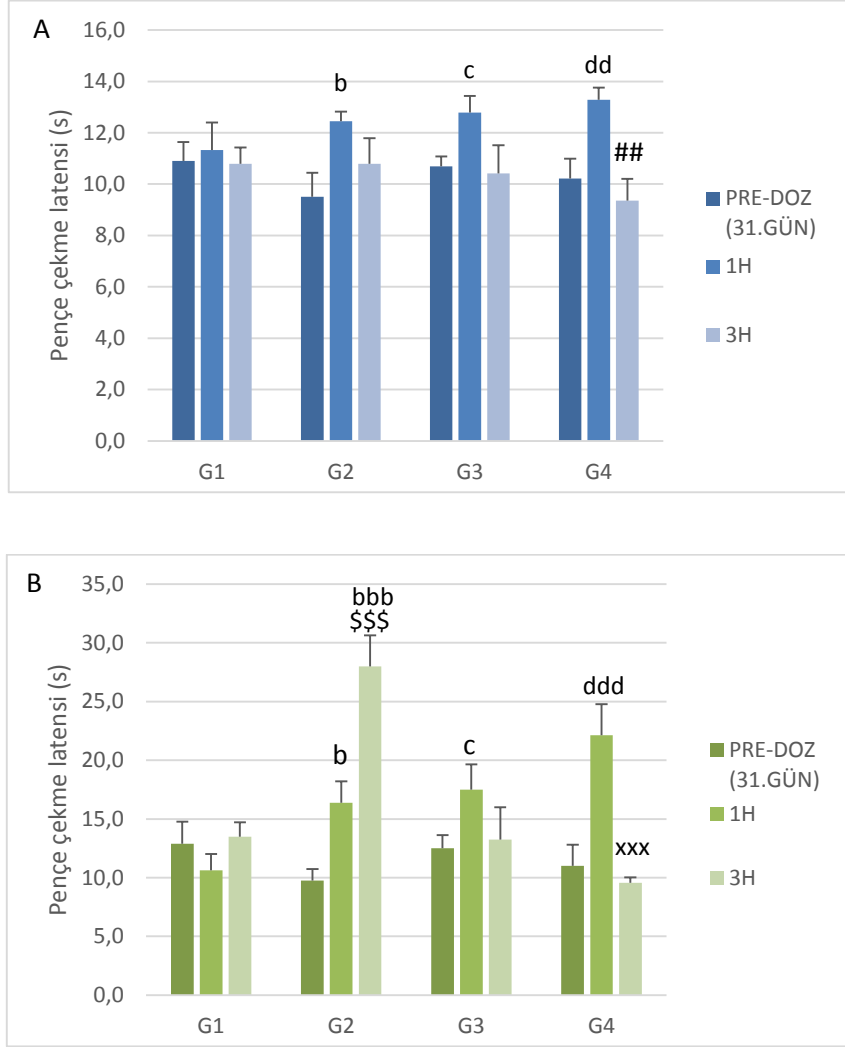
**Şekil 4. 3** Sıçanlarda akut klorojenik asit uygulaması öncesi motor performans değerlendirmesi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (a:  $p < 0,05$  G1 bazal değerine göre; b:  $p < 0,05$ , bb:  $p < 0,01$  G2 bazal değerine göre; ccc:  $p < 0,001$  G3 bazal değerine göre; dd:  $p < 0,01$  G4 bazal değerine göre)

#### 4.2.2 Tek doz uygulanan CGA'nın 1. ve 3. saat ölçümleri

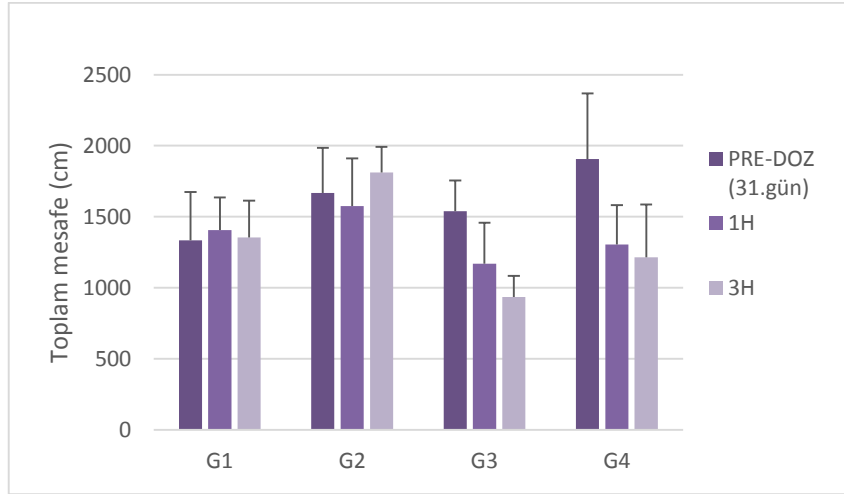
Beş hafta CIS uygulanması sonrasında sıçanlarda nöropati geliştiği mekanik allodini ve soğuk allodini testleriyle belirlenmiştir ve aynı zamanda motor aktivite de CIS uygulamaları sonrasında anlamlı şekilde bozulduğu bulunmuştur. Nöropati değerlendirmesi için yapılan testlerde 31.gün ölçümleri anlamlı bulunduğu için 32.gün CGA uygulaması sonrasında yapılan ölçümlere dair grafikler gösterilmiştir. 36.günde yapılan 1 ve 3. saat verileri değerlendirmeye alınmamıştır.

Deneyin 31. gününde pre-doz ölçümleri yapıp ertesi gün sabah CGA uygulanmış ve sonrasında 1. (1H) ve 3. (3H) saatlerde testler tekrarlanarak akut etki değerlendirilmiştir (32.gün). CIS'in neden olduğu mekanik allodini, soğuk allodini ve bozulan motor aktivite üzerine CGA'nın etkileri değerlendirilmiştir. Mekanik allodini testinde CGA bütün dozlarda (50, 100 ve 200 mg/kg) 1. saatte latensi istatistiksel olarak anlamlı derecede uzatmıştır. 3 saat ölçümleri predose ölçümlerinden anlamlı farklı değildir. Sadece 200 mg/kg doz 3.saatte 1. saat ölçümüne göre anlamlılık göstermiştir (Şekil 4.4A). Soğuk allodini testinde CGA 50 mg/kg dozda hem 1.saat hem de 3.saatte pençe çekme latensini uzatırken 100 ve 200 mg/kg dozlarda sadece 1.saatte latensi istatistiksel olarak anlamlı derecede

uzattığı görülmüştür (Şekil 4.4B). Aktivitemetre testinde CGA'nın, CIS'in neden olduğu toplam mesafedeki azalmaya anlamlı bir etkisi olmamıştır (Şekil 4.5). CGA'nın etkili görülen 100 mg/kg dozu seçilmiş olup kronik deneylerde CIS ile beraber bu doz uygulanmıştır.



**Şekil 4. 4** Sıçanlarda tek doz CGA uygulaması sonrası ağrı testleri değerlendirilmesi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. **(A)** Mekanik allodini testi, **(B)** Soğuk allodini testi **G1:** Kontrol grubu, **G2:** CGA 50 mg/kg, **G3:** CGA 100 mg/kg, **G4:** CGA 200 mg/kg uygulanan gruplar (b:  $p < 0,05$ , bbb:  $p < 0,001$  G2 pre-doza göre, \$\$\$:  $p < 0,05$  G2 1.saate göre; c:  $p < 0,05$  G3 pre-doza göre; dd:  $p < 0,01$ , ddd:  $p < 0,001$  G4 pre-doza göre; ##:  $p < 0,01$  G4 1.saate göre; xxx:  $p < 0,001$  G4 1.saate göre)

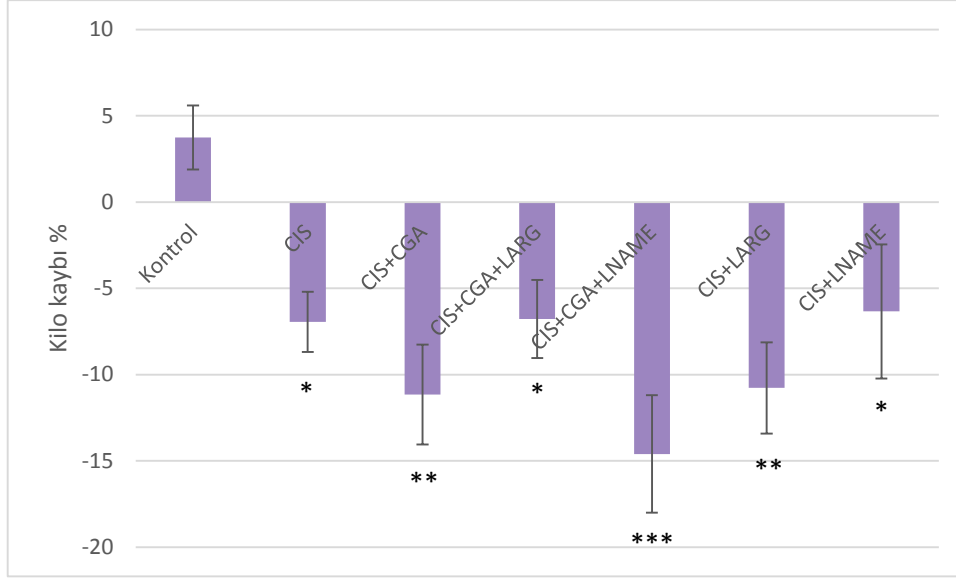


**Şekil 4. 5** Sıçanlarda tek doz CGA uygulaması sonrası motor performansın değerlendirilmesi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. **G1:** Kontrol grubu, **G2:** CGA 50 mg/kg, **G3:** CGA 100 mg/kg, **G4:** CGA 200 mg/kg uygulanan gruplar

### 4.3 Kronik Deneyler

#### 4.3.1 Hayvanların genel fiziksel görünüşleri

Deneyin 4-5. haftalarında başlayan ve kardiyak perfüzyonlarına kadar geçen süre boyunca özellikle CIS uygulanan sıçanlarda hafif kanlı ishal gözlenmiştir. Bu durumun CGA uygulanan sıçanlarda görece daha az olduğu tespit edilmiştir. CGA uygulamalarında da hayvanlarda ilaç enjekte edildikten kısa süre sonra kıvrandıkları gözlenmiştir. Bu durum CGA'nın asidik yapıda bir molekül olmasıyla açıklanabilir. Kontrol hariç tüm grupların vücut ağırlıklarında belirgin azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



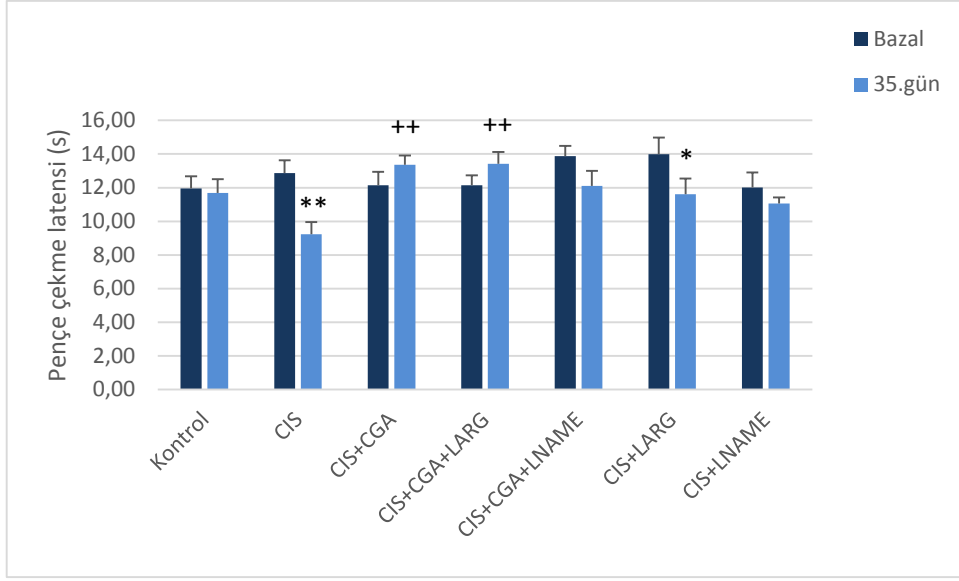
**Şekil 4. 6** Deney hayvanlarının 0.gün vücut ölçümleri ile beşinci hafta sonrası kaydedilen vücut ağırlıkları arasındaki değişim. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmektedir.

(\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$  kontrole göre)

#### 4.3.2 Mekanik allodini değerlendirilmesi

Mekanik allodini değerlendirmesinde grupların bazal ölçümleri arasında fark yoktur. CIS 35.günde bazale göre anlamlı şekilde pençe çekme latensini düşürmüştür ( $p < 0,001$ ). Kronik olarak CIS ile beraber verilen CGA'nın 100 mg/kg dozunda pençe çekme latensini CIS 35.güne göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırdığı görülmüştür ( $p < 0,01$ ). CIS+CGA+LARG grubunda da CIS'a göre 35.günde pençe çekme latensi anlamlı şekilde artmıştır ( $p < 0,01$ ). CIS+LARG grubunda 35.günde bazal ölçüme göre pençe çekme latensinin azaldığı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ) (Şekil 4.7).

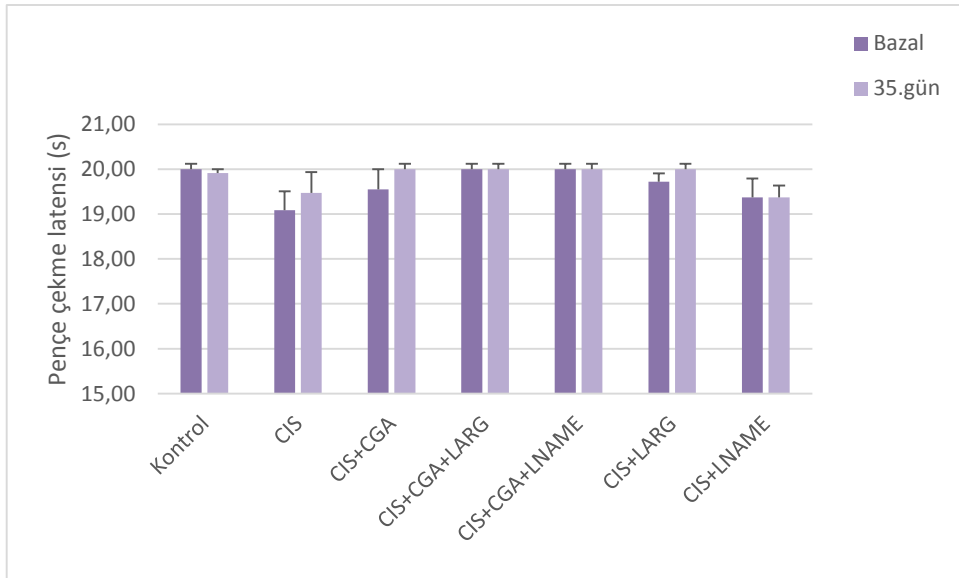




**Şekil 4. 7** Mekanik allodini testi sonuçları. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*:  $p<0,05$ ; \*\*:  $p<0,01$  kendi bazaline göre; ++:  $p<0,01$  CIS 35.güne göre)

#### 4.3.3 Termal hiperaljezi değerlendirilmesi

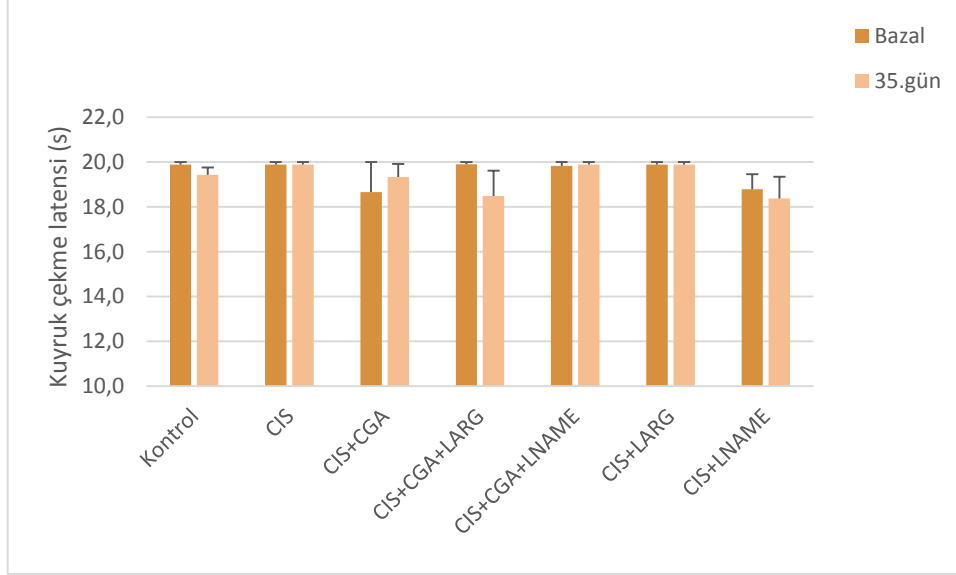
CIS'in daha önceki çalışmalarımızda ve akut deneylerde de gördüğümüz gibi termal hiperaljezi yapmadığı tespit edilmiştir. Anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.8).



**Şekil 4. 8** Termal hiperaljezi testi sonuçları

#### 4.3.4 Kuyruk Sıkıştırma (Tail Clip) testi değerlendirilmesi

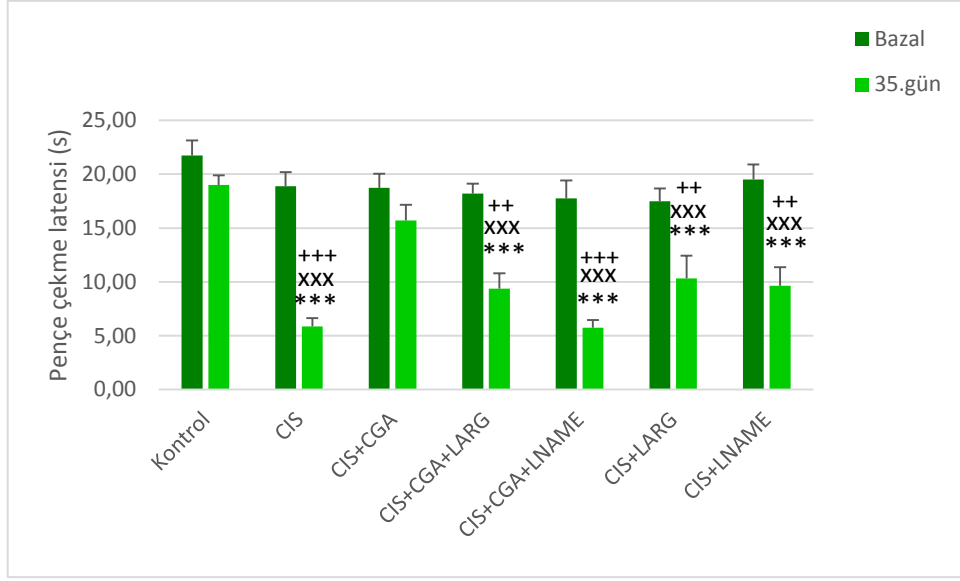
Periferik ağrı algısını değerlendirdiğimiz kuyruk sıkıştırma testi sonuçlarında da anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4. 9 Kuyruk sıkıştırma testi sonuçları

#### 4.3.5 Soğuk allodini değerlendirilmesi

Soğuk plaka testinde CIS'in pençe çekme latensini bazale göre düşürdüğü tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ). Dolayısıyla CIS'in sıçanlarda soğuk allodiniye neden olduğu görülmüştür. CGA grubunda, 35.gün ölçümü ile bazal ölçüm arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. CGA'nın CIS ile düşen pençe çekme latensini bazal değerine yükseltebildiği görülmüştür. CGA'nın LARG/LNAME ile kombine edildiği gruplarda ise soğuk allodini CIS'dan anlamlı farklı bulunmamıştır. CGA grubuna göre 35.günde pençe çekme latensini anlamlı şekilde düşürdükleri bulunmuştur. LARG ve LNAME sadece CIS ile verildiğinde yine pençe çekme latensi kontrole ve CIS 35.gün verisine göre anlamlı ölçüde düşmüştür ( $p<0,001$ ) (Şekil 4.10).

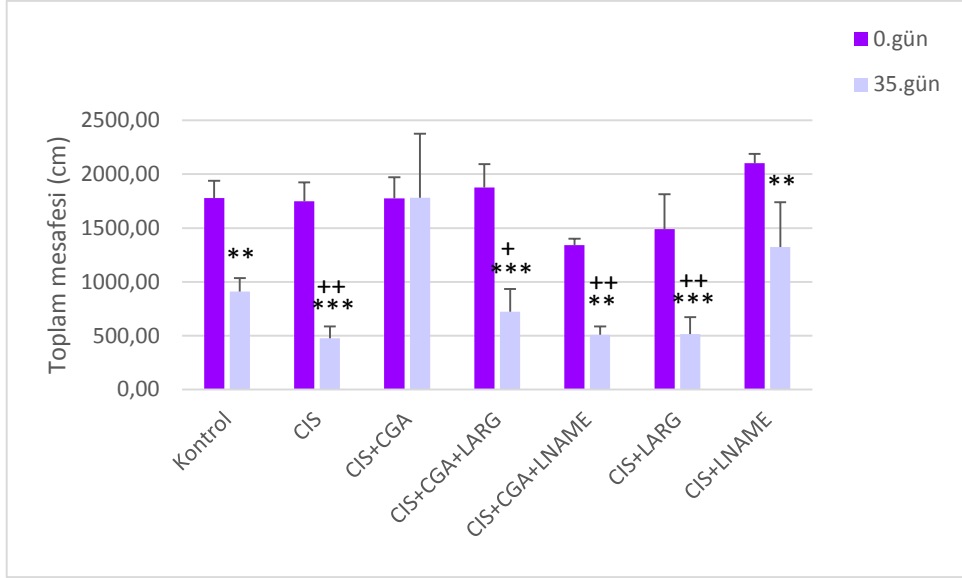


**Şekil 4. 10** Soğuk plaka testi sonuçları, bazal ile 35.gün karşılaştırması. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir.

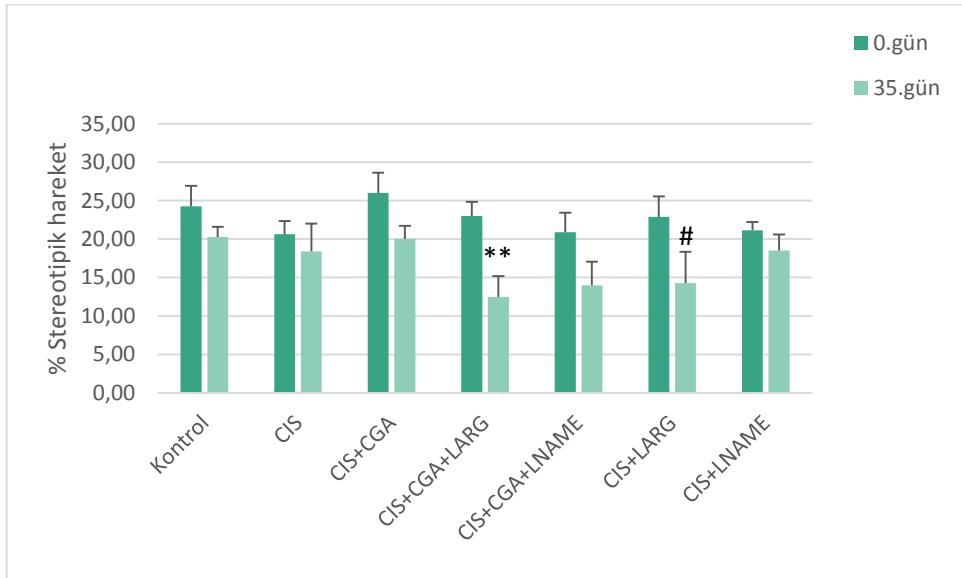
(\*\*\*:  $p < 0,001$  kendi bazaline göre; xxx:  $p < 0,001$  kontrol grubu 35.gün verisine göre; ++:  $p < 0,01$ , +++:  $p < 0,001$  CIS+CGA 35.gün verisine göre)

#### **4.3.6 Aktivitemetre değerlendirilmesi**

Tüm gruplarda giderek azalan toplam hareket mesafesi en fazla CIS, CIS+CGA+LARG, CIS+CGA+LNAME, CIS+LARG gruplarında kontrole göre anlamlı şekilde azalma göstermiştir. CGA ise deney protokolünün 35.gününde toplam hareket mesafesini 0.gündeki değere çıkardığı görülmektedir (Şekil 4.11). Steretipik hareket yüzdesi verilerine göre CIS kontrole göre anlamlı farklılık göstermemştir. CIS+CGA+LARG ve CIS+LARG gruplarında 35.günde stereotipik hareket yüzdesi bazale göre azaldığı görülmüştür (Şekil 4.12).



**Şekil 4. 11** Aktivitemetre testi sonuçları. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$  kendi bazaline göre; +:  $p<0,05$ , ++:  $p<0,01$  CIS+CGA 35.gün verisine göre)

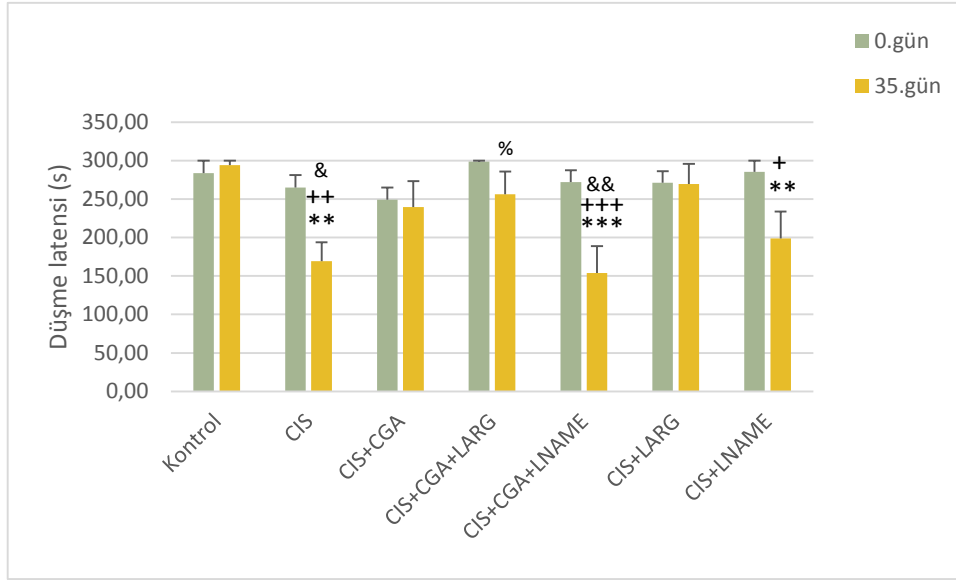


**Şekil 4. 12** Aktivitemetre testinde stereotipik hareket yüzdesi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*\*:  $p<0,01$  CIS+CGA+LARG 0.güne göre; #:  $p<0,05$  CIS+LARG 0.güne göre)

#### 4.3.7 Rotarod değerlendirilmesi

CIS motor koordinasyonu anlamlı olarak bozmuştur. Çalışma sonuçlarına göre CGA'nın bu etkiyi ortadan kaldırdığı görülmektedir. CGA ile birlikte verilen

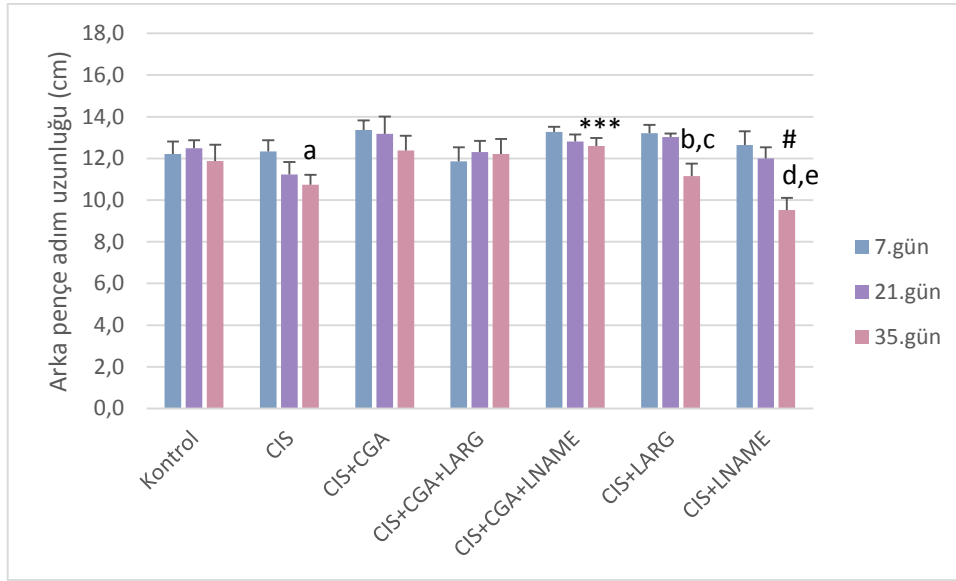
L-NAME ise motor koordinasyonda anlamlı olarak bozulmayı artırmıştır. L-ARG CIS'in oluşturduğu motor koordinasyon bozukluğunu düzelttiği halde L-NAME ile düzelme görülmemiştir (Şekil 4.13).



**Şekil 4. 13** Rotarod testi sonuçları. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$  kendi (0.gün) bazaline göre; +: $p<0,05$ , ++: $p<0,01$ , +++: $p<0,001$  kontrol 35.gün verisine göre; &:  $p<0,05$ , &&: $p<0,01$  CIS+LARG 35.gün verisine göre, %:  $p<0,05$  CIS+CGA+LNAME 35. gün verisine göre)

#### 4.3.8 Ayak izi analizi değerlendirilmesi

Ayak izi paternlerine göre yapılan değerlendirmede, sağ arka pençe adım uzunluğunun CIS 35.günde anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. CIS beraberinde verilen CGA 35.günde azalması beklenen bu değeri ilk değerinde tutabildiği gösterilmiştir. LARG ve LNAME kombinasyonu CGA etkisinde anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. CIS ile beraber LARG ve LNAME verilen gruplarda 35.günde 7.güne göre anlamlı azalma gözlenirken bu değer sadece CIS verilen grubun 35.gün ölçümüne göre anlamlı farklı bulunmamıştır (Şekil 4.14).

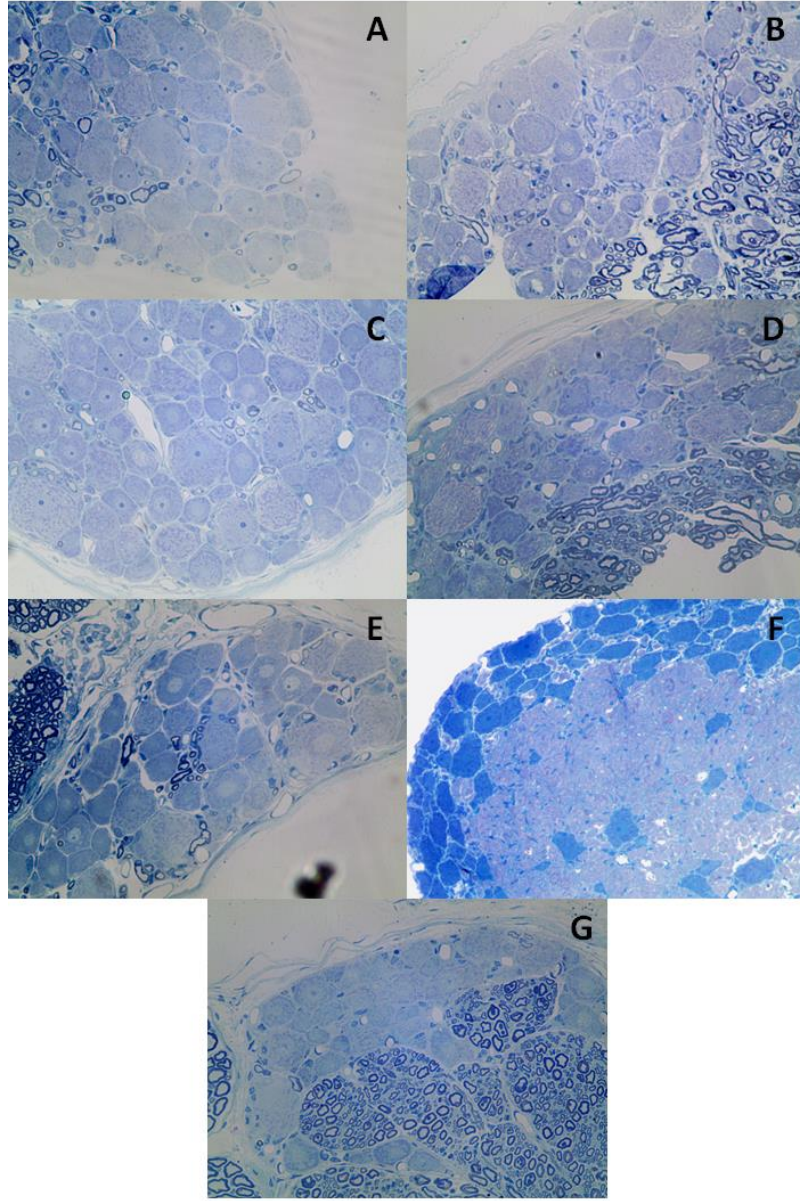


**Şekil 4. 14** Ayak izi analizi. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (a:  $p < 0,05$  CIS 7.güne göre, b:  $p < 0,01$  CIS+LARG 7.güne göre, c:  $p < 0,01$  CIS+LARG 21.güne göre, d:  $p < 0,001$  CIS+LNAME 7.güne göre, e:  $p < 0,001$  CIS+LNAME 21.güne göre, \*\*\*:  $p < 0,001$  CIS+LNAME 35.güne göre, #:  $p < 0,05$  Kontrol 35.güne göre)

## 4.4 Histopatolojik Değerlendirme

### 4.4.1 DRG'lerde histopatolojik değerlendirme

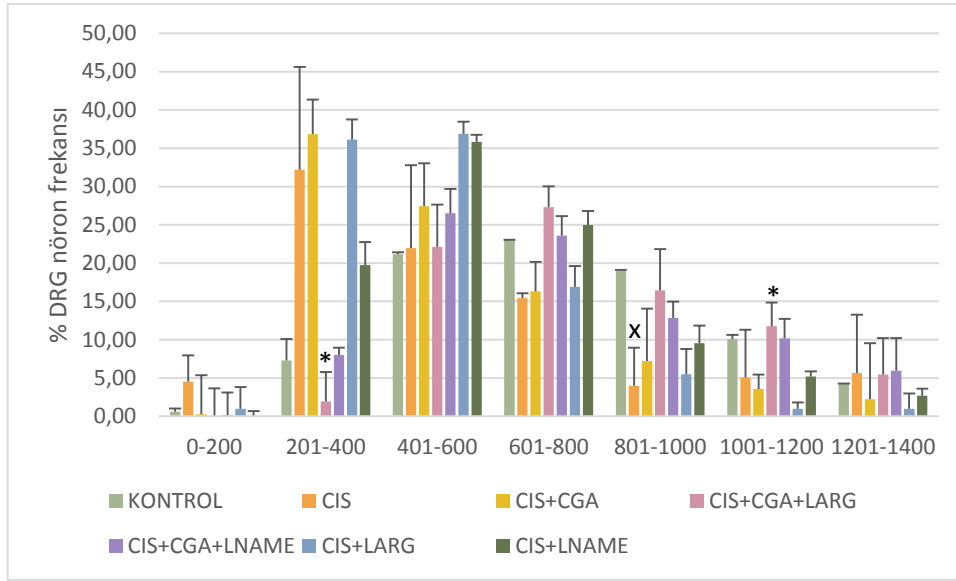
Kontrol grubunda nükleusların santral yerleşimli olduğu görüldü. Gangliyon hücreleri ve etrafında bulunan satellit hücrelerde normal morfoloji gözlenmiştir. CIS grubunda gangliyon hücrelerinde mikrovakuolizasyon gözlenmiştir. Ayrıca hücre sitoplazma zarında silinme ve sitoplazmada hafif şişme tespit edildi. CIS+CGA grubunda daha az miktarda mikrovakuolizasyon görülmüştür. Hücre membranı CGA grubunda CIS grubuna göre daha belirgindi. CIS+CGA+LARG grubunda hücrelerdeki patolojik değişiklikler CIS+CGA grubuna göre daha fazla ancak CIS+CGA+LNAME grubuna göre daha az olduğu gözlenmiştir. CIS+LARG ve CIS+LNAME gruplarında da histolojik tablonun bozulduğu söylenebilir (Şekil 4.15).



**Şekil 4. 15** DRG'lerin histopatolojik değerlendirmesi

**A:** Kontrol, **B:** CIS, **C:** CIS+CGA, **D:** CIS+CGA+LARG, **E:** CIS+CGA+LNAME, **F:** CIS+LARG, **G:** CIS+LNAME

DRG nöron soma alanı-frekans histogramına bakıldığında genel olarak küçük çaplı nöron frekansının CIS ve CIS+CGA gruplarında fazla olduğu görülmektedir. CIS+CGA+LARG/LNAME gruplarında CIS+LARG/LNAME gruplarına görece daha büyük çaplı nöronlarda artış olduğu söylenebilir (Şekil 4.16).

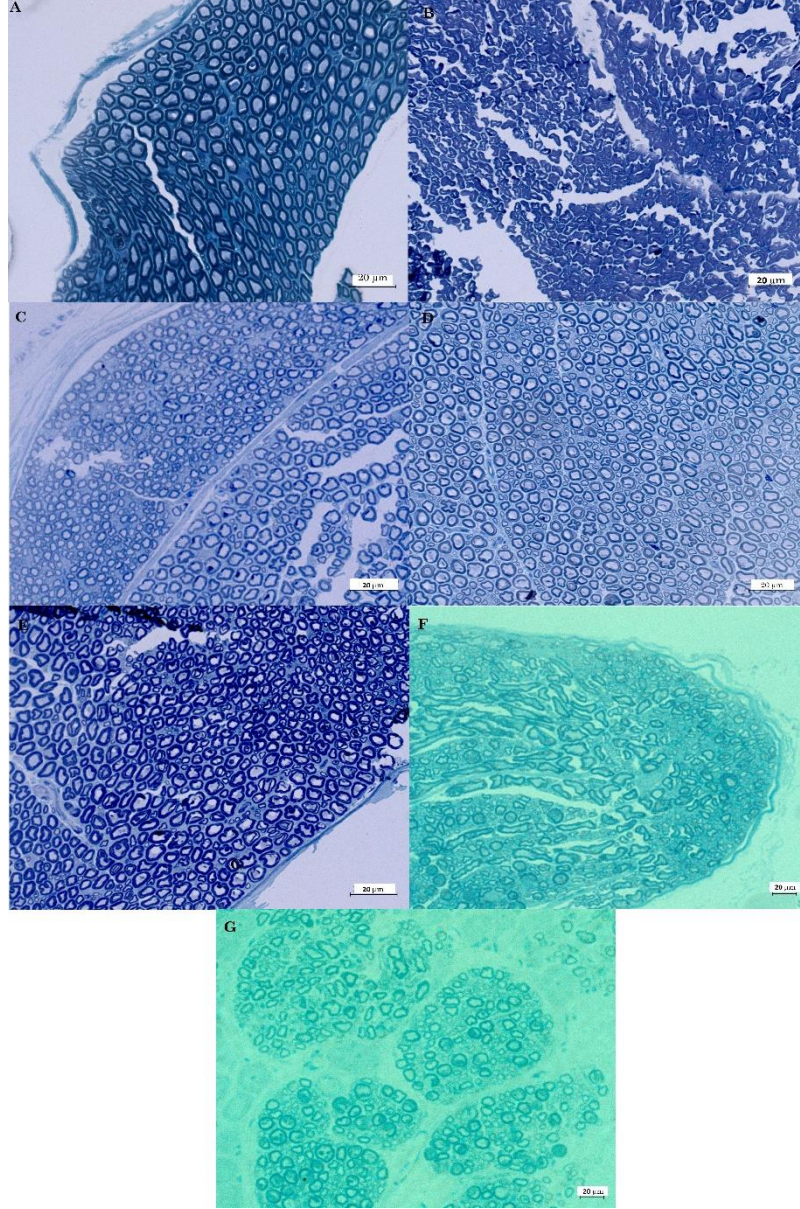


**Şekil 4. 16** DRG nöron soma alanı - % DRG frekans histogramı. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*:p<0,05 CIS+LARG göre; x:p<0,01 kontrole göre)

#### 4.4.2 Siyatik sinirlerde histopatolojik değerlendirme

Kontrol grubunda normal nöral morfoloji görülürken CIS grubunda miyelinli aksonal liflerde yaygın dejenerasyon görülmüştür. Aksonlar şiş görünümdedir. CIS+CGA grubunda dejenerasyon kontrol grubuna göre daha fazla iken CIS grubuna göre daha az olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda CIS+CGA grubunda rejenerasyon/normal aksonal liflerin sayıca CIS grubuna göre daha fazla olduğu söylenebilir. CIS+CGA+LARG/LNAME gruplarında da yaygın dejenerasyon görülmekle beraber sadece CIS+LARG/LNAME gruplarında dejenerasyon daha fazladır. Genel olarak LNAME kombinasyon grupları LARG kombinasyon gruplarına göre daha fazla dejenerasyon olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.17).





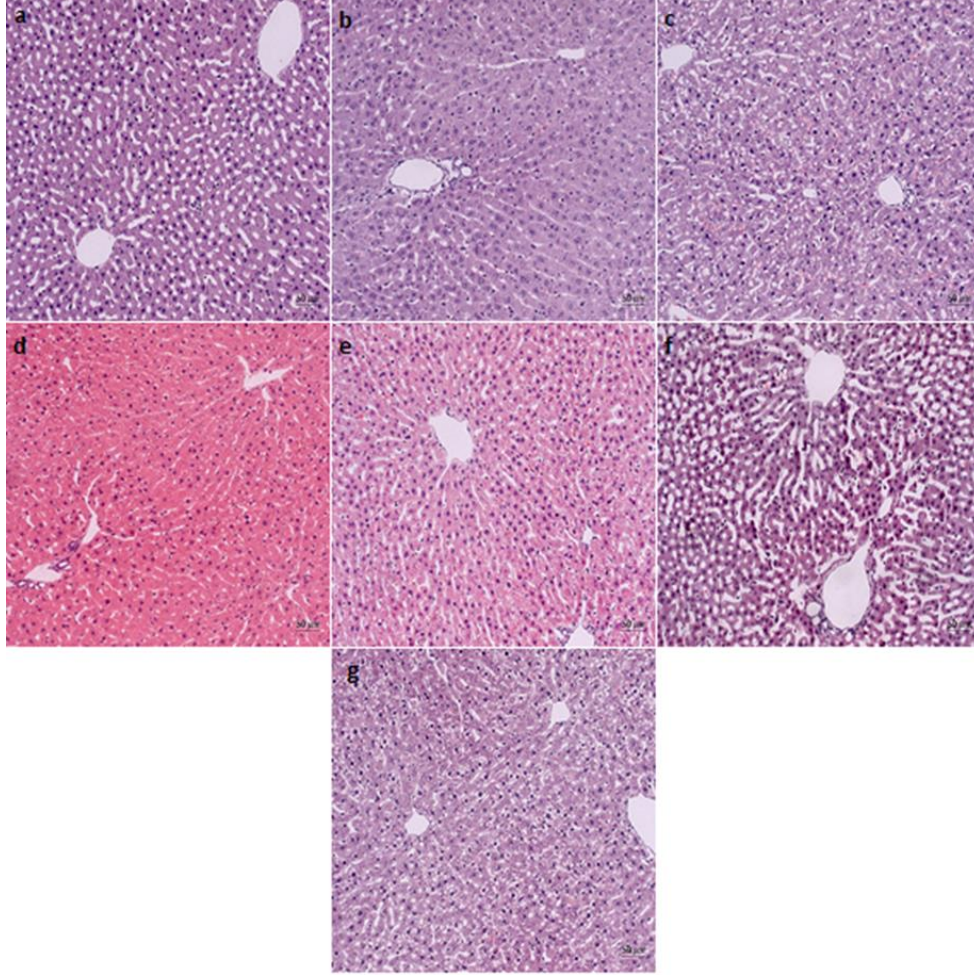
**Şekil 4. 17** Siyatik sinirlerin histopatolojik değerlendirmesi

**A:** Kontrol, **B:** CIS, **C:** CIS+CGA, **D:** CIS+CGA+LARG, **E:** CIS+CGA+LNAME, **F:** CIS+LARG, **G:** CIS+LNAME

#### **4.4.3 Karaciğer kesitlerinde histopatolojik değerlendirme**

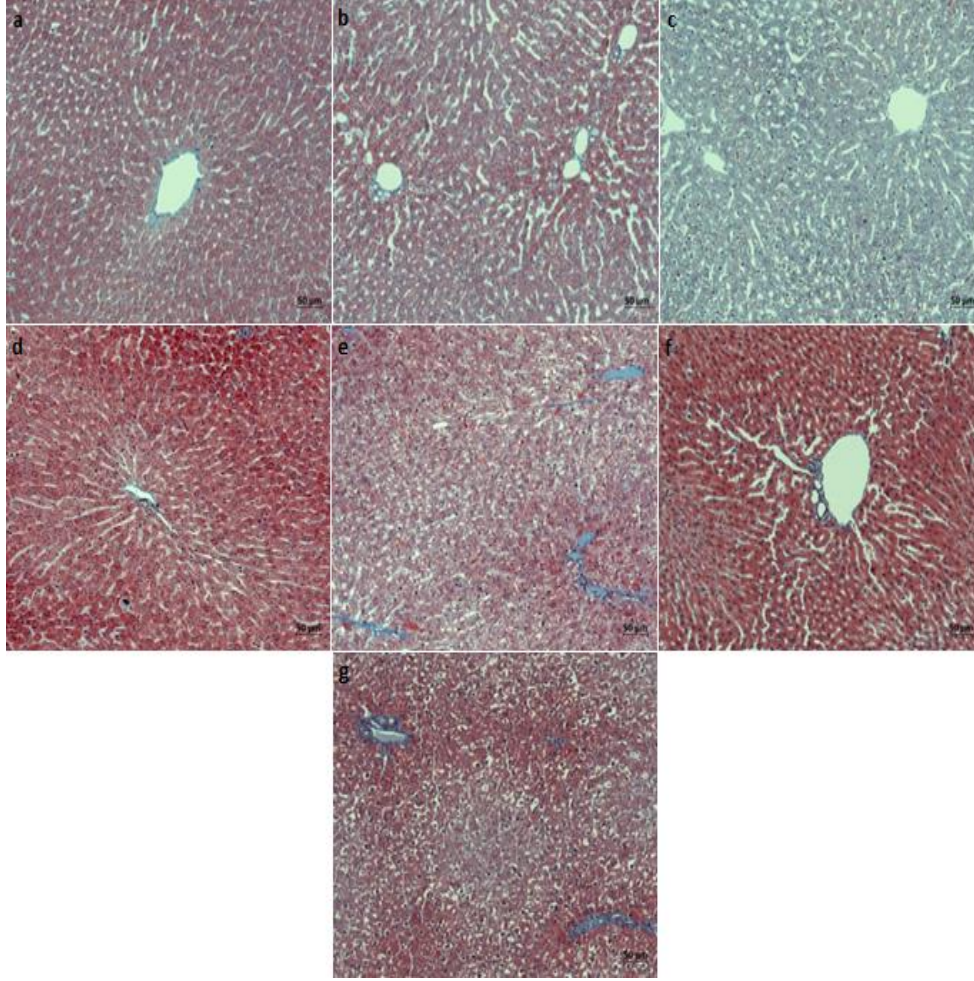
Karaciğer kesitlerinde hemotoksilen-eozin (Şekil 4.18) ve mason trikrom (Şekil 4.19) boyamaları yapılmıştır. Kontrol grubunda normal histolojik yapı görülmüştür. CIS grubunda eozinofilik sitoplazmalı hepatositler, sinüzoidlerde genişleme, yer yer hemoraji bulguları izlenmiştir. CIS+CGA grubunda, CIS grubunda izlenen histopatolojik bulgular bariz olarak azalmıştır.

CIS+CGA+LARG ve CIS+LARG gruplarında sinüzoidlerde genişleme ve yer yer hemoraji görülmektedir. CIS+CGA+LNAME ve CIS+LNAME gruplarında ise hepatosit kordon yapısında tamamen bozulma ve hepatositlerde vakuolizasyon görülmüştür. Ayrıca santral ven etrafında ve portal alanda bağ dokuda artış izlenmiştir (Şekil 4.19).



**Şekil 4. 18** Hemotoksilen-eozin ile boyanan karaciğer kesitlerin histopatolojik değerlendirmesi.

**a:** Kontrol grubu, **b:** CIS grubu, **c:** CIS+CGA, **d:** CIS+CGA+LARG, **e:** CIS+CGA+LNAME, **f:** CIS+LARG, **g:** CIS+LNAME

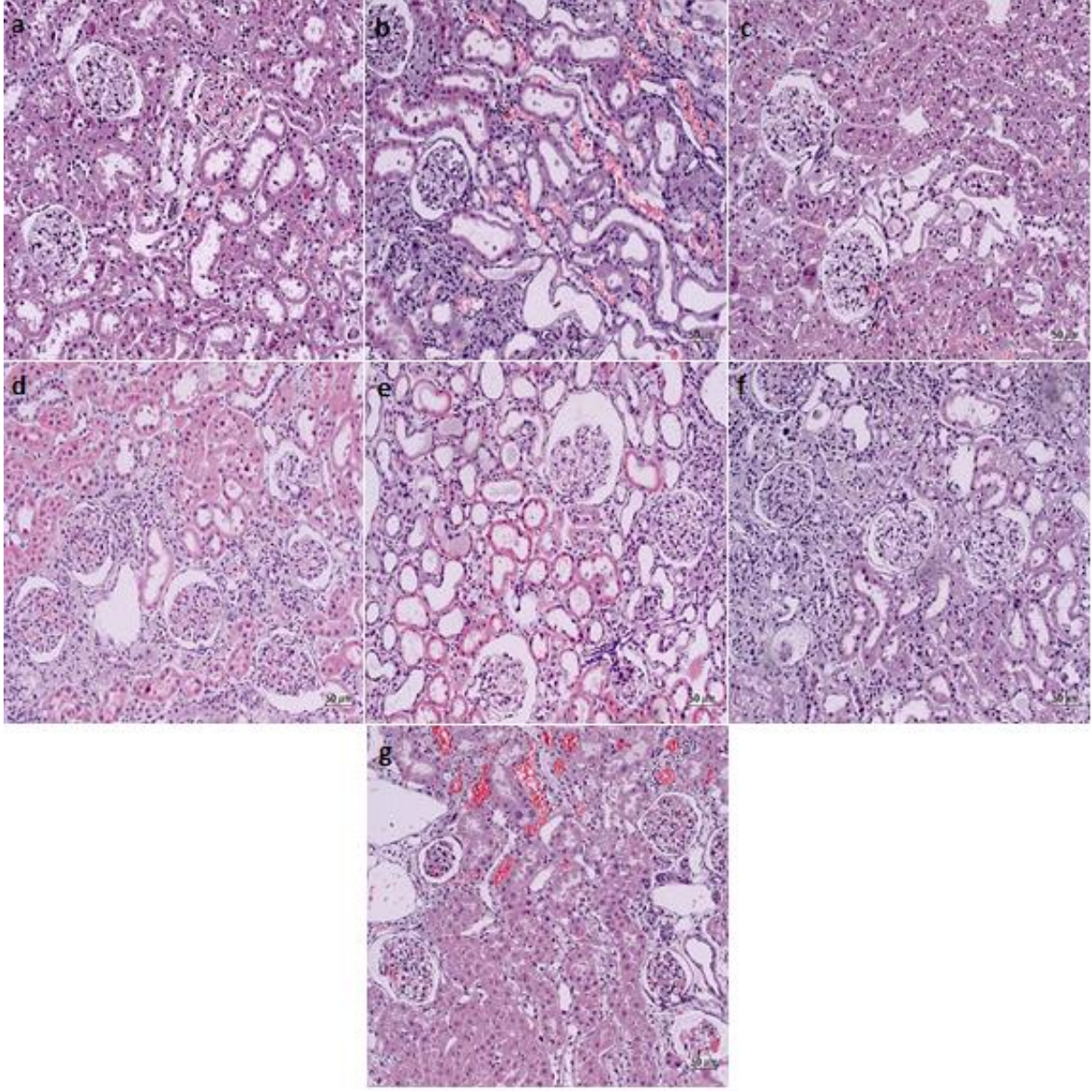


**Şekil 4. 19** Mason trikrom ile boyanan karaciğer kesitlerin histopatolojik değerlendirmesi.

**a:** Kontrol grubu, **b:** CIS grubu, **c:** CIS+CGA, **d:** CIS+CGA+LARG, **e:** CIS+CGA+LNAME, **f:** CIS+LARG, **g:** CIS+LNAME

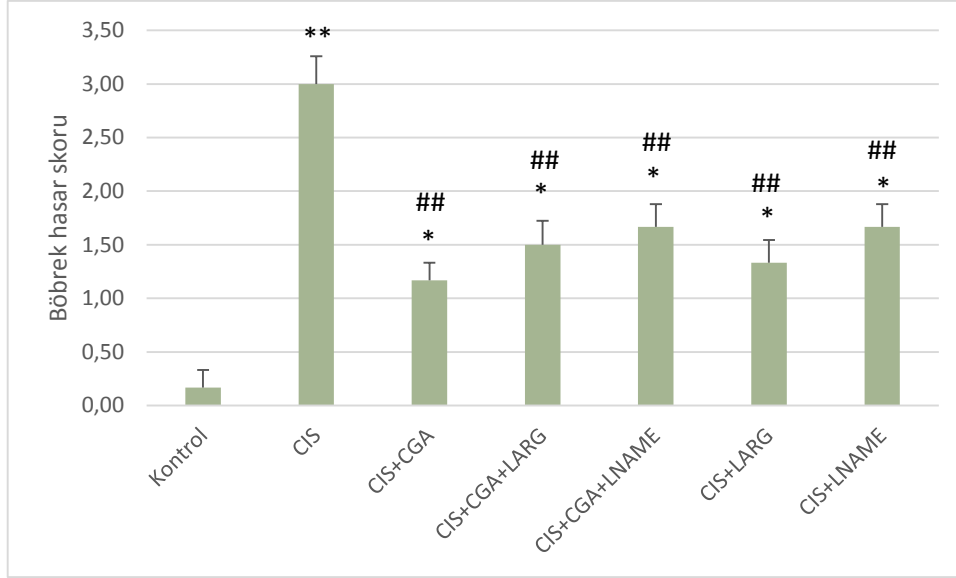
#### **4.4.4 Böbrek kesitlerinde histopatolojik değerlendirme**

Böbrek kesitleri histopatolojik olarak değerlendirildiğinde kontrol grubu normal böbrek histolojisine sahipti. CIS grubunda yaygın tübüler atrofi, hemorajik alanlar ve tübüler dilatasyon dikkat çekmekteydi. CIS+CGA grubunda patolojik sonuçlar nispeten düzelmişken, minimal böbrek hasarı ve tübüler vakuolizasyon dikkat çekmekteydi. CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME ise orta derecede böbrek hasarının mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.20). Böbrek hasar skorlamasına göre CIS grubunda belirgin hasar meydana geldiği, diğer gruplarda da hasar görülmekle beraber CIS'a göre daha az olduğu gösterilmiştir (Şekil 4.21).



**Şekil 4. 20** Hemotoksilen-eozin ile boyanan böbrek kesitlerinin histopatolojik değerlendirmesi.

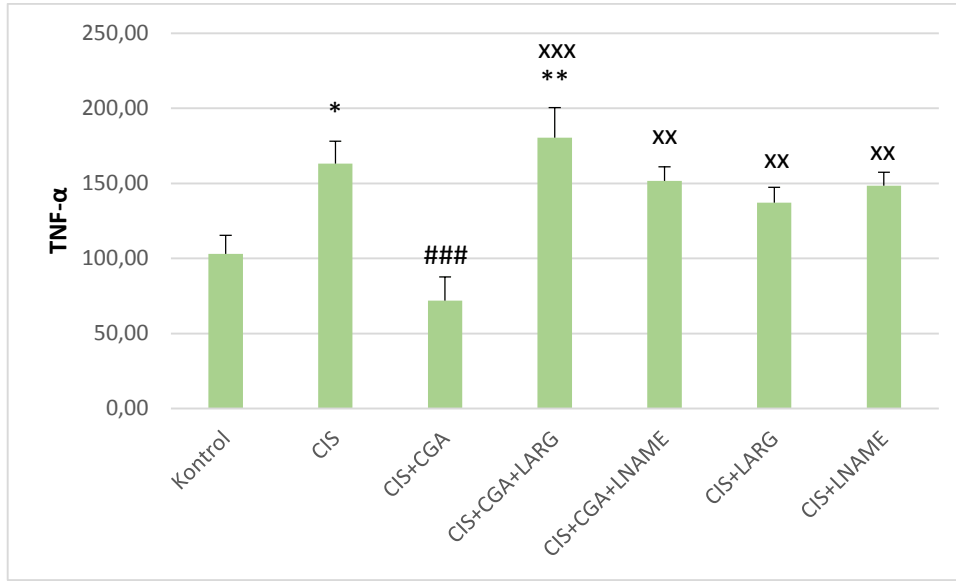
**a:** Kontrol grubu, **b:** CIS grubu, **c:** CIS+CGA, **d:** CIS+CGA+LARG, **e:** CIS+CGA+LNAME, **f:** CIS+LARG, **g:** CIS+LNAME



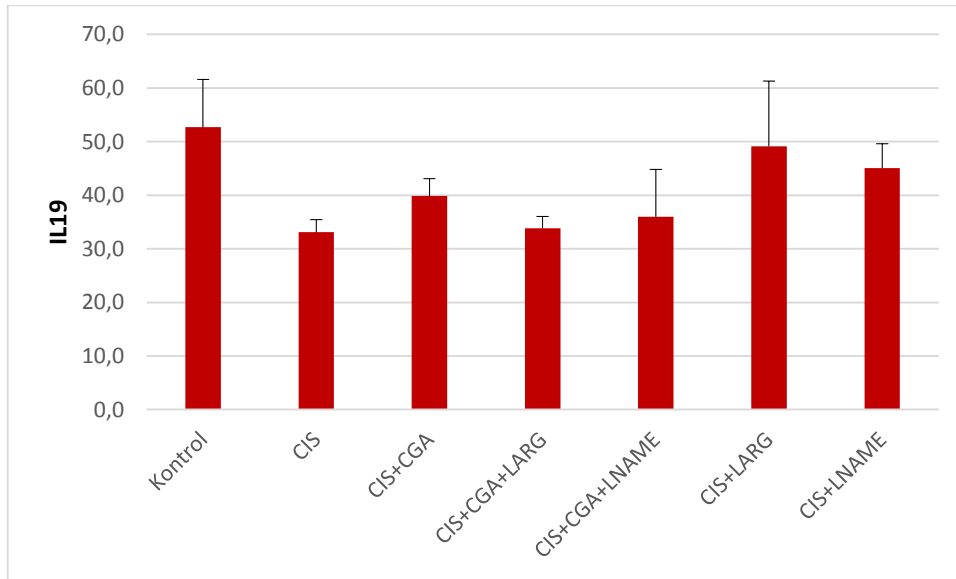
**Şekil 4. 21** Böbrek kesitlerinde patolojik skorlama (\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$  kontrole göre; ##:  $p < 0,01$  CIS'a göre)

#### 4.5 Biyokimyasal Değerlendirmeler

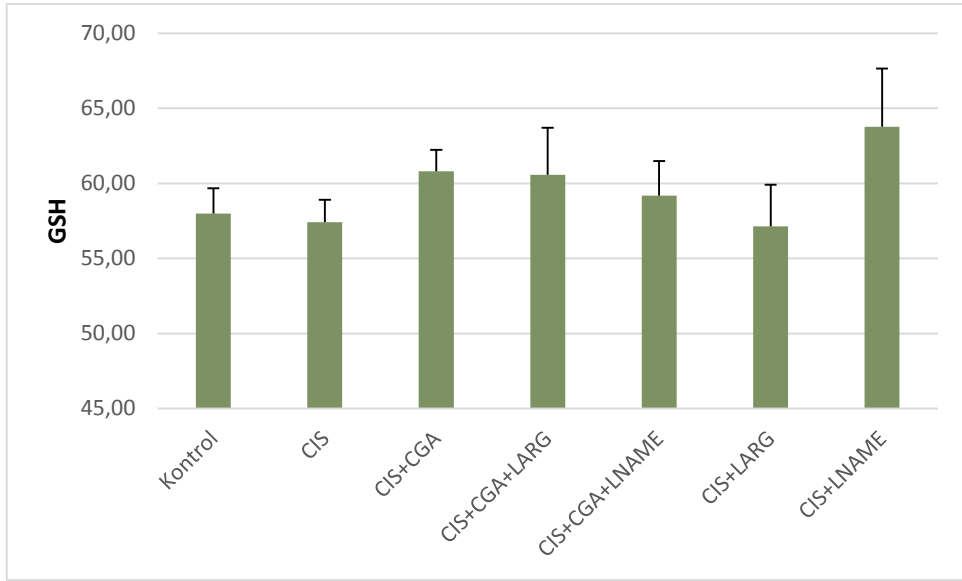
Biyokimyasal değerlendirmede sadece TNF-alfa düzey tayininde anlamlı farklılık görülmüştür. TNF-alfa düzeyinin CIS grubunda kontrole anlamlı şekilde arttığı görüldü. CIS+CGA grubunda TNF-alfa düzeyinin CIS grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME kombinasyon gruplarında bu değer CIS+CGA grubuna göre anlamlı şekilde yükseldiği görülmüştür. CIS+CGA+LARG grubunda TNF-alfa düzeyinin CIS'a benzer şekilde kontrole göre anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.22). Diğer parametrelerde anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır (Şekil 4.23,24,25).



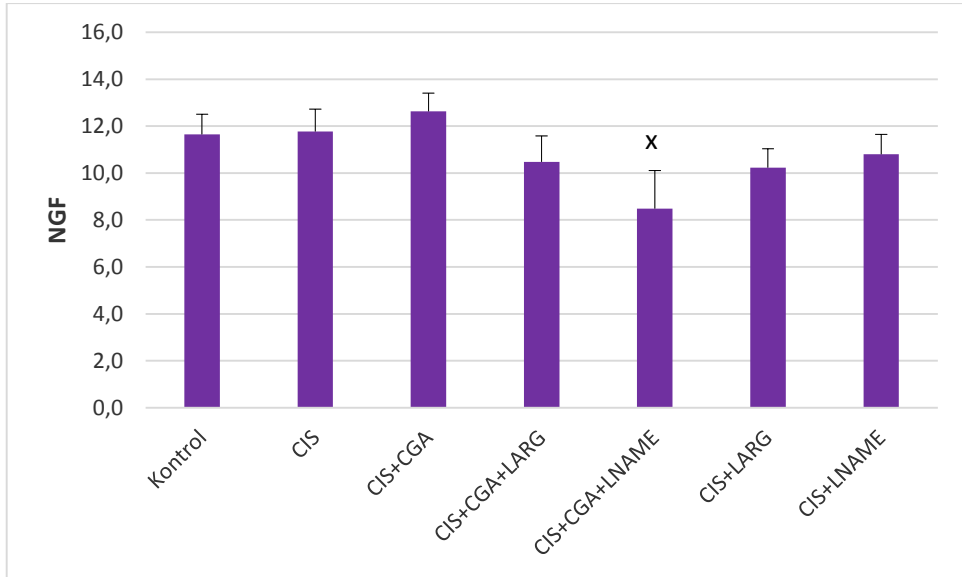
**Şekil 4. 22** Serumda TNF-alfa düzey tayini (ng/L). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmektedir. (\*:p<0,05, \*\*:p<0,01 kontrole göre; xx:p<0,01, xxx:p<0,001 CIS+CGA'ya göre; ##:p<0,01 CIS'a göre)



**Şekil 4. 23** IL-19 düzey tayini (pg/ml).



**Şekil 4. 24** GSH düzey tayini (ng/ml)



**Şekil 4. 25** NGF düzey tayini (ng/ml) (x:p<0,05 CIS+CGA'ya göre)

## 5 TARTIŞMA

Çalışmada CIS'in nörotoksik etkileri ve neden olduğu PN üzerine CGA'nın olası sitoprotektif, antihiperalezik ve profilaktik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bilindiği kadarıyla çalışmamız, CGA'nın CIS'in neden olduğu periferik nöropatideki olası etkilerinin araştırılması açısından bir ilktir. Daha önce nöropatik ağrı modellerinde CGA'nın yararlı etkileri gösterilmiştir (Bagdas et al., 2013; Bagdas et al., 2014; K. Hara et al., 2014). Ancak sistemik bir nörotoksik ajan varlığında ortaya çıkan PN üzerine etkileri bilinmemektedir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre CIS termal hiperalezi testinde hiperalezi oluşturmamakla birlikte mekanik allodini ve soğuk allodiniye neden olmuştur. CIS'in bu allodinik etkisi CGA'nın tek doz ve kronik kullanımıyla önemli ölçüde önlenmiştir (Şekil 4.4A ve Şekil 4.7). Mekanik plantar testindeki antiallodinik etkilerini NO donörü LARG'nin ve spesifik olmayan NOS inhibitörü LNAME'nin etkilemediği ancak soğuk plaka testinde her iki ajanın da klorojenik asitin etkisini azalttığı görülmüştür (Şekil 4.7 ve Şekil 4.10). Her iki ajan da CIS ile bozulan motor performans üzerine CGA'nın olumlu etkilerini azaltmıştır (Şekil 4.11). Oysa her iki ajan da CIS'in bozduğu motor koordinasyon değerlendirmesinde CGA'nın iyileştirici etkisinde bir farklılığa neden olmamışlardır (Şekil 4.13). Histolojik değişikliklerde periferik dokularda CIS'in neden olduğu toksisiteyi CGA'nın kısmen azalttığı görülmüştür. LARG ve LNAME eklendiğinde yapısal bozulmaların yine arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.15, 4.17, 4.18-19, 4.20). Biyokimyasal değerlendirmede ise CIS uygulamasıyla artan TNF-alfa düzeyinin CGA uygulamasıyla düştüğü görülmüştür. CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME kombinasyon gruplarında da TNF-alfa düzeyinin CIS+CGA grubuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 4.22).

Platin-türevi ajanlarla kemoterapi tedavisi sonrasında gelişen akut ve kronik nörotoksisite, infüzyon sürelerinin uzatılmasına, doz kısıtlamalarına, tedavinin ertelenmesine ve hatta tedavinin kesilmesine yol açan ana kısıtlayıcı faktördür (Storey et al., 2010). CIS, proteine bağlanma oranı en yüksek olan platin-türevi ajandır. Diğer platin-türevi ajanlar arasında en çok nörotoksik etki gösteren ajandır. PN'ye ek olarak, nefrotoksisite, hepatotoksisite, ototoksisite ve miyelosüpresyon gibi yan etkilere de neden olmaktadır (Zajackowska et al., 2019).



PN doz ve süreye bağlı olarak gelişir (Ozols & Young, 1985). Kullanılan yüksek kümülatif doz ve CIS'a uzun süre maruz kalma PN'nin şiddetinin artmasına neden olur (Gregg et al., 1992). DRG'lerde bulunan duyu nöronları CIS'ın da dahil olduğu platin-türevi ajanların primer hedefi olmaktadır. DRG'lerde kronik hasara neden olan başlıca mekanizma platin-DNA eklentilerinin oluşmasıdır. Sonrasında mitokondriyal disfonksiyon ve ortaya çıkan oksidatif stres DRG nöronlarında meydana gelen apoptozun primer tetikleyicileri olarak dikkat çekmektedir. Mitokondriyal disfonksiyon sonucu hücre içi kalsiyum regülasyonu bozulmakta ve kaspaz aktivasyonu sonucu nöronal apoptoz meydana gelmektedir. Bu değişiklikler proinflamatuvar mediyatörleri ve büyüme faktörlerini salıveren glia hücrelerini uyararak periferik sensitizasyona yol açmaktadır. Bunun sonucunda duyu nöronlarında spontan deşarjlar ve hipereksitabilite meydana gelmektedir (X. M. Wang, Lehy, Brell, & Dorsey, 2012). CIS, TRPV1 ve TRPA1 reseptörlerinin upregülasyonuna neden olmasıyla nosiseptif nöronlarda duyarlılığın artmasına yol açmaktadır (Ta et al., 2010). Aynı zamanda NMDA reseptörlerinde ve TRPV reseptörlerinde upregülasyona neden olması da periferik sensitizasyona katkıda bulunmaktadır. CIS'in etki mekanizmaları arasında MAPK yolağı da yer almaktadır. CIS'in neden olduğu nöronal apoptozun p38 ve ERK1/2 aktivasyonu sonucu meydana geldiği, nöroprotektif role sahip JNK/Sapk ekspresyonunda azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Scuteri et al., 2009; Scuteri et al., 2010). DRG nöronlarının apoptozuyla karakterize olan PN'de JNK/Sapk ve ERK1/2 aktivasyonu arasındaki dengenin nöronal sağkalım açısından önemli olduğu öne sürülmüştür (Scuteri et al., 2010).

CGA, tüketilen pek çok yiyecek ve içecekte bulunan ve sağlığa yararlı etkileriyle dikkat çeken önemli bir prolifenolik bileşiktir. Saf halde ya da metabolitleri kan beyin bariyerini kolayca geçebilmekte ve SSS'yi direkt olarak etkileyebilmektedir (Ito et al., 2008). Antiinflamatuvar, antioksidan, antigenotoksik ve nöroprotektif etkileri gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Cropley et al., 2012; M. D. dos Santos et al., 2006; J. Han et al., 2010; Kwon et al., 2010; Li et al., 2008; Weng & Yen, 2012). Güçlü bir antinosiseptif etkiye de sahip olduğu düşünülmektedir. *Urtica urens*, *Urtica circularis* and *Cheilanthes farinosa* gibi tıbbi amaçla kullanılan

bitkilerin ağrıyı azalttığı ve bu etkide içeriklerinde bulunan CGA'nın neden olduğu öne sürülmüştür (Gorzalczany et al., 2011; Marrassini et al., 2010; Yonathan et al., 2006). İnflamatuvar ağrı, nöropatik ağrı ve viseral ağrı modellerinin çalışıldığı çeşitli prelinik çalışmalarda da CGA'nın analjezik etkileri üzerinde durulmuştur (Bagdas et al., 2013; M. D. dos Santos et al., 2006; K. Hara et al., 2014). CGA'nın analjezik etkileri altında yatan mekanizma tam aydınlatılamamış olmakla beraber antiinflamatuvar etkileri dolayısıyla olduğu düşünülmektedir. Çünkü CGA TNF-alfa, nitrik oksit ve interlökinler gibi bazı inflamatuvar mediyatörlerin periferik sentezini ve salıverilmesini inhibe edici etkilere sahiptir (Chauhan et al., 2012; M. D. dos Santos et al., 2006; Kupeli Akkol, Bahadır Acikara, Suntar, Ergene, & Saltan Citoglu, 2012). Dolayısıyla duyu nöronlarında duyarlılığa katkıda bulunan inflamatuvar sitokinlerin azalması aşırı ağrı algısının ortadan kalkmasına katkı sağlayabilir. CGA aynı zamanda kimyasal yapısı sebebiyle serbest radikallerle reaksiyona girerek onları etkisiz hale getiren bir bileşiktir. Antioksidan etkilerinin oluşan süperoksit radikalini süpürücü etkisi, hidroksil radikali oluşumunu azaltması ve lipid peroksidasyon hızını azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Pavlica & Gebhardt, 2005). CGA'nın oksijen, nitrojen reaktif bileşiklerinin ve organik serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmada etkili olduğu gösterilmiştir (Kono et al., 1997). Yüksek antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin aynı zamanda nöroprotektif etkilerine de katkısının olduğu düşünülmektedir (Nabavi et al., 2017). Hem antinosiseptif etkileri, hem antioksidan etkileri hem de nöroprotektif etkileriyle CGA, CIS'a bağlı gelişen PN tedavisi için aday bir ajan olabilir.

Çalışmamızda hem CIS'in neden olduğu PN'de hem de CGA'nın etkilerinde önemli bir sinyalizasyon molekülü olan NO'nun katkıları da değerlendirilmiştir. NO ağrı çalışmalarında geniş ölçüde çalışılan bir mediyatördür. Sinaptik aralıkta nöromediyatör olarak davranır ve post-sinaptik sinir ucundan pre-sinaptik sinir ucuna retrograd mesajcı olarak görev alır (O'Dell, Hawkins, Kandel, & Arancio, 1991; Pacher, Beckman, & Liaudet, 2007). Etkilerini cGMP aracılığıyla gösterir (Ignarro, 1991). NO proinflamatuvar özelliklerini COX enzimlerini modüle ve aktive ederek göstermektedir ve sonuçta prostaglandinlerin salıverilmesine neden olmaktadır (Mollace, Muscoli, Masini, Cuzzocrea, & Salvemini, 2005; Salvemini et

al., 1993). Ağrı açısından dual etkilere sahiptir (Kawabata, Manabe, Manabe, & Takagi, 1994). Hem nosiseptif hem de antinosiseptif etkilere neden olabilir. Kawabata ve arkadaşları düşük doz LARG injeksiyonu sonrasında nosiseptif cevabın ortaya çıktığını, yüksek doz injeksiyonun ise nosiseptif etkiyi baskıladığını görmüşlerdir (Kawabata et al., 1994). Nöropatik ağrı modelinde ise NO donörünün doz bağımlı dual etkilere neden olduğu görülmüştür (Sousa & Prado, 2001). Farklılıkların çalışmalarda kullanılan NO donörlerinin dozları, ağrının test edildiği model ve kullanılan deney hayvanına bağlı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Deneysel verilere göre NO'nun NMDA reseptörleri ve COX enzimleriyle interaksyonu sonrasında hiperaljezik etki ortaya çıkarken, analjezik etkilerine aracılık eden mekanizmanın cGMP-PKG-ATP duyarlı K<sup>+</sup> kanal yolağının aktivasyonu olduğu gösterilmiştir (Durate, Lorenzetti, & Ferreira, 1990).

Kendisi bir radikal olmasına rağmen, sahip olduğu kimyasal ve fiziksel özellikleri NO'nun hem oksidan hem de antioksidan özellikler kazanmasına neden olur. NO'nun oksidan ya da antioksidan özellikler kazanması lokal doku çevresine bağlıdır. Bulunduğu dokuda oksidan yük düşükse, yüksek reaktif özellikleri NO'ya oksidan özellikler kazandırır. Oksidan yükün fazla olduğu durumlarda NO antioksidan rol üstlenir ve süperoksit de dahil reaktif oksijen bileşiklerini süpürücü etki gösterir (Dweik, 2005). Süperoksitle reaksiyona girerek ondan daha az toksik moleküller açığa çıkarır (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Çeşitli sitotoksik mekanizmalardaki paradoksik etkileri nedeniyle NO'nun nasıl etkiler ortaya çıkaracağı oldukça karmaşıktır. Kendisi güçlü bir sitotoksik ajan olmamasına rağmen diğer sitotoksik ajanlara (ağır metaller, alkilleyici ajanlar, radyasyon) karşı hücreleri duyarlı hale getirir (Wink & Mitchell, 1998). NO'nun nasıl bir biyolojik cevap oluşturacağı nerede, ne zaman ve ne kadar miktarda sentezleneceğine bağlıdır. NO'nun düzenleyici etkilere sahip olması ya da oksidan etkilere sahip olması bulunduğu ortamda hem miktarına hem de kalma süresine bağlıdır. NO'yu sentezleyen 3 enzimden cNOS tarafından düşük miktarda ve kısa süreli sentezlendiğinde düzenleyici etkileri baskın olurken, iNOS tarafından sentezlenen NO daha yüksek miktarlarda açığa çıkar ve reaktif nitro-oksidatif özellikleri açığa çıkar (nitrozasyon, nitrasyon, oksidasyon) (Wink & Mitchell, 1998). NO'nun dual etkileri

bazı fizyolojik olaylarda da görülmektedir. NO'nun düşük konsantrasyonlarda nöronal farklılaşma, nöronal sağkalım, sinaptik plastisite, nöroproteksiyon, vasküler homeostazis ve vazodilatasyon gibi olaylarda intraselüler ve interselüler düzenleyici molekül olarak yer aldığı gösterilmiştir (Vallance & Leiper, 2002). Nörotoksisite ve patolojik ağrı gibi patolojik ve patofizyolojik durumlarda yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik bir molekül gibi davranmaktadır (M. R. Hara & Snyder, 2007).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda CGA'nın etkileri 3 farklı aşamada incelenmiştir. İlk aşamada CGA'nın etkisi primer dorsal kök gangliyon hücrelerinde CIS'in neden olduğu nörotoksisite üzerinde değerlendirilmiştir. Primer nöron kültürleri sinir sistemi homeostazisini etkileyebilecek internal ve eksternal uyarılara karşı oluşan hücresel ve moleküler cevabın değerlendirilmesinde önemli bir araçtır. PN incelemelerinde moleküler mekanizmaların incelenmesi nöroprotektif ajanların değerlendirilmesi açısından önem taşır (Melli & Hoke, 2009). Bu nedenle çalışmamızda CIS ve CGA'nın etkileri primer DRG hücre kültüründe değerlendirilmiştir. Sonuçlarımıza göre yüksek konsantrasyonda kullanılan CGA, CIS'in neden olduğu nörotoksisiteyi engellemeyi başarmıştır. Çeşitli çalışmalarda aslında CGA'nın daha düşük konsantrasyonları metil civa, hidrojen peroksit,  $\alpha$ -sinükleine karşı sitoprotektif etkiye neden olurken bizim çalışmamızda CIS'a karşı CGA'nın yüksek konsantrasyonu sitoprotektif etkiye neden olmuştur (D. Han et al., 2017; Li et al., 2008; Teraoka et al., 2012). Bu farklılıkta kullanılan hücre, kullanılan sitotoksik ajan ve protokolün rolü olabilir. Bazı çalışmalarda CGA'nın ön uygulamasıyla sitotoksik ajana karşı endojen antioksidan enzimleri aktive etmesi sonucu daha düşük dozların sitoprotektif etkinin ortaya çıkması için yeterli olduğu öne sürülmüştür (J. Yao, Peng, Xu, & Fang, 2019). Çalışmamızda CIS ile beraber uygulandığında açığa çıkan reaktif oksijen bileşiklerinin tamponlanması için daha fazla konsantrasyona gereksinim olduğu düşünülebilir. Yüksek konsantrasyonlarda ( $>100 \mu\text{M}$ ) uygulanan NO donörlerinin, toksik konsantrasyonlarda NO açığa çıkmasıyla çeşitli memeli hücrelerde apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Fiscus, 2002; Fiscus, Yuen, Chan, Kwong, & Chew, 2002). Daha düşük fizyolojik düzeylerde NO konsantrasyonu ise akciğer fibroblast,

insan B lenfositleri, ve çeşitli normal ya da trasforme edilmiş nöral hücrelerde apoptozu önlediği gösterilmiştir (Fiscus, 2002; Mannick, Asano, Izumi, Kieff, & Stamler, 1994; Wink et al., 1993). Benzer şekilde çalışmamızda da CIS ile beraber uygulanan 100 µM NO donörü LARG'nin toksik etkiye sebep olduğu görülmüştür (Şekil 4-1). CIS ile artan hücre içi toksik NO düzeylerinin LARG ile daha artması DRG hücrelerinde toksisiteye katkıda bulunduğu düşünülebilir. CIS+LNAME verilen grupta da CIS+CGA1000 grubuna benzer sitoprotektif etki bulunmuştur. Bu durum CIS'in uygulanmasıyla hücrelerde oluşan iNOS artışına bağlı artan NO düzeylerinin LNAME uygulanmasıyla fizyolojik konsantrasyonlara indirilebilmesi olarak değerlendirilebilir. Ayrıca kanser hücrelerinde iNOS'un CIS'a bağlı apoptoza aracılık ettiği, eNOS/nNOS'un ise CIS'a bağlı gelişen apoptozu baskıladığı da gösterilmiştir (Leung, Fraser, Fiscus, & Tsang, 2008). LNAME verilmesiyle üç NOS izoformunun da inhibe edilmektedir. Sonuçta toksik etkinin açığa çıkması beklense de NO'nun antiapoptotik ya da pro-apoptotik etki göstermesinin hücre tipine, lokal NO düzeylerine, NO oluşma kaynağına ve beraberinde oluşan superoksit radikalinin aşırı üretilmesi sonucu toksik pro-oksidan peroksinitritin açığa çıkmasına bağlı olduğu dikkate alınmalıdır (Fiscus, 2002; Fiscus et al., 2002).

İkinci aşama olan akut deneylerde 3 sonuç hedeflenmiştir: (1) 5 hafta boyunca CIS verdiğimiz bütün gruplarda PN oluşumunun saptanması; (2) tek doz uygulanan CGA'nın 1. ve 3. saat ölçümlerinin pre-doz ölçümlerle karşılaştırılması; (3) CGA'nın kronik deneyler için kullanılacak etkin optimum dozunun bulunması. Sonuçlarımıza göre CIS'in mekanik allodini ve soğuk allodiniye sebep olduğu ancak termal hiperaljezi yapmadığı tespit edilmiştir. Periferik ağrının test edildiği kuyruk çekme testinde kuyruk çekme latensini değiştirmedeği gösterilmiştir. Aynı zamanda CIS'in motor performansı bozduğu da aktivitemetre testiyle gösterilmiştir. Dolayısıyla 5 hafta sonunda CIS uygulanan bütün gruplarda nöropati gelişmiştir. Normal protokolde son injeksiyonu takiben 6.günde ölçümler yapılmasından dolayı akut deneylerde hem son injeksiyon sonrası 2.günde (31.gün) hem de 6.günde (35.gün) pre-doz ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ağrı testlerinde ve motor performans testinde pre-doz ölçüm değeri olarak bütün gruplarda nöropatinin tespit edildiği 31.gün verisi pre-doz olarak alınmıştır. Son

CIS injeksiyonu sonrası 3.günde (32.gün) tek doz CGA 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda gruplara uygulanmıştır. Tek doz CGA uygulanan bütün dozlarda CIS'in neden olduğu PN'yi hafifletmiştir. Ancak CIS'in bozduğu motor performans üzerine tek doz CGA'nın bir etkisi tespit edilememiştir. CGA'nın kronik deneylerde kullanılmak üzere 100 mg/kg dozu optimum doz olarak seçilmiştir. Bu doz aynı zamanda daha önce başka nöropatik ağrı modellerinde de CGA'nın antinosiseptif etkilerinin görüldüğü dozdur (Bagdas et al., 2013; Bagdas et al., 2014).

Araştırmanın 3.aşamasında CIS ile eş zamanlı olarak uygulanan CGA'nın potansiyel antinosiseptif etkileri, motor performans ve motor koordinasyon üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Aynı zamanda bu aşamada sıçanlardan intrakardiyak perfüzyon sonrası toplanan periferik dokulardaki patolojik değişikliklerin değerlendirmeleri yapılmıştır. Deneyin 4. ve 5. haftalarında CIS uygulanan bütün sıçanlarda kanlı ishal gözlenmiştir. Bu durumun CIS'in gastrointestinal yan etkilerinin bir sonucu olduğu görülmektedir (Shahid, Farooqui, & Khan, 2018). Bu durumun CGA uygulanan gruplarda görece daha az olduğu görülmüştür. Güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle CGA'nın mukozal hasarlar üzerine de koruyucu etkileri olduğu düşünülebilir. Çeşitli ülser modellerinde CGA'nın gastroprotektif etkilere de sahip olduğu gösterilmiştir (Kang & Lee, 2014; Shimoyama et al., 2013). Vücut ağırlıklarına bakıldığında kontrol grubu dışında bütün gruplarda kilo kaybı olduğu görülmüştür (Şekil 4.6).

Ağrı çalışmaları akut deneylerde olduğu gibi değerlendirilmiştir. CIS'in mekanik allodini ve soğuk allodini yaptığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7 ve 4.10). CIS termal hiperaljezi ve kuyruk sıkıştırma testlerinde anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır (Şekil 4.8 ve 4.9). Benzer sonuçlara Guindon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da rastlanılmıştır (Guindon, Lai, Takacs, Bradshaw, & Hohmann, 2013). CGA ise CIS'in allodinik etkilerini azaltabilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda CGA'nın CIS da dahil kemoterapiye bağlı gelişen PN'deki etkilerini gösteren çalışma yoktur. Ancak çeşitli fitokimyasalların ve tıbbi bitkilerin kemoterapi ajanlarına bağlı gelişen PN'de yararlı etkileri gösterilmiştir (G. Lee & Kim, 2016). Örneğin polifenolik bir bileşik olan kurkumin, CIS ile

beraber uygulandığında CIS'in nörotoksik etkilerini azalttığı ve bu etkiye güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin katkı sağladığı gösterilmiştir (Al Moundhri, Al-Salam, Al Mahrouqee, Beegam, & Ali, 2013). Farklı nöropatik ağrı modellerinde CGA'nın yararlı etkileri gösterilmiştir (Bagdas et al., 2013; Bagdas et al., 2014) Diyabetik sıçanlarda da meydana gelen PN'de mekanik allodini testinde düşen pençe çekme latensini düzelttiği gösterilmiştir (Bagdas et al., 2014).

CGA'nın aynı zamanda metabolitlerinin de antihiperalezik etkileri olduğu bilinmektedir. Metabolitlerinden biri olan kafeik asitin karregenana bağlı inflamatuvar ağrıda antihiperalezik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Mehrotra, Shanbhag, Chamallamudi, Singh, & Mudgal, 2011). CGA'nın diğer metabolitlerinden biri olan ferulik asitin ise vinkristine bağlı gelişen PN modelinde mekanik allodini ve soğuk allodini testlerinde iyileştirici etkileri görülmüştür (Vashistha, Sharma, & Jain, 2017). Kronik uygulanan CGA'nın antinosiseptif etkilerine aynı zamanda metabolitlerinin katkı sağladığı düşünülebilir. Bu hipotezin doğrulanması için ileri araştırmalara gerek vardır.

Mekanik allodini testinde CIS+LARG grubunda bazale göre anlamlı şekilde pençe çekme latensinin azaldığı bu etkinin CIS'in kendi başına görülen toksik etkisinden farklı olmadığı görülmüştür. Mekanik allodini testinde CIS+LNAME ise CIS'in neden olduğu düşen pençe çekme latensini bazal düzeylere çıkarabilmiştir (Şekil 4.7). Kronik olarak uygulanan CIS'in neden olduğu iNOS aktivasyonu sonucu açığa çıkan toksik NO'nun LARG ile konsantrasyonlarının daha da artması sonucu ağrı hassasiyetinde artış meydana gelmesi beklenen bir sonuçtur. LNAME ise CIS'in neden olduğu ağrı hassasiyetini azaltabilmiştir. NO, nörotrofik faktörlerin artması, proinflamatuvar sitokinlerin salıverilmesi nosiseptörlerde duyarlılığın meydana gelmesine ve mekano-hipersensitiviteye yol açmış olabilir. Dolayısıyla LNAME ile NO düzeylerinin azaltılması CIS'in sebep olduğu duyarlılaşmayı azaltabilmiştir.

Soğuk plaka testinde ise CIS'in soğuk allodiniye neden olduğu gösterilmiştir. CGA soğuk allodini testinde pençe çekme latensini bazal düzeye getirebildiği görülmüştür (Şekil 4.10). Siyatik sinirde kronik konstriksiyon hasarına bağlı nöropatik ağrı modelinde intratekal uygulanan CGA mekanik

allodini ve soğuk hiperaljezisini hafiflettiği görülmüştür ve bu etkilerine GABAerjik transmisyonun aracılık ettiği gösterilmiştir (K. Hara et al., 2014). CGA'nın antiallodinik etkilerinde metabolitlerinin de katkısı olabileceği düşünülebilir. Soğuk plaka testinde 10 mg/kg LARG ve 10 mg/kg LNAME'in hem CIS+CGA ile hem de tek başına CIS ile uygulanan gruplarda pençe çekme latensini düşürdükleri tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

L-nitro-arginin-metil-ester (L-NAME), spesifik olmayan NOS inhibitörüdür. Karragenanla indüklenen termal hiperaljezide ya da kronik konstriksiyon hasarında analjezik etkileri gösterilmiştir (Meller, Pechman, Gebhart, & Maves, 1992; Osborne & Coderre, 1999). Bu analjezik etkiyi LARG etkili bir şekilde inhibe etmiştir. LNAME aynı zamanda siyatik sinir ligasyon modelinde nöropatik ağrı semptomlarını da etkili bir şekilde iyileştirmiştir ve antiallodinik etkileri LARG tarafından engellenmiştir (S. H. Kim & Chung, 1992; Yoon, Sung, & Chung, 1998). NOS aktivitesinde lokal değişikliklerin değişen ağrı davranışının ortaya çıkması ve/veya sürdürülmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Choi, Raja, Moore, & Tobin, 1996). Ancak hangi NOS izoformunun hangi nosiseptif modelde nosiseptif cevaptaki değişikliklerden sorumlu olduğu hakkındaki bilgiler kısıtlıdır. Farklı NOS izoformlarının periferik ya da spinal nosiseptif mekanizmalardaki rolleri de bilinmemektedir. O nedenle ağrı çalışmalarında farklı NOS izoformlarına yönelik selektif inhibitörler kullanılması bu mekanizmaların aydınlatılması açısından önemlidir. Siyatik sinir ligasyon modelinde 100 mg/kg LARG antioksidan özellikleriyle bilinen melatoninin koruyucu etkilerini azaltırken 5mg/kg LNAME koruyucu etkilerini potansiyelize etmiştir. Kullanılan ajanların dozları, model farklılıkları ve lokal NO düzeylerinin NO yolağının etkisini değerlendirmede önemli olduğu düşünülmektedir.

TRPM8 ve TRPA1 transient reseptör potansiyel superailesinin iki üyesidir. Bunlar serin ve soğuk aktivasyon sıcaklıklarında nosiseptör iletiminde rol oynayan iyon kanallarıdır. TRPM8 ve TRPA1'in sırasıyla 23°C ve 18°C altında aktive oldukları bilinmektedir (Story et al., 2003). Soğuk bir uyarın cilt yüzeyine temas ettiğinde deri yüzeyi ile soğuk nosiseptör sinir uçları barındıran alt tabakalar arasında sıcaklık gradiyenti meydana getirir ve soğuk ağrı algısıyla bu



iyon kanalları aktive olur. Bu ağrı algısında eksternal sıcaklık, deri sıcaklığı, vücut sıcaklığı, deri kalınlığı ve kan akımı ve aynı zamanda kanalların aktivasyon eşikleri gibi çok çeşitli etkenler rol oynayabilir. SSS'de bir cevap oluşması için gereken aktif aferentlerin sayısı, soğuk uyarana maruz kalan cilt yüzeyine ve bu reseptörlerin aktivasyon eşiklerine bağlıdır (Allchorne, Broom, & Woolf, 2005). TRPV1 ve TRPA1 kanallarının NO donörleri tarafından aktive olduğu ve inflamatuvar mediyatör kaynaklı ağrının ortaya çıkmasında etkili oldukları öne sürülmüştür (Takahashi et al., 2008). Dolayısıyla çalışmamızda kullanılan LARG, TRPA1 kanallarında aktivasyona yol açarak normalde ağrı oluşturmeyen soğuk uyarana karşı artmış hassasiyete sebep olduğu ve mekanik allodini testindeki etkisine göre daha fazla cevap oluşturduğu düşünülebilir. TRPV1 kanallarında güçlü bir aktivasyonun TRPA1 kanallarında desensitizasyona neden olduğu da gösterilmiştir (Jeske et al., 2006). Bu iki kanalın da DRG nöronlarında eksprese edildikleri gösterilmiştir ve interselüler sinyalizasyon mekanizmaları ile iletişim halindedir (Story et al., 2003). Ağrı testlerinde LARG ve LNAME'nin farklı etkilerinin görülmesi periferik NO'nun sensitize ya da hiperaljezik durumda olduğuna göre değişebilir. TRPV1 ve TRPA1 kanallarının periferik NO cevabına göre nosisepsiyonu düzenleyebildikleri gösterilmiştir (Miyamoto, Dubin, Petrus, & Patapoutian, 2009). Aynı zamanda hücrelerin redoks durumunun bu kanalların aktivasyonunda rol oynadığı bilinmektedir (Shimizu, Takahashi, & Mori, 2014). Çalışmamızda sitotoksik bir ajan varlığında ortaya çıkan reaktif oksijen ve nitrojen bileşiklerinin de bu kanalların aktivasyonları açısından önemli olabileceği düşünülebilir ancak bu konuda ileri çalışmalara gerek duyulmaktadır. Nöropatik ağrı durumunda hem TRPM8 hem de TRPA1 kanallarında upregülasyon olduğu dolayısıyla TRPM8 ve TRPA1 blokörlerinin soğuk ağrı algısını azalttıkları bulunmuştur (Trevisan et al., 2014; H. Wei, Karimaa, Korjamo, Koivisto, & Pertovaara, 2012). CGA'nın bu kanallar üzerindeki aktivitesi de ileri çalışmalarda değerlendirilmesi düşünülmektedir.

CGA'nın aynı zamanda DRG'lerde bulunan asit duyarlı kanallar üzerinden de analjezik etkiye neden olabileceği yeni hücrel ve moleküler mekanizma olarak öne sürülmüştür (Qu, Liu, Qiu, Li, & Hu, 2014). Bu asit duyarlı kanalların ekspresyonlarının CIS'a bağlı gelişen hiperaljezide arttığı gösterilmiştir (Hori,

Ozaki, Suzuki, & Sugiura, 2010). Dolayısıyla CIS'in neden olduğu nöropatik ağrıda CGA bu kanallar üzerinden de yarar sağlamış olabilir.

Ek olarak CIS hem aktivitemetre testinde motor performansı hem de rotarod ve ayak izi analizinde motor koordinasyonu da bozduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11, 4.13, 4.14). Bu testler sıçanlarda motor fonksiyon bozukluklarının belirlenmesinde kullanılan testlerdir. CIS gibi platin-türevi ajanların kronik duyu nöropatisine neden olduğu iyi bilinmektedir (Argyriou et al., 2007), ancak motor fonksiyonlar üzerindeki nörotoksik etkileri hakkında bilinenler sınırlıdır. Yapılan çalışmalarda da CIS'in spontan lokomotor aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (Malik et al., 2006; Shabani, Larizadeh, Parsania, Hajali, & Shojaei, 2012). Geller ve arkadaşları CIS uygulamasının serebellar nöronlarda ROS üretimini artırdığı bunun sonucunda oksidatif DNA hasarına yol açtığını bildirmişlerdir (H. M. Geller et al., 2001). Serebellum motor koordinasyondan ve yeni motor becerilerin kazanılmasından sorumlu beyin bölgesidir. Burası kronik antikanser ajan maruziyeti sonucunda kan beyin bariyerinin permeabilitesinin artması sonucu bu ajanların toksik etkilerinden yüksek oranda etkilenen beyin bölgelerindedir (Shabani et al., 2012). CIS'in neden olduğu serebellumdaki ciddi yapısal değişiklikler ve serebellar nöronlardaki hücre ölümleri motor koordinasyonun bozulmasına neden olarak düşünülebilir. CIS ile eş zamanlı verilen CGA'nın bozulan motor performansı ve motor koordinasyonu düzelttiği hem rota rod hem de ayak izi analiziyle gösterilmiştir.

Büyük DRG nöronları miyelinli aksonlara sahip olup mekanosepsiyondan sorumludur. Daha küçük DRG nöronlar ise daha ince miyeline sahiptir ya da miyelinsizdir. Fonksiyonları bakımından ayrılırlar. Bazıları mekanosepsiyon ve termosepsiyondan sorumlu olurken büyük bir çoğunluğu nosiseptör olarak görev alır. nNOS izoformu eksprese eden bütün gangliyon hücreleri küçük ya da orta büyüklüktedir. Bu nöronların küçük boyuta sahip olanlarının nosisepsiyonda yer alabileceği öne sürülmüştür (Meller & Gebhart, 1993). Çalışmamızda DRG nöron soma alanı-frekans histogramına bakıldığında genel olarak küçük çaplı nöron frekansının CIS, CIS+CGA ve CIS+LARG/LNAME gruplarında fazla olduğu dolayısıyla mekano-sensitif ve termo-sensitif nöronların sayıca fazla olduğu görülmektedir. CIS+CGA+LARG/LNAME gruplarında görece mekano-sensitif

daha büyük çaplı nöronlarda artış olduğu görülmektedir. Bu gruptaki nöronların fenotiplerinin yorumlanmasında immünohistokimyasal çalışmalara gerek duyulmuştur.

Siyatik sinirlerin histopatolojik analizinde CIS grubunda miyelinli liflerde yaygın aksonal dejenerasyon görülmüştür. CGA grubunda dejenerasyonun CIS grubuna göre görece düzeldiği, rejenere aksonların sayıca daha fazla olduğu görülmüştür. CIS+CGA+LARG/LNAME gruplarında da yaygın dejenerasyon görülse de sadece CIS+LARG/LNAME verilen gruplarda dejenerasyonun daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.17). DRG nöronlarının histopatolojik değerlendirmesinde ise kontrol grubunda normal histoloji görülürken CIS grubunda hasarı gösteren mikrovakuolizasyonların arttığı, sitoplazma membranda bozulmalar meydana geldiği görülmektedir (Şekil 4.15). Bu yapısal değişiklikler CIS'in fonksiyon testlerindeki etkilerini açıklamaktadır. CIS+CGA grubunda ise bozulan histolojik yapının görece düzeldiği, hücrelerdeki yapısal bozulmaların azaldığı görülmüştür. CGA yapısal olarak da DRG nöronları ve siyatik sinirlerde iyileşme göstermiştir. Hem LARG hem de LNAME'nin siyatik sinir ve DRG nöronlarında yapısal hasara neden olduğu gösterilmiştir (şekil 4.15 ve 4.17). NO donör ve spesifik olmayan NOS inhibitörünün neden olduğu yapısal değişiklikler fonksiyon testlerindeki etkilerinin yorumlanmasında katkı sağlayamamıştır. NO'nun inflamatuvar koşullarda PSS'deki aksonal dejenerasyonda önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Sitotoksik ajan varlığında hücrelerdeki NO düzeylerinin arttığı aynı zamanda açığa çıkan serbest oksijen radikal düzeyleriyle reaksiyona girmesi sonucu oluşan peroksinitritin hem DRG hem de siyatik sinir liflerinde sitotoksik etkilere sebep olması beklenmektedir (Beckman, Beckman, Chen, Marshall, & Freeman, 1990). NO donörü LARG'in sitotoksik etkinin ortaya çıkmasında etkili olduğu düşünülebilir. LNAME ise spesifik olmayan NOS inhibitörüdür. Dolayısıyla açığa çıkan fazla konsantrasyonlardaki NO'yu engellemesi bakımından sitoprotektif olabileceği düşünülse de yapısal ve koruyucu nitelikteki NOS izoformlarını da inhibe etmesiyle sitotoksik etkinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuş olabilir. NO'nun sitoprotektif ya da sitotoksik etkileri yukarıda da bahsedildiği gibi hücrelerin oksidan durumuyla yakından ilgilidir.

Böbrekler CIS'in biriktiği primer bölge olarak bilinmektedir. Böbrekler CIS'in vücuttan atılmasından sorumlu organlardır (X. Yao, Panichpisal, Kurtzman, & Nugent, 2007). CIS uygulaması sonrasında proksimal tübüler hücreler bu ajanın toksik etkisine yüksek oranda maruz kalmaktadır. CIS, hipoksi, serbest radikallerin oluşumu, inflamasyon ve apoptoz gibi birçok mekanizmayla tübüler hasara neden olur (K. W. Lee et al., 2009). CIS'in, böbrek epitel hücrelerinin mitokondrileri içinde biriktiği ve hücre içi glutatyon konsantrasyonlarını azaltarak antioksidan enzim aktivitesini azalttığı ve bununla beraber reaktif oksijen bileşiklerinin üretimini uyardığı bilinmektedir (Nitha & Janardhanan, 2008). Akut tübüler nekroz aynı zamanda hücre içi kalsiyum düzeylerinin değişmesiyle de ilişkilidir. NO, CIS'in neden olduğu nefrotoksisitede önemli rol oynar (K. W. Lee et al., 2009). CIS'a bağlı gelişen akut böbrek hasarında endotelial NO (eNOS) ekspresyonu azalırken, indüklenbilir NO (iNOS) ekspresyonu artar (Bae et al., 2009). Dolayısıyla eNOS renal fonksiyonu korurken, iNOS doku hasarına neden olur. Buna ek olarak CIS'a bağlı gelişen renal toksisitenin inflamatuvar sürecin uyarılmasıyla da ilişkili olduğu gösterilmiştir (Bae et al., 2009).

Çalışmamızdaki histopatolojik değerlendirmede ve böbrek hasar skorlamasında CIS kontrole göre anlamlı şekilde patolojiyi kötüleştirmiştir (Şekil 4.20). CIS grubundaki görülen yaygın tübüler atrofi, tübüler dilatasyon ve hemorajik alanların CIS+CGA grubunda nispeten düzeldiği görülmüştür. Bu düzelmeye böbrek hasar skorlamasında da gösterilmiştir (Şekil 4.21). CGA'nın CIS'in neden olduğu nefrotoksisitede yararlı birçok etkisi olabilir. Oksidatif stres CIS'a bağlı gelişen böbrek hasarında kritik bir role sahiptir (Santos et al., 2008). CGA'nın CIS'in neden olduğu aşırı lipid peroksidasyonunu baskılaması ve bazı stres mediyatörlerinin ekspresyonlarını azaltmasıyla renoprotektif etkiye katkı sağlamış olabilir (Domitrovic, Cvijanovic, Susnic, & Katalinic, 2014). İnflamasyon da CIS nefrotoksisitesinde bir diğer önemli faktördür (R. P. Miller, Tadagavadi, Ramesh, & Reeves, 2010). CIS, TNF-alfa ve COX-2 gibi böbrek hasarında rol oynayan proinflamatuvar sitokinlerin ve enzimlerin salıverilmesini uyarır. Bu mediyatörlerin inhibisyonu sonucu CIS nefrotoksisitesinin azaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Jia et al., 2011). CGA da hem TNF-alfa hem de COX-

2 düzeylerinde doz bağımlı azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Domitrovic et al., 2014). Böbrek hasarında CIS'in neden olduğu apoptotik hücre ölümleri de önem taşımaktadır. CGA'nın aynı zamanda CIS'in kaspaz bağımlı apoptoz mekanizmasında da yararlı etkileri gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada CGA uygulamasının apoptozda önemli rol oynayan p53, Bax ve aktif kaspaz 3 ekspresyonlarını azaltarak CIS nefrotoksitesini azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca CGA'nın, CIS'in renal tübüler transportundan sorumlu taşıyıcı moleküllerin regülasyonunda da rol oynadığı gösterilmiştir (Domitrovic et al., 2014).

Çalışmamızda CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME gruplarının histolojik incelemesinde orta derecede böbrek hasarı gözlenmiştir (Şekil 4.20). Bu sonucu böbrek hasar skorlaması doğrulamaktadır (Şekil 4.21). Skorlamaya göre bu grupların hasar skoru CIS grubuna göre daha az olduğu görülmüştür. CIS varlığında hücrelerde oluşan iNOS aracılı nitrik oksitini CIS+LNAME tarafından baskılanması toksik etkinin azalmasına kısmen katkı sağlasa da LNAME'nin bütün NOS tiplerini inhibe etmesi dolayısıyla koruyucu etkileri olabilecek eNOS'u da inhibe etmesi sebebiyle toksik etkiye katkı sağlamış olabilir. CIS+CGA+LNAME ve CIS+LNAME gruplarında, CGA'nın iNOS ekspresyonunu azalttığı bilinmektedir, iNOS'un böbrek hasarında önemli bir yeri olduğu bilinmektedir ancak CIS ve LNAME ile beraber verildiğinde ortaya çıkan toksik etkiyi azaltamamıştır. LARG yapılan çeşitli çalışmalarda CIS nefrotoksitesini engellerken çalışmamızda CIS verilen gruba göre toksisiteyi azaltsa da kontrol grubuna göre toksisiteyi artırdığı gözlenmiştir.

Yüksek dozlardaki CIS'in hepatotoksik etkiye sebep olduğu bilinmektedir (N. A. dos Santos, Martins, Curti, Pires Bianchi Mde, & dos Santos, 2007). Oksidatif stresin bu etkide primer neden olduğu düşünülmektedir (Y. Lu & Cederbaum, 2006; Waseem, Bhardwaj, Tabassum, Raisuddin, & Parvez, 2015). Selenyum ve yüksek doz E vitamini gibi antioksidan moleküllerin CIS'a bağlı oksidatif karaciğer hasarına karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Naziroglu, Karaoglu, & Aksoy, 2004). CIS aynı zamanda hepatositlerde NO'nun da artmasına neden olur (Kaltalioglu\*, Balabanli, & Coskun-Cevher, 2019; Yilmaz et al., 2005). CGA'nın metotreksata bağlı hepatotoksitede koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu etkide inflamatuvar (iNOS, COX2) ve apoptotik mediyatörleri

(Bax, kaspaz3-9) azaltması önemli rol oynamaktadır (Ali et al., 2017). CGA'nın güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri CIS'in neden olduğu hepatotoksisitede de yararlı olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızdaki histolojik incelemede CGA'nın CIS'in neden olduğu histopatolojik bulguları bariz olarak azalttığı görülmüştür. CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME gruplarında da toksik tablo izlenirken LNAME kombinasyon gruplarında hepatosit kordon yapılarında tamamen bozulma, hepatositlerde vakuolizasyon ve bağ dokuda ciddi hasarın olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.18 ve 4.19). Sağlıklı bir karaciğerde hem iNOS hem de eNOS izoformlarının bulunduğu gösterilmiştir (McNaughton et al., 2002). Farklı deneysel çalışmalarda NO'nun karaciğer hasarı ve nekrozda rol oynadığı gösterilirken bazı çalışmalarda da hepatositlerde hasar derecesini ve nekrozu azalttığı, inflamatuvar mediyatör düzeylerini düşürerek karaciğer hasarının önlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (C. J. Chu et al., 2006; Fiorucci et al., 2004). Çalışmamızda LNAME CIS'in neden olduğu toksik tabloyu histolojik olarak daha kötüleştirdiği görülmüştür. Dolayısıyla CIS'a bağlı gelişen hepatotoksisitede NO koruyucu özellik gösterirken NO düzeyinin non-spesifik NO sentaz inhibitörü ile azaltılması ciddi toksik etki ortaya çıkarmıştır. CIS+CGA+LNAME grubunda CGA'nın bu toksik etkiyi yapısal olarak değiştiremediği görülmüştür.

Biyokimyasal değerlendirmeler kronik deneylerde kullanılan sıçanların serumlarında yapılmıştır. TNF-alfa düzeylerinin beklendiği üzere CIS grubunda yüksek olduğu ve CGA uygulamasının TNF-alfa düzeylerini azalttığı görülmüştür. CIS+CGA+LARG/LNAME ve CIS+LARG/LNAME gruplarında da bu inflamatuvar sitokin yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür. TNF-alfanın nöropatik ağrı modellerinde hem periferik hem de santral sensitizasyonda rol oynadığı gösterilmiştir. TNF-alfa aynı zamanda DRG hücrelerinde eksitator cevabın ortaya çıkmasında da rol oynamaktadır (Schafers et al., 2008). K<sup>+</sup> iyon iletiminde de rol oynadığı dolayısıyla nöronal hipereksitabiliteye neden olduğu da gösterilmiştir (Czeschik, Hagenacker, Schafers, & Busselberg, 2008). Bu sitokin düzeylerinin yüksek olduğu CIS, CIS+CGA+LARG/LNAME, CIS+LARG/LNAME gruplarında ortaya çıkan fonksiyonel ve yapısal toksisitede rol oynadığı izlenmiştir (Şekil 4.22). LARG ve LNAME gruplarında meydana gelen yapısal değişiklikleri

TNF-alfa düzeyleri doğrulamıştır. CGA'nın da hem fonksiyonel hem de yapısal iyileştirici özelliklerinde antiinflamatuvar özelliklerinin de katkısının olduğu doğrulanmıştır. Diğer biyokimyasal parametrelerde değişiklik görülememiştir. Periferik dokularda yapılacak değerlendirme daha sağlıklı sonuçlar alınmasını sağlayabilir.

## 6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Kemoterapiye bağılı gelişen PN birinci basamak kemoterapi ajanlarının en önemli doz-kısıtlayıcı yan etkisidir. Dünya çapında giderek artan kanser vakaları göz önüne alındığında PN milyonlarca hastanın hayatını ciddi oranda etkilemektedir. Kanser hastalarında yaygın olarak görülmesi ve hastaların yaşam kalitesi üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle PN hem kanser hastaları ve kanserden kurtulanlar için hem de sağlık profesyonelleri için önemli bir problemdir. Hayat kurtarıcı kemoterapiyi sınırlandıran nöropatik semptomları önleyen ya da hafifleten tedavi arayışı son dönem araştırmaların hedeflerinden biridir.

Yeni ve etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi kemoterapi ajanının neden olduğu PN altında yatan mekanizmaların iyi anlaşılmasına bağılıdır. Oksidatif stres sadece karaciğer, böbrek ve kalpteki değil aynı zamanda PSS'deki CIS toksisitesinden sorumlu ana faktörlerden birisidir. Bu nedenle antioksidan ajanlar kemoterapi tedavi rejimlerinde nöroprotektif destek olarak yaygın bir şekilde araştırılmaktadır.

Sonuç olarak, CGA, CIS'a bağılı gelişen PN'de meydana gelen mekanik allodini ve soğuk allodiniyi azaltmıştır. Ayrıca bozulan motor aktivite ve motor koordinasyon testlerinde de düzelmeye neden olmuştur. Dolayısıyla güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle CIS'ın neden olduğu PN'de iyileştirici özellikler göstermiştir.

CGA'nın etkilerinde NO'nun katkısının anlaşılması için ileri araştırmalara gerek vardır. CIS ve CGA'nın etkilerinde NO yolağının etkisi sadece yapılan davranış deneylerine göre yorumlanmıştır. Dokudaki NO düzeylerinin gösterilmemesi ve daha spesifik NOS inhibitörlerinin kullanılmaması sonuçların değerlendirilmesi açısından kısıtlılık oluşturmuştur. Ayrıca kullanılan NO donör ve NOS inhibitörlerinin dozları da açığa çıkan NO'nun karakterini değiştirecek niteliktedir. Sonraki çalışmalarda NO donör ve inhibitörlerinin farklı dozları da çalışmaya dahil edilmesi düşünülmüştür. Ek olarak biyokimyasal parametreler sadece serum örneklerinde değerlendirilmiştir. Periferik dokulardaki TNF-alfa, GSH, interlökin düzeyleri bu dokularda oluşan hasarda inflamatuvar ve oksidan süreçlerin değerlendirilmesi bakımından daha çok bilgiye sahip olmamızı



sağlayabilirdi. Karaciğer ve böbrek toksisitesinin sadece histopatolojik olarak değerlendirilmesi esas patolojiyi anlamada yeterli bilgiyi sağlayamamıştır. Böbrek ve karaciğerdeki hasarın anlaşılmasında, kreatinin ve kan üre azotu, lipid peroksidasyon düzeyinin değerlendirilmesi patolojinin anlaşılmasında yarar sağlayabilirdi. Ek olarak ksantin oksidaz aktivitesi, enzimatik antioksidan status (katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz) ya da enzimatik olmayan antioksidan status (indirgenmiş glutatyon) gibi toksisite biyobelirteçlerinin değerlendirmesi daha anlamlı sonuçların ortaya çıkmasında yardımcı olabilirdi (Sultana, Verma, & Khan, 2012). Diğer hepatotoksisite biyobelirteci olarak alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri ilaca bağlı karaciğer hasarının değerlendirilmesine katkı sağlayabilirdi (Ozer, Ratner, Shaw, Bailey, & Schomaker, 2008).

Çalışmamız bütün kısıtlılıklarına rağmen literatüre önemli katkılarda bulunmuştur. CGA'nın CIS gibi bir sitotoksik bir ajan varlığında ortaya çıkan nörotoksistide ve PN'deki iyileştirici etkilerinin gösterildiği ilk çalışmadır. Aynı zamanda histolojik olarak CGA'nın CIS'in neden olduğu hepatotoksistideki yararlı etkilerinin de gösterildiği ilk çalışmadır.

Kemoterapiye bağlı oluşan PN'de klasik analjezik ajanlar kısıtlı başarı şansına sahiptir. Kemoterapiye bağlı PN'de mitokondriyal disfonksiyon ve nitro-oksidatif stresin ana rolü oynadığı bilinmektedir. Bu yolağı hedefleyen ajanların (pifithrin- $\mu$ , HDAC6 inhibitörleri, metformin, antioksidanlar peroksinitrit dekompozisyon katalistleri) PN tedavisinde başarılı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Fidanboylu, Griffiths, & Flatters, 2011; Flatters, Xiao, & Bennett, 2006; H. K. Kim, Hwang, & Abdi, 2016; H. K. Kim, Zhang, Gwak, & Abdi, 2010; Krukowski et al., 2017; Krukowski, Nijboer, Huo, Kavelaars, & Heijnen, 2015; Mao-Ying et al., 2014; Melli et al., 2008). Preklinik çalışmalar kemoterapi kaynaklı PN'yi önlemede ve iyileştirmede yeni tedavi hedefleri ortaya koymaktadır. Bu nedenle klinik araştırmaların sadece semptomları iyileştirmeye yönelik değil aynı zamanda mekanizma tabanlı önleyici ve iyileştirici tedavi girişimlerine odaklanmaları gerekmektedir.

## 7 KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abraham, S. K., Schupp, N., Schmid, U., & Stopper, H. (2007). Antigenotoxic effects of the phytoestrogen pelargonidin chloride and the polyphenol chlorogenic acid. *Mol Nutr Food Res*, 51(7), 880-887. doi:10.1002/mnfr.200600214
- Aggarwal, S. K. (1998). Calcium modulation of toxicities due to Cisplatin. *Met Based Drugs*, 5(2), 77-81. doi:10.1155/mbd.1998.77
- Ahlawat, A., Rana, A., Goyal, N., & Sharma, S. (2014). Potential role of nitric oxide synthase isoforms in pathophysiology of neuropathic pain. *Inflammopharmacology*, 22(5), 269-278. doi:10.1007/s10787-014-0213-0
- Al-Majed, A. A. (2007). Carnitine deficiency provokes cisplatin-induced hepatotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 100(3), 145-150. doi:10.1111/j.1742-7843.2006.00024.x
- Al Moundhri, M. S., Al-Salam, S., Al Mahrouqee, A., Beegam, S., & Ali, B. H. (2013). The effect of curcumin on oxaliplatin and cisplatin neurotoxicity in rats: some behavioral, biochemical, and histopathological studies. *J Med Toxicol*, 9(1), 25-33. doi:10.1007/s13181-012-0239-x
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., & Knowles, R. G. (2001). Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, 357(Pt 3), 593-615. doi:10.1042/0264-6021:3570593
- Ali, N., Rashid, S., Nafees, S., Hasan, S. K., Shahid, A., Majed, F., & Sultana, S. (2017). Protective effect of Chlorogenic acid against methotrexate induced oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat liver: An experimental approach. *Chem Biol Interact*, 272, 80-91. doi:10.1016/j.cbi.2017.05.002
- Allchorne, A. J., Broom, D. C., & Woolf, C. J. (2005). Detection of cold pain, cold allodynia and cold hyperalgesia in freely behaving rats. *Mol Pain*, 1, 36. doi:10.1186/1744-8069-1-36
- Amptoulach, S., & Tsavaris, N. (2011). Neurotoxicity caused by the treatment with platinum analogues. *Chemother Res Pract*, 2011, 843019. doi:10.1155/2011/843019

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Antosova, M., Plevkova, J., Strapkova, A., & Buday, T. (2012). Nitric oxide— Important messenger in human body. *Open Journal of Molecular and Integrative Physiology, 02*. doi:10.4236/ojmip.2012.23014
- Areti, A., Yerra, V. G., Naidu, V., & Kumar, A. (2014). Oxidative stress and nerve damage: role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox Biol, 2*, 289-295. doi:10.1016/j.redox.2014.01.006
- Argyriou, A. A., Bruna, J., Marmiroli, P., & Cavaletti, G. (2012). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): an update. *Crit Rev Oncol Hematol, 82*(1), 51-77. doi:10.1016/j.critrevonc.2011.04.012
- Argyriou, A. A., Chroni, E., Polychronopoulos, P., Iconomou, G., Koutras, A., Makatsoris, T., . . . Kalofonos, H. P. (2006). Efficacy of oxcarbazepine for prophylaxis against cumulative oxaliplatin-induced neuropathy. *Neurology, 67*(12), 2253-2255. doi:10.1212/01.wnl.0000249344.99671.d4
- Argyriou, A. A., Polychronopoulos, P., Koutras, A., Xiros, N., Petsas, T., Argyriou, K., . . . Chroni, E. (2007). Clinical and electrophysiological features of peripheral neuropathy induced by administration of cisplatin plus paclitaxel-based chemotherapy. *Eur J Cancer Care (Engl), 16*(3), 231-237. doi:10.1111/j.1365-2354.2006.00718.x
- Aseervatham, G. S., Suryakala, U., Doulethunisha, Sundaram, S., Bose, P. C., & Sivasudha, T. (2016). Expression pattern of NMDA receptors reveals antiepileptic potential of apigenin 8-C-glucoside and chlorogenic acid in pilocarpine induced epileptic mice. *Biomed Pharmacother, 82*, 54-64. doi:10.1016/j.biopha.2016.04.066
- Attal, N., & Bouhassira, D. (2004). [Neuropathic pain: experimental advances and clinical applications]. *Rev Neurol (Paris), 160*(2), 199-203. doi:10.1016/s0035-3787(04)70891-7
- Avan, A., Postma, T. J., Ceresa, C., Avan, A., Cavaletti, G., Giovannetti, E., & Peters, G. J. (2015). Platinum-induced neurotoxicity and preventive strategies: past, present, and future. *Oncologist, 20*(4), 411-432. doi:10.1634/theoncologist.2014-0044

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- Baba, H., Doubell, T. P., & Woolf, C. J. (1999). Peripheral inflammation facilitates Abeta fiber-mediated synaptic input to the substantia gelatinosa of the adult rat spinal cord. *J Neurosci*, *19*(2), 859-867.
- Bae, E. H., Lee, J., Ma, S. K., Kim, I. J., Frokiaer, J., Nielsen, S., . . . Kim, S. W. (2009). alpha-Lipoic acid prevents cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Nephrol Dial Transplant*, *24*(9), 2692-2700. doi:10.1093/ndt/gfp176
- Bagdas, D., Cinkilic, N., Ozboluk, H. Y., Ozyigit, M. O., & Gurun, M. S. (2013). Antihyperalgesic activity of chlorogenic acid in experimental neuropathic pain. *J Nat Med*, *67*(4), 698-704. doi:10.1007/s11418-012-0726-z
- Bagdas, D., Ozboluk, H. Y., Cinkilic, N., & Gurun, M. S. (2014). Antinociceptive effect of chlorogenic acid in rats with painful diabetic neuropathy. *J Med Food*, *17*(6), 730-732. doi:10.1089/jmf.2013.2966
- Baron, R., Binder, A., & Wasner, G. (2010). Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol*, *9*(8), 807-819. doi:10.1016/s1474-4422(10)70143-5
- Basbaum, A. I., Bautista, D. M., Scherrer, G., & Julius, D. (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, *139*(2), 267-284. doi:10.1016/j.cell.2009.09.028
- Beck, P. W., Handwerker, H. O., & Zimmermann, M. (1974). Nervous outflow from the cat's foot during noxious radiant heat stimulation. *Brain Res*, *67*(3), 373-386. doi:10.1016/0006-8993(74)90488-0
- Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., & Freeman, B. A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *87*(4), 1620-1624. doi:10.1073/pnas.87.4.1620
- Belkaid, A., Currie, J. C., Desgagnes, J., & Annabi, B. (2006). The chemopreventive properties of chlorogenic acid reveal a potential new role for the microsomal glucose-6-phosphate translocase in brain tumor progression. *Cancer Cell Int*, *6*, 7. doi:10.1186/1475-2867-6-7

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Bennett, G. J., Doyle, T., & Salvemini, D. (2014). Mitotoxicity in distal symmetrical sensory peripheral neuropathies. *Nat Rev Neurol*, *10*(6), 326-336. doi:10.1038/nrneurol.2014.77
- Bennett, G. J., Liu, G. K., Xiao, W. H., Jin, H. W., & Siau, C. (2011). Terminal arbor degeneration--a novel lesion produced by the antineoplastic agent paclitaxel. *Eur J Neurosci*, *33*(9), 1667-1676. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07652.x
- Bessou, P., & Perl, E. R. (1969). Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J Neurophysiol*, *32*(6), 1025-1043. doi:10.1152/jn.1969.32.6.1025
- Bhadoriya, S. S., Mishra, V., Raut, S., Ganeshpurkar, A., & Jain, S. K. (2012). Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of a Hydroethanolic Extract of *Tamarindus indica* Leaves. *Sci Pharm*, *80*(3), 685-700. doi:10.3797/scipharm.1110-09
- Bhattacharyya, S., Majhi, S., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2014). Chlorogenic acid-phospholipid complex improve protection against UVA induced oxidative stress. *J Photochem Photobiol B*, *130*, 293-298. doi:10.1016/j.jphotobiol.2013.11.020
- Bianchi, M., Dib, B., & Panerai, A. E. (1998). Interleukin-1 and nociception in the rat. *J Neurosci Res*, *53*(6), 645-650. doi:10.1002/(sici)1097-4547(19980915)53:6<645::Aid-jnr2>3.0.Co;2-5
- Bingham, B., Ajit, S. K., Blake, D. R., & Samad, T. A. (2009). The molecular basis of pain and its clinical implications in rheumatology. *Nat Clin Pract Rheumatol*, *5*(1), 28-37. doi:10.1038/nclrheum0972
- Boehmerle, W., Huehnchen, P., Peruzzaro, S., Balkaya, M., & Endres, M. (2014). Electrophysiological, behavioral and histological characterization of paclitaxel, cisplatin, vincristine and bortezomib-induced neuropathy in C57Bl/6 mice. *Sci Rep*, *4*, 6370. doi:10.1038/srep06370

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Bouayed, J., Rammal, H., Dicko, A., Younos, C., & Soulimani, R. (2007). Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. *J Neurol Sci*, *262*(1-2), 77-84. doi:10.1016/j.jns.2007.06.028
- Boyce-Rustay, J. M., Honore, P., & Jarvis, M. F. (2010). Animal models of acute and chronic inflammatory and nociceptive pain. *Methods Mol Biol*, *617*, 41-55. doi:10.1007/978-1-60327-323-7\_4
- Bradley, W. G., Lassman, L. P., Pearce, G. W., & Walton, J. N. (1970). The neuromyopathy of vincristine in man. Clinical, electrophysiological and pathological studies. *J Neurol Sci*, *10*(2), 107-131. doi:10.1016/0022-510x(70)90013-4
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, *68*(6), 394-424. doi:10.3322/caac.21492
- Brown, T. J., Sedhom, R., & Gupta, A. (2019). Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *JAMA Oncol*, *5*(5), 750. doi:10.1001/jamaoncol.2018.6771
- Byers MR, B. J. ( 2001). Peripheral pain mechanisms and nociceptor plasticity. . In *Bonica's Management of Pain* (3 ed., pp. 26–72). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, .
- Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D. A., & Stella, A. M. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci*, *8*(10), 766-775. doi:10.1038/nrn2214
- Calixto, J. B., Beirith, A., Ferreira, J., Santos, A. R., Filho, V. C., & Yunes, R. A. (2000). Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother Res*, *14*(6), 401-418. doi:10.1002/1099-1573(200009)14:6<401::aid-ptr762>3.0.co;2-h
- Campbell, J. N., & Meyer, R. A. (2006). Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron*, *52*(1), 77-92. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.021

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Canta, A., Pozzi, E., & Carozzi, V. A. (2015). Mitochondrial Dysfunction in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN). *Toxics*, 3(2), 198-223. doi:10.3390/toxics3020198
- Carozzi, V. A., Canta, A., & Chiorazzi, A. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? *Neurosci Lett*, 596, 90-107. doi:10.1016/j.neulet.2014.10.014
- Carozzi, V. A., Canta, A., Oggioni, N., Sala, B., Chiorazzi, A., Meregalli, C., . . . Cavaletti, G. (2010). Neurophysiological and neuropathological characterization of new murine models of chemotherapy-induced chronic peripheral neuropathies. *Exp Neurol*, 226(2), 301-309. doi:10.1016/j.expneurol.2010.09.004
- Carozzi, V. A., Marmioli, P., & Cavaletti, G. (2010). The role of oxidative stress and anti-oxidant treatment in platinum-induced peripheral neurotoxicity. *Curr Cancer Drug Targets*, 10(7), 670-682. doi:10.2174/156800910793605820
- Carrasco, C., Naziroglu, M., Rodriguez, A. B., & Pariente, J. A. (2018). Neuropathic Pain: Delving into the Oxidative Origin and the Possible Implication of Transient Receptor Potential Channels. *Front Physiol*, 9, 95. doi:10.3389/fphys.2018.00095
- Carter, R. J., Morton, J., & Dunnett, S. B. (2001). Motor coordination and balance in rodents. *Curr Protoc Neurosci*, Chapter 8, Unit 8.12. doi:10.1002/0471142301.ns0812s15
- Carvajal, J. A., Germain, A. M., Huidobro-Toro, J. P., & Weiner, C. P. (2000). Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J Cell Physiol*, 184(3), 409-420. doi:10.1002/1097-4652(200009)184:3<409::Aid-jcp16>3.0.Co;2-k
- Cascinu, S., Catalano, V., Cordella, L., Labianca, R., Giordani, P., Baldelli, A. M., . . . Catalano, G. (2002). Neuroprotective effect of reduced glutathione on oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol*, 20(16), 3478-3483. doi:10.1200/jco.2002.07.061

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Cavaletti, G., Tredici, G., Marmioli, P., Petruccioli, M. G., Barajon, I., & Fabbrica, D. (1992). Morphometric study of the sensory neuron and peripheral nerve changes induced by chronic cisplatin (DDP) administration in rats. *Acta Neuropathol*, *84*(4), 364-371. doi:10.1007/bf00227662
- Cersosimo, R. J. (1989). Cisplatin neurotoxicity. *Cancer Treat Rev*, *16*(4), 195-211. doi:10.1016/0305-7372(89)90041-8
- Chauhan, P. S., Satti, N. K., Sharma, P., Sharma, V. K., Suri, K. A., & Bani, S. (2012). Differential effects of chlorogenic acid on various immunological parameters relevant to rheumatoid arthritis. *Phytother Res*, *26*(8), 1156-1165. doi:10.1002/ptr.3684
- Choi, Y., Raja, S. N., Moore, L. C., & Tobin, J. R. (1996). Neuropathic pain in rats is associated with altered nitric oxide synthase activity in neural tissue. *J Neurol Sci*, *138*(1-2), 14-20. doi:10.1016/0022-510x(95)00325-v
- Chu, C. J., Chang, C. C., Wang, T. F., Lee, F. Y., Chang, F. Y., Chen, Y. C., . . . Lee, S. D. (2006). Detrimental effects of nitric oxide inhibition on hepatic encephalopathy in rats with thioacetamide-induced fulminant hepatic failure: role of nitric oxide synthase isoforms. *J Gastroenterol Hepatol*, *21*(7), 1194-1199. doi:10.1111/j.1440-1746.2006.04310.x
- Chu, Y. C., Guan, Y., Skinner, J., Raja, S. N., Johns, R. A., & Tao, Y. X. (2005). Effect of genetic knockout or pharmacologic inhibition of neuronal nitric oxide synthase on complete Freund's adjuvant-induced persistent pain. *Pain*, *119*(1-3), 113-123. doi:10.1016/j.pain.2005.09.024
- Chu, Y. F., Brown, P. H., Lyle, B. J., Chen, Y., Black, R. M., Williams, C. E., . . . Cheng, I. H. (2009). Roasted coffees high in lipophilic antioxidants and chlorogenic acid lactones are more neuroprotective than green coffees. *J Agric Food Chem*, *57*(20), 9801-9808. doi:10.1021/jf902095z
- Chun, Y. H., Auh, Q. S., Lee, J., & Ro, J. Y. (2012). Masseter inflammation differentially regulates three nitric oxide synthases in the rat trigeminal subnucleus caudalis. *Arch Oral Biol*, *57*(8), 1141-1146. doi:10.1016/j.archoralbio.2012.03.001



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 362-372. doi:10.1002/(sici)1097-0010(19990301)79:3<362::Aid-jsfa256>3.0.Co;2-d
- Coggeshall, R. E., Hong, K. A., Langford, L. A., Schaible, H. G., & Schmidt, R. F. (1983). Discharge characteristics of fine medial articular afferents at rest and during passive movements of inflamed knee joints. *Brain Res*, 272(1), 185-188. doi:10.1016/0006-8993(83)90379-7
- Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D., . . . Raja, S. N. (2017). Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17002. doi:10.1038/nrdp.2017.2
- Costigan, M., Scholz, J., & Woolf, C. J. (2009). Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. *Annu Rev Neurosci*, 32, 1-32. doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135531
- Cropley, V., Croft, R., Silber, B., Neale, C., Scholey, A., Stough, C., & Schmitt, J. (2012). Does coffee enriched with chlorogenic acids improve mood and cognition after acute administration in healthy elderly? A pilot study. *Psychopharmacology (Berl)*, 219(3), 737-749. doi:10.1007/s00213-011-2395-0
- Cruccu, G., Aminoff, M. J., Curio, G., Guerit, J. M., Kakigi, R., Mauguiere, F., . . . Garcia-Larrea, L. (2008). Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin Neurophysiol*, 119(8), 1705-1719. doi:10.1016/j.clinph.2008.03.016
- Czeschik, J. C., Hagenacker, T., Schafers, M., & Busselberg, D. (2008). TNF-alpha differentially modulates ion channels of nociceptive neurons. *Neurosci Lett*, 434(3), 293-298. doi:10.1016/j.neulet.2008.01.070
- Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*, 740, 364-378. doi:10.1016/j.ejphar.2014.07.025

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Dayer, J. M., de Rochemonteix, B., Burrus, B., Demczuk, S., & Dinarello, C. A. (1986). Human recombinant interleukin 1 stimulates collagenase and prostaglandin E2 production by human synovial cells. *J Clin Invest*, 77(2), 645-648. doi:10.1172/jci112350
- De Hert, S., De Baerdemaeker, L., & De Maeseneer, M. (2014). What the phlebologist should know about local anesthetics. *Phlebology*, 29(7), 428-441. doi:10.1177/0268355513501303
- de Jongh, F. E., van Veen, R. N., Veltman, S. J., de Wit, R., van der Burg, M. E., van den Bent, M. J., . . . Verweij, J. (2003). Weekly high-dose cisplatin is a feasible treatment option: analysis on prognostic factors for toxicity in 400 patients. *Br J Cancer*, 88(8), 1199-1206. doi:10.1038/sj.bjc.6600884
- Deng, L., Guindon, J., Vemuri, V. K., Thakur, G. A., White, F. A., Makriyannis, A., & Hohmann, A. G. (2012). The maintenance of cisplatin- and paclitaxel-induced mechanical and cold allodynia is suppressed by cannabinoid CB(2) receptor activation and independent of CXCR4 signaling in models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Mol Pain*, 8, 71. doi:10.1186/1744-8069-8-71
- Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Front Mol Neurosci*, 10, 284. doi:10.3389/fnmol.2017.00284
- Di Cesare Mannelli, L., Pacini, A., Bonaccini, L., Zanardelli, M., Mello, T., & Ghelardini, C. (2013). Morphologic features and glial activation in rat oxaliplatin-dependent neuropathic pain. *J Pain*, 14(12), 1585-1600. doi:10.1016/j.jpain.2013.08.002
- Di Cesare Mannelli, L., Pacini, A., Micheli, L., Tani, A., Zanardelli, M., & Ghelardini, C. (2014). Glial role in oxaliplatin-induced neuropathic pain. *Exp Neurol*, 261, 22-33. doi:10.1016/j.expneurol.2014.06.016
- Di Cesare Mannelli, L., Zanardelli, M., Failli, P., & Ghelardini, C. (2012). Oxaliplatin-induced neuropathy: oxidative stress as pathological mechanism. Protective effect of silibinin. *J Pain*, 13(3), 276-284. doi:10.1016/j.jpain.2011.11.009

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Domitrovic, R., Cvijanovic, O., Susnic, V., & Katalinic, N. (2014). Renoprotective mechanisms of chlorogenic acid in cisplatin-induced kidney injury. *Toxicology*, *324*, 98-107. doi:10.1016/j.tox.2014.07.004
- Donertas, B., Cengelli Unel, C., Aydin, S., Ulupinar, E., Ozatik, O., Kaygisiz, B., . . . Erol, K. (2018). Agmatine co-treatment attenuates allodynia and structural abnormalities in cisplatin-induced neuropathy in rats. *Fundam Clin Pharmacol*, *32*(3), 288-296. doi:10.1111/fcp.12351
- dos Santos, M. D., Almeida, M. C., Lopes, N. P., & de Souza, G. E. (2006). Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biol Pharm Bull*, *29*(11), 2236-2240. doi:10.1248/bpb.29.2236
- dos Santos, N. A., Martins, N. M., Curti, C., Pires Bianchi Mde, L., & dos Santos, A. C. (2007). Dimethylthiourea protects against mitochondrial oxidative damage induced by cisplatin in liver of rats. *Chem Biol Interact*, *170*(3), 177-186. doi:10.1016/j.cbi.2007.07.014
- Doyle, T., Chen, Z., Muscoli, C., Bryant, L., Esposito, E., Cuzzocrea, S., . . . Salvemini, D. (2012). Targeting the overproduction of peroxynitrite for the prevention and reversal of paclitaxel-induced neuropathic pain. *J Neurosci*, *32*(18), 6149-6160. doi:10.1523/jneurosci.6343-11.2012
- Dubin, A. E., & Patapoutian, A. (2010). Nociceptors: the sensors of the pain pathway. *J Clin Invest*, *120*(11), 3760-3772. doi:10.1172/jci42843
- Durate, I. D., Lorenzetti, B. B., & Ferreira, S. H. (1990). Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol*, *186*(2-3), 289-293. doi:10.1016/0014-2999(90)90446-d
- Dweik, R. A. (2005). Nitric oxide, hypoxia, and superoxide: the good, the bad, and the ugly! *Thorax*, *60*(4), 265-267. doi:10.1136/thx.2004.038471
- Dworkin, R. H. (2002). An overview of neuropathic pain: syndromes, symptoms, signs, and several mechanisms. *Clin J Pain*, *18*(6), 343-349. doi:10.1097/00002508-200211000-00001

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Eljack, N. D., Ma, H. Y., Drucker, J., Shen, C., Hambley, T. W., New, E. J., . . . Clarke, R. J. (2014). Mechanisms of cell uptake and toxicity of the anticancer drug cisplatin. *Metallomics*, *6*(11), 2126-2133. doi:10.1039/c4mt00238e
- Erol, K., Yigitaslan, S., Unel, C., Kaygisiz, B., & Yildirim, E. (2016). Evaluation of Cisplatin Neurotoxicity in Cultured Rat Dorsal Root Ganglia via Cytosolic Calcium Accumulation. *Balkan Med J*, *33*(2), 144-151. doi:10.5152/balkanmedj.2016.161110
- Fang, S. Q., Wang, Y. T., Wei, J. X., Shu, Y. H., Xiao, L., & Lu, X. M. (2016). Beneficial effects of chlorogenic acid on alcohol-induced damage in PC12 cells. *Biomed Pharmacother*, *79*, 254-262. doi:10.1016/j.biopha.2016.02.018
- Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C. M., & Lafay, S. (2008). Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *J Nutr*, *138*(12), 2309-2315. doi:10.3945/jn.108.095554
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Pineros, M., . . . Bray, F. (2019). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*, *144*(8), 1941-1953. doi:10.1002/ijc.31937
- Ferrari, L. F., Chum, A., Bogen, O., Reichling, D. B., & Levine, J. D. (2011). Role of Drp1, a key mitochondrial fission protein, in neuropathic pain. *J Neurosci*, *31*(31), 11404-11410. doi:10.1523/jneurosci.2223-11.2011
- Fiamegos, Y. C., Kastritis, P. L., Exarchou, V., Han, H., Bonvin, A. M., Vervoort, J., . . . Tegos, G. P. (2011). Antimicrobial and efflux pump inhibitory activity of caffeoylquinic acids from *Artemisia absinthium* against gram-positive pathogenic bacteria. *PLoS One*, *6*(4), e18127. doi:10.1371/journal.pone.0018127
- Fidanboyly, M., Griffiths, L. A., & Flatters, S. J. (2011). Global inhibition of reactive oxygen species (ROS) inhibits paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *PLoS One*, *6*(9), e25212. doi:10.1371/journal.pone.0025212

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- Finnerup, N. B., Haroutounian, S., Kamerman, P., Baron, R., Bennett, D. L., Bouhassira, D., . . . Jensen, T. S. (2016). Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice. *Pain, 157*(8), 1599-1606. doi:10.1097/j.pain.0000000000000492
- Fiorucci, S., Antonelli, E., Distrutti, E., Mencarelli, A., Farneti, S., Del Soldato, P., & Morelli, A. (2004). Liver delivery of NO by NCX-1000 protects against acute liver failure and mitochondrial dysfunction induced by APAP in mice. *Br J Pharmacol, 143*(1), 33-42. doi:10.1038/sj.bjp.0705780
- Fiscus, R. R. (2002). Involvement of cyclic GMP and protein kinase G in the regulation of apoptosis and survival in neural cells. *Neurosignals, 11*(4), 175-190. doi:10.1159/000065431
- Fiscus, R. R., Yuen, J. P., Chan, S. L., Kwong, J. H., & Chew, S. B. (2002). Nitric oxide and cyclic GMP as pro- and anti-apoptotic agents. *J Card Surg, 17*(4), 336-339. doi:10.1111/j.1540-8191.2001.tb01153.x
- Flatters, S. J., Xiao, W. H., & Bennett, G. J. (2006). Acetyl-L-carnitine prevents and reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *Neurosci Lett, 397*(3), 219-223. doi:10.1016/j.neulet.2005.12.013
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., . . . Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest, 114*(12), 1752-1761. doi:10.1172/jci21625
- Gamelin, L., Boisdron-Celle, M., Delva, R., Guerin-Meyer, V., Ifrah, N., Morel, A., & Gamelin, E. (2004). Prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity by calcium and magnesium infusions: a retrospective study of 161 patients receiving oxaliplatin combined with 5-Fluorouracil and leucovorin for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res, 10*(12 Pt 1), 4055-4061. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-03-0666

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gandara, D. R., Nahhas, W. A., Adelson, M. D., Lichtman, S. M., Podczaski, E. S., Yanovich, S., . . . et al. (1995). Randomized placebo-controlled multicenter evaluation of diethyldithiocarbamate for chemoprotection against cisplatin-induced toxicities. *J Clin Oncol*, *13*(2), 490-496. doi:10.1200/jco.1995.13.2.490
- Gastaut, J. L., & Pellissier, J. F. (1985). [Neuropathy caused by cisplatin. Clinical, electrophysiological and morphological study]. *Rev Neurol (Paris)*, *141*(10), 614-626.
- Geller, D. A., & Billiar, T. R. (1998). Molecular biology of nitric oxide synthases. *Cancer Metastasis Rev*, *17*(1), 7-23. doi:10.1023/a:1005940202801
- Geller, H. M., Cheng, K. Y., Goldsmith, N. K., Romero, A. A., Zhang, A. L., Morris, E. J., & Grandison, L. (2001). Oxidative stress mediates neuronal DNA damage and apoptosis in response to cytosine arabinoside. *J Neurochem*, *78*(2), 265-275. doi:10.1046/j.1471-4159.2001.00395.x
- Ghirardi, O., Vertechy, M., Vesci, L., Canta, A., Nicolini, G., Galbiati, S., . . . Rigamonti, L. M. (2005). Chemotherapy-induced allodynia: neuroprotective effect of acetyl-L-carnitine. *In Vivo*, *19*(3), 631-637.
- Gonthier, M. P., Verny, M. A., Besson, C., Remesy, C., & Scalbert, A. (2003). Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *J Nutr*, *133*(6), 1853-1859. doi:10.1093/jn/133.6.1853
- Goodsell, D. S. (2006). The molecular perspective: Cisplatin. *Stem Cells*, *24*(3), 514-515. doi:10.1634/stemcells.2006-CSC2
- Gorzalczany, S., Marrassini, C., Mino, J., Acevedo, C., & Ferraro, G. (2011). Antinociceptive activity of ethanolic extract and isolated compounds of *Urtica circularis*. *J Ethnopharmacol*, *134*(3), 733-738. doi:10.1016/j.jep.2011.01.025
- Graham, H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med*, *21*(3), 334-350. doi:10.1016/0091-7435(92)90041-f

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Gregg, R. W., Molepo, J. M., Monpetit, V. J., Mikael, N. Z., Redmond, D., Gadia, M., & Stewart, D. J. (1992). Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity. *J Clin Oncol*, *10*(5), 795-803. doi:10.1200/jco.1992.10.5.795
- Guindon, J., Lai, Y., Takacs, S. M., Bradshaw, H. B., & Hohmann, A. G. (2013). Alterations in endocannabinoid tone following chemotherapy-induced peripheral neuropathy: effects of endocannabinoid deactivation inhibitors targeting fatty-acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase in comparison to reference analgesics following cisplatin treatment. *Pharmacol Res*, *67*(1), 94-109. doi:10.1016/j.phrs.2012.10.013
- Guo, Y. J., Luo, T., Wu, F., Mei, Y. W., Peng, J., Liu, H., . . . Zhao, L. (2015). Involvement of TLR2 and TLR9 in the anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in HSV-1-infected microglia. *Life Sci*, *127*, 12-18. doi:10.1016/j.lfs.2015.01.036
- Hall, J. E. (2016). *Guyton and Hall textbook of medical physiology*.
- Hamanaka, R. B., & Chandel, N. S. (2010). Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci*, *35*(9), 505-513. doi:10.1016/j.tibs.2010.04.002
- Hamilton, R. T., Bhattacharya, A., Walsh, M. E., Shi, Y., Wei, R., Zhang, Y., . . . Van Remmen, H. (2013). Elevated protein carbonylation, and misfolding in sciatic nerve from db/db and Sod1(-/-) mice: plausible link between oxidative stress and demyelination. *PLoS One*, *8*(6), e65725. doi:10.1371/journal.pone.0065725
- Han, D., Chen, W., Gu, X., Shan, R., Zou, J., Liu, G., . . . Han, B. (2017). Cytoprotective effect of chlorogenic acid against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in MC3T3-E1 cells through PI3K/Akt-mediated Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Oncotarget*, *8*(9), 14680-14692. doi:10.18632/oncotarget.14747

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Han, F. Y., Wyse, B. D., & Smith, M. T. (2014). Optimization and pharmacological characterization of a refined cisplatin-induced rat model of peripheral neuropathic pain. *Behav Pharmacol*, 25(8), 732-740. doi:10.1097/fbp.0000000000000090
- Han, J., Miyamae, Y., Shigemori, H., & Isoda, H. (2010). Neuroprotective effect of 3,5-di-O-caffeoylquinic acid on SH-SY5Y cells and senescence-accelerated-prone mice 8 through the up-regulation of phosphoglycerate kinase-1. *Neuroscience*, 169(3), 1039-1045. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.05.049
- Han, J., Pluhackova, K., & Bockmann, R. A. (2017). The Multifaceted Role of SNARE Proteins in Membrane Fusion. *Front Physiol*, 8, 5. doi:10.3389/fphys.2017.00005
- Hansen, S. W., Helweg-Larsen, S., & Trojaborg, W. (1989). Long-term neurotoxicity in patients treated with cisplatin, vinblastine, and bleomycin for metastatic germ cell cancer. *J Clin Oncol*, 7(10), 1457-1461. doi:10.1200/jco.1989.7.10.1457
- Hara, K., Haranishi, Y., Kataoka, K., Takahashi, Y., Terada, T., Nakamura, M., & Sata, T. (2014). Chlorogenic acid administered intrathecally alleviates mechanical and cold hyperalgesia in a rat neuropathic pain model. *Eur J Pharmacol*, 723, 459-464. doi:10.1016/j.ejphar.2013.10.046
- Hara, M., Yoshida, M., Nishijima, H., Yokosuka, M., Iigo, M., Ohtani-Kaneko, R., . . . Hirata, K. (2001). Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res*, 30(3), 129-138. doi:10.1034/j.1600-079x.2001.300301.x
- Hara, M. R., & Snyder, S. H. (2007). Cell signaling and neuronal death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 47, 117-141. doi:10.1146/annurev.pharmtox.47.120505.105311
- Hartmann, J. T., Fels, L. M., Knop, S., Stolt, H., Kanz, L., & Bokemeyer, C. (2000). A randomized trial comparing the nephrotoxicity of cisplatin/ifosfamide-based combination chemotherapy with or without amifostine in patients with solid tumors. *Invest New Drugs*, 18(3), 281-289. doi:10.1023/a:1006490226104



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Hartmann, J. T., & Lipp, H. P. (2003). Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother*, *4*(6), 889-901. doi:10.1517/14656566.4.6.889
- Heitman, E., & Ingram, D. K. (2017). Cognitive and neuroprotective effects of chlorogenic acid. *Nutr Neurosci*, *20*(1), 32-39. doi:10.1179/1476830514y.0000000146
- Hickok, J. R., Vasudevan, D., Jablonski, K., & Thomas, D. D. (2013). Oxygen dependence of nitric oxide-mediated signaling. *Redox Biol*, *1*, 203-209. doi:10.1016/j.redox.2012.11.002
- Hilkens, P. H., van der Burg, M. E., Moll, J. W., Planting, A. S., van Putten, W. L., Vecht, C. J., & van den Bent, M. J. (1995). Neurotoxicity is not enhanced by increased dose intensities of cisplatin administration. *Eur J Cancer*, *31a*(5), 678-681. doi:10.1016/0959-8049(94)00497-s
- Holzer, A. K., Manorek, G. H., & Howell, S. B. (2006). Contribution of the major copper influx transporter CTR1 to the cellular accumulation of cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin. *Mol Pharmacol*, *70*(4), 1390-1394. doi:10.1124/mol.106.022624
- Hori, K., Ozaki, N., Suzuki, S., & Sugiura, Y. (2010). Upregulations of P2X(3) and ASIC3 involve in hyperalgesia induced by cisplatin administration in rats. *Pain*, *149*(2), 393-405. doi:10.1016/j.pain.2010.03.005
- Hu, L. Y., Zhou, Y., Cui, W. Q., Hu, X. M., Du, L. X., Mi, W. L., . . . Mao-Ying, Q. L. (2018). Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2) dependent microglial activation promotes cisplatin-induced peripheral neuropathy in mice. *Brain Behav Immun*, *68*, 132-145. doi:10.1016/j.bbi.2017.10.011
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., & Zhang, Y. (2010). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutr Cancer*, *62*(1), 1-20. doi:10.1080/01635580903191585
- Ignarro, L. J. (1991). Heme-dependent activation of guanylate cyclase by nitric oxide: a novel signal transduction mechanism. *Blood Vessels*, *28*(1-3), 67-73. doi:10.1159/000158845

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *84*(24), 9265-9269. doi:10.1073/pnas.84.24.9265
- Ignarro, L. J., Napoli, C., & Loscalzo, J. (2002). Nitric oxide donors and cardiovascular agents modulating the bioactivity of nitric oxide: an overview. *Circ Res*, *90*(1), 21-28. doi:10.1161/hh0102.102330
- Imai, S., Koyanagi, M., Azimi, Z., Nakazato, Y., Matsumoto, M., Ogihara, T., . . . Matsubara, K. (2017). Taxanes and platinum derivatives impair Schwann cells via distinct mechanisms. *Sci Rep*, *7*(1), 5947. doi:10.1038/s41598-017-05784-1
- Iseri, S., Ercan, F., Gedik, N., Yuksel, M., & Alican, I. (2007). Simvastatin attenuates cisplatin-induced kidney and liver damage in rats. *Toxicology*, *230*(2-3), 256-264. doi:10.1016/j.tox.2006.11.073
- Ito, H., Sun, X. L., Watanabe, M., Okamoto, M., & Hatano, T. (2008). Chlorogenic acid and its metabolite m-coumaric acid evoke neurite outgrowth in hippocampal neuronal cells. *Biosci Biotechnol Biochem*, *72*(3), 885-888. doi:10.1271/bbb.70670
- Jacobo-Velazquez, D. A., Martinez-Hernandez, G. B., Del, C. R. S., Cao, C. M., & Cisneros-Zevallos, L. (2011). Plants as biofactories: physiological role of reactive oxygen species on the accumulation of phenolic antioxidants in carrot tissue under wounding and hyperoxia stress. *J Agric Food Chem*, *59*(12), 6583-6593. doi:10.1021/jf2006529
- Janes, K., Doyle, T., Bryant, L., Esposito, E., Cuzzocrea, S., Ryerse, J., . . . Salvemini, D. (2013). Bioenergetic deficits in peripheral nerve sensory axons during chemotherapy-induced neuropathic pain resulting from peroxynitrite-mediated post-translational nitration of mitochondrial superoxide dismutase. *Pain*, *154*(11), 2432-2440. doi:10.1016/j.pain.2013.07.032

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Jang, H. J., Hwang, S., Cho, K. Y., Kim, D. K., Chay, K. O., & Kim, J. K. (2008). Taxol induces oxidative neuronal cell death by enhancing the activity of NADPH oxidase in mouse cortical cultures. *Neurosci Lett*, *443*(1), 17-22. doi:10.1016/j.neulet.2008.07.049
- Jang, Y. J., Kim, J., Shim, J., Kim, C. Y., Jang, J. H., Lee, K. W., & Lee, H. J. (2013). Decaffeinated coffee prevents scopolamine-induced memory impairment in rats. *Behav Brain Res*, *245*, 113-119. doi:10.1016/j.bbr.2013.02.003
- Jensen, T. S., Baron, R., Haanpaa, M., Kalso, E., Loeser, J. D., Rice, A. S., & Treede, R. D. (2011). A new definition of neuropathic pain. *Pain*, *152*(10), 2204-2205. doi:10.1016/j.pain.2011.06.017
- Jeske, N. A., Patwardhan, A. M., Gamper, N., Price, T. J., Akopian, A. N., & Hargreaves, K. M. (2006). Cannabinoid WIN 55,212-2 regulates TRPV1 phosphorylation in sensory neurons. *J Biol Chem*, *281*(43), 32879-32890. doi:10.1074/jbc.M603220200
- Jia, Z., Wang, N., Aoyagi, T., Wang, H., Liu, H., & Yang, T. (2011). Amelioration of cisplatin nephrotoxicity by genetic or pharmacologic blockade of prostaglandin synthesis. *Kidney Int*, *79*(1), 77-88. doi:10.1038/ki.2010.331
- Jiang, Y., Guo, C., Vasko, M. R., & Kelley, M. R. (2008). Implications of apurinic/aprimidinic endonuclease in reactive oxygen signaling response after cisplatin treatment of dorsal root ganglion neurons. *Cancer Res*, *68*(15), 6425-6434. doi:10.1158/0008-5472.Can-08-1173
- Jin, X., & Gereau, R. W. t. (2006). Acute p38-mediated modulation of tetrodotoxin-resistant sodium channels in mouse sensory neurons by tumor necrosis factor-alpha. *J Neurosci*, *26*(1), 246-255. doi:10.1523/jneurosci.3858-05.2006
- Jonakait, G. M., Schotland, S., & Hart, R. P. (1990). Interleukin-1 specifically increases substance P in injured sympathetic ganglia. *Ann N Y Acad Sci*, *594*, 222-230. doi:10.1111/j.1749-6632.1990.tb40482.x

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Joseph, E. K., Chen, X., Bogen, O., & Levine, J. D. (2008). Oxaliplatin acts on IB4-positive nociceptors to induce an oxidative stress-dependent acute painful peripheral neuropathy. *J Pain*, *9*(5), 463-472. doi:10.1016/j.jpain.2008.01.335
- Kaltalioglu\*, K., Balabanli, B., & Coskun-Cevher, S. (2019). Alleviation of Cisplatin-Induced Hepatotoxic Damage: the Synergistic Effect of Morin and Hesperidin against Oxidative Stress. *Research Journal of Pharmacognosy*, *6*(2), 9-18. doi:10.22127/rjp.2019.84314
- Kandel, E. R. (2013). *Principles of neural science*.
- Kang, J. W., & Lee, S. M. (2014). Protective Effects of Chlorogenic Acid against Experimental Reflux Esophagitis in Rats. *Biomol Ther (Seoul)*, *22*(5), 420-425. doi:10.4062/biomolther.2014.066
- Karunanidhi, A., Thomas, R., van Belkum, A., & Neela, V. (2013). In vitro antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole resistant strain. *Biomed Res Int*, *2013*, 392058. doi:10.1155/2013/392058
- Kawabata, A., Manabe, S., Manabe, Y., & Takagi, H. (1994). Effect of topical administration of L-arginine on formalin-induced nociception in the mouse: a dual role of peripherally formed NO in pain modulation. *Br J Pharmacol*, *112*(2), 547-550. doi:10.1111/j.1476-5381.1994.tb13108.x
- Kawaguchi, M., Satoh, Y., Otsubo, Y., & Kazama, T. (2014). Molecular hydrogen attenuates neuropathic pain in mice. *PLoS One*, *9*(6), e100352. doi:10.1371/journal.pone.0100352
- Kelland, L. (2007). The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*, *7*(8), 573-584. doi:10.1038/nrc2167
- Kelley, M. R., Jiang, Y., Guo, C., Reed, A., Meng, H., & Vasko, M. R. (2014). Role of the DNA base excision repair protein, APE1 in cisplatin, oxaliplatin, or carboplatin induced sensory neuropathy. *PLoS One*, *9*(9), e106485. doi:10.1371/journal.pone.0106485

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kest, B., McLemore, G., Kao, B., & Inturrisi, C. E. (1997). The competitive alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate receptor antagonist LY293558 attenuates and reverses analgesic tolerance to morphine but not to delta or kappa opioids. *J Pharmacol Exp Ther*, *283*(3), 1249-1255.
- Kim, D., You, B., Jo, E. K., Han, S. K., Simon, M. I., & Lee, S. J. (2010). NADPH oxidase 2-derived reactive oxygen species in spinal cord microglia contribute to peripheral nerve injury-induced neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(33), 14851-14856. doi:10.1073/pnas.1009926107
- Kim, H. K., Hwang, S. H., & Abdi, S. (2016). Tempol Ameliorates and Prevents Mechanical Hyperalgesia in a Rat Model of Chemotherapy-Induced Neuropathic Pain. *Front Pharmacol*, *7*, 532. doi:10.3389/fphar.2016.00532
- Kim, H. K., Zhang, Y. P., Gwak, Y. S., & Abdi, S. (2010). Phenyl N-tert-butyl nitron, a free radical scavenger, reduces mechanical allodynia in chemotherapy-induced neuropathic pain in rats. *Anesthesiology*, *112*(2), 432-439. doi:10.1097/ALN.0b013e3181ca31bd
- Kim, S. H., & Chung, J. M. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, *50*(3), 355-363. doi:10.1016/0304-3959(92)90041-9
- Kober, K. M., Olshen, A., Conley, Y. P., Schumacher, M., Topp, K., Smoot, B., . . . Miaskowski, C. (2018). Expression of mitochondrial dysfunction-related genes and pathways in paclitaxel-induced peripheral neuropathy in breast cancer survivors. *Mol Pain*, *14*, 1744806918816462. doi:10.1177/1744806918816462
- Koerber, H. R., Mirnics, K., Brown, P. B., & Mendell, L. M. (1994). Central sprouting and functional plasticity of regenerated primary afferents. *J Neurosci*, *14*(6), 3655-3671.
- Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y., & Shibata, H. (1997). Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochim Biophys Acta*, *1335*(3), 335-342. doi:10.1016/s0304-4165(96)00151-1

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Krarp-Hansen, A., Helweg-Larsen, S., Schmalbruch, H., Rorth, M., & Krarp, C. (2007). Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: prospective clinical and neurophysiological studies. *Brain*, *130*(Pt 4), 1076-1088. doi:10.1093/brain/awl356
- Kress, M., & Reeh, P. W. (1996). More sensory competence for nociceptive neurons in culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *93*(26), 14995-14997. doi:10.1073/pnas.93.26.14995
- Krukowski, K., Ma, J., Golonzhka, O., Laumet, G. O., Gutti, T., van Duzer, J. H., . . . Kavelaars, A. (2017). HDAC6 inhibition effectively reverses chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Pain*, *158*(6), 1126-1137. doi:10.1097/j.pain.0000000000000893
- Krukowski, K., Nijboer, C. H., Huo, X., Kavelaars, A., & Heijnen, C. J. (2015). Prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy by the small-molecule inhibitor pifithrin-mu. *Pain*, *156*(11), 2184-2192. doi:10.1097/j.pain.0000000000000290
- Kupeli Akkol, E., Bahadir Acikara, O., Suntar, I., Ergene, B., & Saltan Citoglu, G. (2012). Ethnopharmacological evaluation of some *Scorzonera* species: in vivo anti-inflammatory and antinociceptive effects. *J Ethnopharmacol*, *140*(2), 261-270. doi:10.1016/j.jep.2012.01.015
- Kwon, S. H., Lee, H. K., Kim, J. A., Hong, S. I., Kim, H. C., Jo, T. H., . . . Jang, C. G. (2010). Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice. *Eur J Pharmacol*, *649*(1-3), 210-217. doi:10.1016/j.ejphar.2010.09.001
- Latremoliere, A., & Woolf, C. J. (2009). Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. *J Pain*, *10*(9), 895-926. doi:10.1016/j.jpain.2009.06.012
- Lee, G., & Kim, S. K. (2016). Therapeutic Effects of Phytochemicals and Medicinal Herbs on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Molecules*, *21*(9). doi:10.3390/molecules21091252

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Lee, K., Lee, J. S., Jang, H. J., Kim, S. M., Chang, M. S., Park, S. H., . . . Bu, Y. (2012). Chlorogenic acid ameliorates brain damage and edema by inhibiting matrix metalloproteinase-2 and 9 in a rat model of focal cerebral ischemia. *Eur J Pharmacol*, *689*(1-3), 89-95. doi:10.1016/j.ejphar.2012.05.028
- Lee, K. W., Jeong, J. Y., Lim, B. J., Chang, Y. K., Lee, S. J., Na, K. R., . . . Choi, D. E. (2009). Sildenafil attenuates renal injury in an experimental model of rat cisplatin-induced nephrotoxicity. *Toxicology*, *257*(3), 137-143. doi:10.1016/j.tox.2008.12.017
- Leo, M., Schmitt, L. I., Erkel, M., Melnikova, M., Thomale, J., & Hagenacker, T. (2017). Cisplatin-induced neuropathic pain is mediated by upregulation of N-type voltage-gated calcium channels in dorsal root ganglion neurons. *Exp Neurol*, *288*, 62-74. doi:10.1016/j.expneurol.2016.11.003
- Leon, A., Buriani, A., Dal Toso, R., Fabris, M., Romanello, S., Aloe, L., & Levi-Montalcini, R. (1994). Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *91*(9), 3739-3743. doi:10.1073/pnas.91.9.3739
- Leung, E. L., Fraser, M., Fiscus, R. R., & Tsang, B. K. (2008). Cisplatin alters nitric oxide synthase levels in human ovarian cancer cells: involvement in p53 regulation and cisplatin resistance. *Br J Cancer*, *98*(11), 1803-1809. doi:10.1038/sj.bjc.6604375
- Levy, D., & Zochodne, D. W. (2004). NO pain: potential roles of nitric oxide in neuropathic pain. *Pain Pract*, *4*(1), 11-18. doi:10.1111/j.1533-2500.2004.04002.x
- Li, Y., Shi, W., Li, Y., Zhou, Y., Hu, X., Song, C., . . . Li, Y. (2008). Neuroprotective effects of chlorogenic acid against apoptosis of PC12 cells induced by methylmercury. *Environ Toxicol Pharmacol*, *26*(1), 13-21. doi:10.1016/j.etap.2007.12.008
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2015). Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. *Nutrients*, *8*(1). doi:10.3390/nu8010016

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Lin, P. C., Lee, M. Y., Wang, W. S., Yen, C. C., Chao, T. C., Hsiao, L. T., . . . Chiou, T. J. (2006). N-acetylcysteine has neuroprotective effects against oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colon cancer patients: preliminary data. *Support Care Cancer*, *14*(5), 484-487. doi:10.1007/s00520-006-0018-9
- Links, M., & Lewis, C. (1999). Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs*, *57*(3), 293-308. doi:10.2165/00003495-199957030-00003
- Liu, C. C., Zhang, Y., Dai, B. L., Ma, Y. J., Zhang, Q., Wang, Y., & Yang, H. (2017). Chlorogenic acid prevents inflammatory responses in IL1betastimulated human SW1353 chondrocytes, a model for osteoarthritis. *Mol Med Rep*, *16*(2), 1369-1375. doi:10.3892/mmr.2017.6698
- LoMonaco, M., Milone, M., Batocchi, A. P., Padua, L., Restuccia, D., & Tonali, P. (1992). Cisplatin neuropathy: clinical course and neurophysiological findings. *J Neurol*, *239*(4), 199-204. doi:10.1007/bf00839140
- Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., & Wang, Z. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *J Food Sci*, *76*(6), M398-403. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02213.x
- Lu, R., Bausch, A. E., Kallenborn-Gerhardt, W., Stoetzer, C., Debruin, N., Ruth, P., . . . Schmidtko, A. (2015). Slack channels expressed in sensory neurons control neuropathic pain in mice. *J Neurosci*, *35*(3), 1125-1135. doi:10.1523/jneurosci.2423-14.2015
- Lu, Y., & Cederbaum, A. I. (2006). Cisplatin-induced hepatotoxicity is enhanced by elevated expression of cytochrome P450 2E1. *Toxicol Sci*, *89*(2), 515-523. doi:10.1093/toxsci/kfj031
- Ma, Y., Gao, M., & Liu, D. (2015). Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharm Res*, *32*(4), 1200-1209. doi:10.1007/s11095-014-1526-9



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Malik, N. M., Moore, G. B., Smith, G., Liu, Y. L., Sanger, G. J., & Andrews, P. L. (2006). Behavioural and hypothalamic molecular effects of the anti-cancer agent cisplatin in the rat: A model of chemotherapy-related malaise? *Pharmacol Biochem Behav*, *83*(1), 9-20. doi:10.1016/j.pbb.2005.11.017
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, *79*(5), 727-747. doi:10.1093/ajcn/79.5.727
- Mannick, J. B., Asano, K., Izumi, K., Kieff, E., & Stampler, J. S. (1994). Nitric oxide produced by human B lymphocytes inhibits apoptosis and Epstein-Barr virus reactivation. *Cell*, *79*(7), 1137-1146. doi:10.1016/0092-8674(94)90005-1
- Mao-Ying, Q. L., Kavelaars, A., Krukowski, K., Huo, X. J., Zhou, W., Price, T. J., . . . Heijnen, C. J. (2014). The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. *PLoS One*, *9*(6), e100701. doi:10.1371/journal.pone.0100701
- Marks, J. D., Boriboun, C., & Wang, J. (2005). Mitochondrial nitric oxide mediates decreased vulnerability of hippocampal neurons from immature animals to NMDA. *J Neurosci*, *25*(28), 6561-6575. doi:10.1523/jneurosci.1450-05.2005
- Marrassini, C., Acevedo, C., Mino, J., Ferraro, G., & Gorzalczany, S. (2010). Evaluation of antinociceptive, antiinflammatory activities and phytochemical analysis of aerial parts of *Urtica urens* L. *Phytother Res*, *24*(12), 1807-1812. doi:10.1002/ptr.3188
- Marullo, R., Werner, E., Degtyareva, N., Moore, B., Altavilla, G., Ramalingam, S. S., & Doetsch, P. W. (2013). Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. *PLoS One*, *8*(11), e81162. doi:10.1371/journal.pone.0081162
- Masuda, H., Tanaka, T., & Takahama, U. (1994). Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. *Biochem Biophys Res Commun*, *203*(2), 1175-1180. doi:10.1006/bbrc.1994.2306

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Mayer, D. J., Mao, J., Holt, J., & Price, D. D. (1999). Cellular mechanisms of neuropathic pain, morphine tolerance, and their interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *96*(14), 7731-7736. doi:10.1073/pnas.96.14.7731
- McKeage, M. J., Hsu, T., Screnci, D., Haddad, G., & Baguley, B. C. (2001). Nucleolar damage correlates with neurotoxicity induced by different platinum drugs. *Br J Cancer*, *85*(8), 1219-1225. doi:10.1054/bjoc.2001.2024
- McNaughton, L., Puttagunta, L., Martinez-Cuesta, M. A., Kneteman, N., Mayers, I., Moqbel, R., . . . Radomski, M. W. (2002). Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *99*(26), 17161-17166. doi:10.1073/pnas.0134112100
- McWhinney, S. R., Goldberg, R. M., & McLeod, H. L. (2009). Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Mol Cancer Ther*, *8*(1), 10-16. doi:10.1158/1535-7163.Mct-08-0840
- Mehrotra, A., Shanbhag, R., Chamallamudi, M. R., Singh, V. P., & Mudgal, J. (2011). Ameliorative effect of caffeic acid against inflammatory pain in rodents. *Eur J Pharmacol*, *666*(1-3), 80-86. doi:10.1016/j.ejphar.2011.05.039
- Meller, S. T., & Gebhart, G. F. (1993). Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, *52*(2), 127-136. doi:10.1016/0304-3959(93)90124-8
- Meller, S. T., Pechman, P. S., Gebhart, G. F., & Maves, T. J. (1992). Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience*, *50*(1), 7-10. doi:10.1016/0306-4522(92)90377-e
- Melli, G., & Hoke, A. (2009). Dorsal Root Ganglia Sensory Neuronal Cultures: a tool for drug discovery for peripheral neuropathies. *Expert Opin Drug Discov*, *4*(10), 1035-1045. doi:10.1517/17460440903266829
- Melli, G., Taiana, M., Camozzi, F., Triolo, D., Podini, P., Quattrini, A., . . . Lauria, G. (2008). Alpha-lipoic acid prevents mitochondrial damage and neurotoxicity in experimental chemotherapy neuropathy. *Exp Neurol*, *214*(2), 276-284. doi:10.1016/j.expneurol.2008.08.013
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., & Hu, Y. (2013). Roles of chlorogenic Acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. *Evid Based Complement Alternat Med*, *2013*, 801457. doi:10.1155/2013/801457

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Michel, T., & Feron, O. (1997). Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest*, *100*(9), 2146-2152. doi:10.1172/jci119750
- Mikami, Y., & Yamazawa, T. (2015). Chlorogenic acid, a polyphenol in coffee, protects neurons against glutamate neurotoxicity. *Life Sci*, *139*, 69-74. doi:10.1016/j.lfs.2015.08.005
- Miller, A. A., Wang, X. F., Gu, L., Hoffman, P., Khatri, J., Dunphy, F., . . . Green, M. R. (2008). Phase II randomized study of dose-dense docetaxel and cisplatin every 2 weeks with pegfilgrastim and darbepoetin alfa with and without the chemoprotector BNP7787 in patients with advanced non-small cell lung cancer (CALGB 30303). *J Thorac Oncol*, *3*(10), 1159-1165. doi:10.1097/JTO.0b013e318186fb0d
- Miller, R. P., Tadagavadi, R. K., Ramesh, G., & Reeves, W. B. (2010). Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)*, *2*(11), 2490-2518. doi:10.3390/toxins2112490
- Miltenburg, N. C., & Boogerd, W. (2014). Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. *Cancer Treat Rev*, *40*(7), 872-882. doi:10.1016/j.ctrv.2014.04.004
- Miyamoto, T., Dubin, A. E., Petrus, M. J., & Patapoutian, A. (2009). TRPV1 and TRPA1 mediate peripheral nitric oxide-induced nociception in mice. *PLoS One*, *4*(10), e7596. doi:10.1371/journal.pone.0007596
- Mollace, V., Muscoli, C., Masini, E., Cuzzocrea, S., & Salvemini, D. (2005). Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev*, *57*(2), 217-252. doi:10.1124/pr.57.2.1
- Mollman, J. E., Glover, D. J., Hogan, W. M., & Furman, R. E. (1988). Cisplatin neuropathy. Risk factors, prognosis, and protection by WR-2721. *Cancer*, *61*(11), 2192-2195. doi:10.1002/1097-0142(19880601)61:11<2192::aid-cncr2820611110>3.0.co;2-a

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Monteiro, R., & Azevedo, I. (2010). Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*, 2010. doi:10.1155/2010/289645
- Mukherjee, P., Cinelli, M. A., Kang, S., & Silverman, R. B. (2014). Development of nitric oxide synthase inhibitors for neurodegeneration and neuropathic pain. *Chem Soc Rev*, 43(19), 6814-6838. doi:10.1039/c3cs60467e
- Nabavi, S. F., Tejada, S., Setzer, W. N., Gortzi, O., Sureda, A., Braidy, N., . . . Nabavi, S. M. (2017). Chlorogenic Acid and Mental Diseases: From Chemistry to Medicine. *Curr Neuropharmacol*, 15(4), 471-479. doi:10.2174/1570159x14666160325120625
- Nassini, R., Gees, M., Harrison, S., De Siena, G., Materazzi, S., Moretto, N., . . . Geppetti, P. (2011). Oxaliplatin elicits mechanical and cold allodynia in rodents via TRPA1 receptor stimulation. *Pain*, 152(7), 1621-1631. doi:10.1016/j.pain.2011.02.051
- Naziroglu, M., Karaoglu, A., & Aksoy, A. O. (2004). Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*, 195(2-3), 221-230. doi:10.1016/j.tox.2003.10.012
- Neumann, S., Doubell, T. P., Leslie, T., & Woolf, C. J. (1996). Inflammatory pain hypersensitivity mediated by phenotypic switch in myelinated primary sensory neurons. *Nature*, 384(6607), 360-364. doi:10.1038/384360a0
- Nicholson, B. (2000). Gabapentin use in neuropathic pain syndromes. *Acta Neurol Scand*, 101(6), 359-371. doi:10.1034/j.1600-0404.2000.0006a.x
- Nicholson, B. (2006). Differential diagnosis: nociceptive and neuropathic pain. *Am J Manag Care*, 12(9 Suppl), S256-262.
- Niggeweg, R., Michael, A. J., & Martin, C. (2004). Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nat Biotechnol*, 22(6), 746-754. doi:10.1038/nbt966
- Nitha, B., & Janardhanan, K. K. (2008). Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol*, 46(9), 3193-3199. doi:10.1016/j.fct.2008.07.007

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Noratto, G., Porter, W., Byrne, D., & Cisneros-Zevallos, L. (2009). Identifying peach and plum polyphenols with chemopreventive potential against estrogen-independent breast cancer cells. *J Agric Food Chem*, *57*(12), 5219-5226. doi:10.1021/jf900259m
- O'Dell, T. J., Hawkins, R. D., Kandel, E. R., & Arancio, O. (1991). Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *88*(24), 11285-11289. doi:10.1073/pnas.88.24.11285
- Oboh, G., Agunloye, O. M., Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O., & Adefegha, S. A. (2013). Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to Alzheimer's disease and some pro-oxidant induced oxidative stress in rats' brain-in vitro. *Neurochem Res*, *38*(2), 413-419. doi:10.1007/s11064-012-0935-6
- Osborne, M. G., & Coderre, T. J. (1999). Effects of intrathecal administration of nitric oxide synthase inhibitors on carrageenan-induced thermal hyperalgesia. *Br J Pharmacol*, *126*(8), 1840-1846. doi:10.1038/sj.bjp.0702508
- Ozben, T. (2007). Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *J Pharm Sci*, *96*(9), 2181-2196. doi:10.1002/jps.20874
- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., & Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, *245*(3), 194-205. doi:10.1016/j.tox.2007.11.021
- Ozols, R. F., & Young, R. C. (1985). High-dose cisplatin therapy in ovarian cancer. *Semin Oncol*, *12*(4 Suppl 6), 21-30.
- Özatic O, K. A., Dağ İ, Köse AA, Musmul A, Şengel T. . (2016). The Effect of Decompression on the Treatment of Chronic Constriction Injury in Peripheral Nerve. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*(22 (4)), 597-604. doi:10.9775/kvfd.2016.15126

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Pace, A., Savarese, A., Picardo, M., Maresca, V., Pacetti, U., Del Monte, G., . . . Bove, L. (2003). Neuroprotective effect of vitamin E supplementation in patients treated with cisplatin chemotherapy. *J Clin Oncol*, *21*(5), 927-931. doi:10.1200/jco.2003.05.139
- Pacher, P., Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007). Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev*, *87*(1), 315-424. doi:10.1152/physrev.00029.2006
- Pan, H., Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Patel, V., Mukhopadhyay, B., Gao, B., . . . Pacher, P. (2009). Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and cell death. *J Pharmacol Exp Ther*, *328*(3), 708-714. doi:10.1124/jpet.108.147181
- Park, H. J., Stokes, J. A., Corr, M., & Yaksh, T. L. (2014). Toll-like receptor signaling regulates cisplatin-induced mechanical allodynia in mice. *Cancer Chemother Pharmacol*, *73*(1), 25-34. doi:10.1007/s00280-013-2304-9
- Park, S. B., Goldstein, D., Krishnan, A. V., Lin, C. S., Friedlander, M. L., Cassidy, J., . . . Kiernan, M. C. (2013). Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. *CA Cancer J Clin*, *63*(6), 419-437. doi:10.3322/caac.21204
- Pavlica, S., & Gebhardt, R. (2005). Protective effects of ellagic and chlorogenic acids against oxidative stress in PC12 cells. *Free Radic Res*, *39*(12), 1377-1390. doi:10.1080/09670260500197660
- Petersen-Felix, S., & Curatolo, M. (2002). Neuroplasticity--an important factor in acute and chronic pain. *Swiss Med Wkly*, *132*(21-22), 273-278. doi:2002/21/smw-09913
- Pisano, C., Pratesi, G., Laccabue, D., Zunino, F., Lo Giudice, P., Bellucci, A., . . . Cavaletti, G. (2003). Paclitaxel and Cisplatin-induced neurotoxicity: a protective role of acetyl-L-carnitine. *Clin Cancer Res*, *9*(15), 5756-5767.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Planting, A. S., Catimel, G., de Mulder, P. H., de Graeff, A., Hoppener, F., Verweij, J., . . . Vermorken, J. B. (1999). Randomized study of a short course of weekly cisplatin with or without amifostine in advanced head and neck cancer. EORTC Head and Neck Cooperative Group. *Ann Oncol*, *10*(6), 693-700. doi:10.1023/a:1008353505916
- Podratz, J. L., Knight, A. M., Ta, L. E., Staff, N. P., Gass, J. M., Genelin, K., . . . Windebank, A. J. (2011). Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiol Dis*, *41*(3), 661-668. doi:10.1016/j.nbd.2010.11.017
- Powell, K. J., Hosokawa, A., Bell, A., Sutak, M., Milne, B., Quirion, R., & Jhamandas, K. (1999). Comparative effects of cyclo-oxygenase and nitric oxide synthase inhibition on the development and reversal of spinal opioid tolerance. *Br J Pharmacol*, *127*(3), 631-644. doi:10.1038/sj.bjp.0702587
- Powell, K. J., Ma, W., Sutak, M., Doods, H., Quirion, R., & Jhamandas, K. (2000). Blockade and reversal of spinal morphine tolerance by peptide and non-peptide calcitonin gene-related peptide receptor antagonists. *Br J Pharmacol*, *131*(5), 875-884. doi:10.1038/sj.bjp.0703655
- Priftis, A., Panagiotou, E. M., Lakis, K., Plika, C., Halabalaki, M., Ntasi, G., . . . Kouretas, D. (2018). Roasted and green coffee extracts show antioxidant and cytotoxic activity in myoblast and endothelial cell lines in a cell specific manner. *Food Chem Toxicol*, *114*, 119-127. doi:10.1016/j.fct.2018.02.029
- Qu, Z. W., Liu, T. T., Qiu, C. Y., Li, J. D., & Hu, W. P. (2014). Inhibition of acid-sensing ion channels by chlorogenic acid in rat dorsal root ganglion neurons. *Neurosci Lett*, *567*, 35-39. doi:10.1016/j.neulet.2014.03.027
- Quasthoff, S., & Hartung, H. P. (2002). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol*, *249*(1), 9-17. doi:10.1007/pl00007853
- Quinn, A. C., Petros, A. J., & Vallance, P. (1995). Nitric oxide: an endogenous gas. *Br J Anaesth*, *74*(4), 443-451. doi:10.1093/bja/74.4.443
- Rabik, C. A., & Dolan, M. E. (2007). Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*, *33*(1), 9-23. doi:10.1016/j.ctrv.2006.09.006

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*, *20*(7), 933-956. doi:10.1016/0891-5849(95)02227-9
- Riddell, I. A. (2018). Cisplatin and Oxaliplatin: Our Current Understanding of Their Actions. *Met Ions Life Sci*, *18*. doi:10.1515/9783110470734-007
- Ridger, V. C., Greenacre, S. A., Handy, R. L., Halliwell, B., Moore, P. K., Whiteman, M., & Brain, S. D. (1997). Effect of peroxynitrite on plasma extravasation, microvascular blood flow and nociception in the rat. *Br J Pharmacol*, *122*(6), 1083-1088. doi:10.1038/sj.bjp.0701498
- Rosenberg, B., Van Camp, L., Grimley, E. B., & Thomson, A. J. (1967). The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum(IV) complexes. *J Biol Chem*, *242*(6), 1347-1352.
- Russell, J. W., Golovoy, D., Vincent, A. M., Mahendru, P., Olzmann, J. A., Mentzer, A., & Feldman, E. L. (2002). High glucose-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurons. *Faseb j*, *16*(13), 1738-1748. doi:10.1096/fj.01-1027com
- Salvemini, D., Misko, T. P., Masferrer, J. L., Seibert, K., Currie, M. G., & Needleman, P. (1993). Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *90*(15), 7240-7244. doi:10.1073/pnas.90.15.7240
- Sandkuhler, J. (2009). Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiol Rev*, *89*(2), 707-758. doi:10.1152/physrev.00025.2008
- Santana-Galvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velazquez, D. A. (2017). Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. *Molecules*, *22*(3). doi:10.3390/molecules22030358
- Santos, N. A., Bezerra, C. S., Martins, N. M., Curti, C., Bianchi, M. L., & Santos, A. C. (2008). Hydroxyl radical scavenger ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Cancer Chemother Pharmacol*, *61*(1), 145-155. doi:10.1007/s00280-007-0459-y



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C., & Jimenez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, *45*(4), 287-306. doi:10.1080/1040869059096
- Schafers, M., Sommer, C., Geis, C., Hagenacker, T., Vandenabeele, P., & Sorokin, L. S. (2008). Selective stimulation of either tumor necrosis factor receptor differentially induces pain behavior in vivo and ectopic activity in sensory neurons in vitro. *Neuroscience*, *157*(2), 414-423. doi:10.1016/j.neuroscience.2008.08.067
- Schaible, H. G., & Schmidt, R. F. (1988). Time course of mechanosensitivity changes in articular afferents during a developing experimental arthritis. *J Neurophysiol*, *60*(6), 2180-2195. doi:10.1152/jn.1988.60.6.2180
- Schmidt, Y., Unger, J. W., Bartke, I., & Reiter, R. (1995). Effect of nerve growth factor on peptide neurons in dorsal root ganglia after taxol or cisplatin treatment and in diabetic (db/db) mice. *Exp Neurol*, *132*(1), 16-23. doi:10.1016/0014-4886(95)90054-3
- Scuteri, A., Galimberti, A., Maggioni, D., Ravasi, M., Pasini, S., Nicolini, G., . . . Tredici, G. (2009). Role of MAPKs in platinum-induced neuronal apoptosis. *Neurotoxicology*, *30*(2), 312-319. doi:10.1016/j.neuro.2009.01.003
- Scuteri, A., Galimberti, A., Ravasi, M., Pasini, S., Donzelli, E., Cavaletti, G., & Tredici, G. (2010). NGF protects dorsal root ganglion neurons from oxaliplatin by modulating JNK/Sapk and ERK1/2. *Neurosci Lett*, *486*(3), 141-145. doi:10.1016/j.neulet.2010.09.028
- Seretny, M., Currie, G. L., Sena, E. S., Ramnarine, S., Grant, R., MacLeod, M. R., . . . Fallon, M. (2014). Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain*, *155*(12), 2461-2470. doi:10.1016/j.pain.2014.09.020
- Shabani, M., Larizadeh, M. H., Parsania, S., Hajali, V., & Shojaei, A. (2012). Evaluation of destructive effects of exposure to cisplatin during developmental stage: no profound evidence for sex differences in impaired motor and memory performance. *Int J Neurosci*, *122*(8), 439-448. doi:10.3109/00207454.2012.673515

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Shahid, F., Farooqui, Z., & Khan, F. (2018). Cisplatin-induced gastrointestinal toxicity: An update on possible mechanisms and on available gastroprotective strategies. *Eur J Pharmacol*, 827, 49-57. doi:10.1016/j.ejphar.2018.03.009
- Sharawy, N., Rashed, L., & Youakim, M. F. (2015). Evaluation of multi-neuroprotective effects of erythropoietin using cisplatin induced peripheral neurotoxicity model. *Exp Toxicol Pathol*, 67(4), 315-322. doi:10.1016/j.etp.2015.02.003
- Shimizu, S., Takahashi, N., & Mori, Y. (2014). TRPs as chemosensors (ROS, RNS, RCS, gasotransmitters). *Handb Exp Pharmacol*, 223, 767-794. doi:10.1007/978-3-319-05161-1\_3
- Shimoyama, A. T., Santin, J. R., Machado, I. D., de Oliveira e Silva, A. M., de Melo, I. L., Mancini-Filho, J., & Farsky, S. H. (2013). Antiulcerogenic activity of chlorogenic acid in different models of gastric ulcer. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 386(1), 5-14. doi:10.1007/s00210-012-0807-2
- Shrivastava, A., Kuzontkoski, P. M., Groopman, J. E., & Prasad, A. (2011). Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and autophagy. *Mol Cancer Ther*, 10(7), 1161-1172. doi:10.1158/1535-7163.Mct-10-1100
- Smith, A. (2002). Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem Toxicol*, 40(9), 1243-1255. doi:10.1016/s0278-6915(02)00096-0
- Sousa, A. M., & Prado, W. A. (2001). The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. *Brain Res*, 897(1-2), 9-19. doi:10.1016/s0006-8993(01)01995-3
- Starobova, H., & Vetter, I. (2017). Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Front Mol Neurosci*, 10, 174. doi:10.3389/fnmol.2017.00174
- Storey, D. J., Sakala, M., McLean, C. M., Phillips, H. A., Dawson, L. K., Wall, L. R., . . . Clive, S. (2010). Capecitabine combined with oxaliplatin (CapOx) in clinical practice: how significant is peripheral neuropathy? *Ann Oncol*, 21(8), 1657-1661. doi:10.1093/annonc/mdp594

## **KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)**

- Story, G. M., Peier, A. M., Reeve, A. J., Eid, S. R., Mosbacher, J., Hricik, T. R., . . . Patapoutian, A. (2003). ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell*, *112*(6), 819-829. doi:10.1016/s0092-8674(03)00158-2
- Sultana, S., Verma, K., & Khan, R. (2012). Nephroprotective efficacy of chrysin against cisplatin-induced toxicity via attenuation of oxidative stress. *J Pharm Pharmacol*, *64*(6), 872-881. doi:10.1111/j.2042-7158.2012.01470.x
- Sutton, G., Brunetto, V. L., Kilgore, L., Soper, J. T., McGehee, R., Olt, G., . . . Hsiu, J. G. (2000). A phase III trial of ifosfamide with or without cisplatin in carcinosarcoma of the uterus: A Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecol Oncol*, *79*(2), 147-153. doi:10.1006/gyno.2000.6001
- Ta, L. E., Bieber, A. J., Carlton, S. M., Loprinzi, C. L., Low, P. A., & Windebank, A. J. (2010). Transient Receptor Potential Vanilloid 1 is essential for cisplatin-induced heat hyperalgesia in mice. *Mol Pain*, *6*, 15. doi:10.1186/1744-8069-6-15
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *Eur J Nutr*, *56*(7), 2215-2244. doi:10.1007/s00394-017-1379-1
- Takahashi, N., Mizuno, Y., Kozai, D., Yamamoto, S., Kiyonaka, S., Shibata, T., . . . Mori, Y. (2008). Molecular characterization of TRPA1 channel activation by cysteine-reactive inflammatory mediators. *Channels (Austin)*, *2*(4), 287-298. doi:10.4161/chan.2.4.6745
- Taram, F., Winter, A. N., & Linseman, D. A. (2016). Neuroprotection comparison of chlorogenic acid and its metabolites against mechanistically distinct cell death-inducing agents in cultured cerebellar granule neurons. *Brain Res*, *1648*(Pt A), 69-80. doi:10.1016/j.brainres.2016.07.028
- Teraoka, M., Nakaso, K., Kusumoto, C., Katano, S., Tajima, N., Yamashita, A., . . . Matura, T. (2012). Cytoprotective effect of chlorogenic acid against alpha-synuclein-related toxicity in catecholaminergic PC12 cells. *J Clin Biochem Nutr*, *51*(2), 122-127. doi:10.3164/jcbtn.D-11-00030

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Thompson, S. W., Davis, L. E., Kornfeld, M., Hilgers, R. D., & Standefer, J. C. (1984). Cisplatin neuropathy. Clinical, electrophysiologic, morphologic, and toxicologic studies. *Cancer*, *54*(7), 1269-1275. doi:10.1002/1097-0142(19841001)54:7<1269::aid-cnrcr2820540707>3.0.co;2-9
- Tomiwa, K., Nolan, C., & Cavanagh, J. B. (1986). The effects of cisplatin on rat spinal ganglia: a study by light and electron microscopy and by morphometry. *Acta Neuropathol*, *69*(3-4), 295-308. doi:10.1007/bf00688308
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, *65*(2), 87-108. doi:10.3322/caac.21262
- Torres-Contreras, A. M., Nair, V., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velazquez, D. A. (2014). Effect of exogenous amyolytic enzymes on the accumulation of chlorogenic acid isomers in wounded potato tubers. *J Agric Food Chem*, *62*(31), 7671-7675. doi:10.1021/jf5026983
- Treede, R. D., Jensen, T. S., Campbell, J. N., Cruccu, G., Dostrovsky, J. O., Griffin, J. W., . . . Serra, J. (2008). Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*, *70*(18), 1630-1635. doi:10.1212/01.wnl.0000282763.29778.59
- Trevisan, G., Rossato, M. F., Tonello, R., Hoffmeister, C., Klafke, J. Z., Rosa, F., . . . Ferreira, J. (2014). Gallic acid functions as a TRPA1 antagonist with relevant antinociceptive and antiedematogenic effects in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, *387*(7), 679-689. doi:10.1007/s00210-014-0978-0
- Tsao, R., Yang, R., Young, J. C., & Zhu, H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *J Agric Food Chem*, *51*(21), 6347-6353. doi:10.1021/jf0346298
- Vallance, P., & Leiper, J. (2002). Blocking NO synthesis: how, where and why? *Nat Rev Drug Discov*, *1*(12), 939-950. doi:10.1038/nrd960

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- van der Hoop, R. G., van der Burg, M. E., ten Bokkel Huinink, W. W., van Houwelingen, C., & Neijt, J. P. (1990). Incidence of neuropathy in 395 patients with ovarian cancer treated with or without cisplatin. *Cancer*, *66*(8), 1697-1702. doi:10.1002/1097-0142(19901015)66:8<1697::aid-cncr2820660808>3.0.co;2-g
- van Gerven, J. M., Hovestadt, A., Moll, J. W., Rodenburg, C. J., Splinter, T. A., van Oosterom, A. T., . . . et al. (1994). The effects of an ACTH (4-9) analogue on development of cisplatin neuropathy in testicular cancer: a randomized trial. *J Neurol*, *241*(7), 432-435. doi:10.1007/bf00900961
- Van Hees, J., & Gybels, J. (1981). C nociceptor activity in human nerve during painful and non painful skin stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *44*(7), 600-607. doi:10.1136/jnnp.44.7.600
- Vanderah, T. W., Ossipov, M. H., Lai, J., Malan, T. P., Jr., & Porreca, F. (2001). Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. *Pain*, *92*(1-2), 5-9. doi:10.1016/s0304-3959(01)00311-6
- Vashistha, B., Sharma, A., & Jain, V. (2017). Ameliorative potential of ferulic acid in vincristine-induced painful neuropathy in rats: An evidence of behavioral and biochemical examination. *Nutr Neurosci*, *20*(1), 60-70. doi:10.1179/1476830514y.0000000165
- Vereshchagina, Y. V., Bulgakov, V. P., Grigorchuk, V. P., Rybin, V. G., Veremeichik, G. N., Tchernoded, G. K., . . . Zhuravlev, Y. N. (2014). The rolC gene increases caffeoylquinic acid production in transformed artichoke cells. *Appl Microbiol Biotechnol*, *98*(18), 7773-7780. doi:10.1007/s00253-014-5869-2
- Wang, J. T., Medress, Z. A., & Barres, B. A. (2012). Axon degeneration: molecular mechanisms of a self-destruction pathway. *J Cell Biol*, *196*(1), 7-18. doi:10.1083/jcb.201108111
- Wang, X. M., Lehky, T. J., Brell, J. M., & Dorsey, S. G. (2012). Discovering cytokines as targets for chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy. *Cytokine*, *59*(1), 3-9. doi:10.1016/j.cyto.2012.03.027

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Waseem, M., Bhardwaj, M., Tabassum, H., Raisuddin, S., & Parvez, S. (2015). Cisplatin hepatotoxicity mediated by mitochondrial stress. *Drug Chem Toxicol*, 38(4), 452-459. doi:10.3109/01480545.2014.992437
- Waseem, M., Kaushik, P., Tabassum, H., & Parvez, S. (2018). Role of Mitochondrial Mechanism in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Curr Drug Metab*, 19(1), 47-54. doi:10.2174/1389200219666171207121313
- Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2002). Beyond neurons: evidence that immune and glial cells contribute to pathological pain states. *Physiol Rev*, 82(4), 981-1011. doi:10.1152/physrev.00011.2002
- Wei, H., Karimaa, M., Korjamo, T., Koivisto, A., & Pertovaara, A. (2012). Transient receptor potential ankyrin 1 ion channel contributes to guarding pain and mechanical hypersensitivity in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology*, 117(1), 137-148. doi:10.1097/ALN.0b013e31825adb0e
- Wei, M., Chen, L., Liu, J., Zhao, J., Liu, W., & Feng, F. (2016). Protective effects of a Chotosan Fraction and its active components on beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Neurosci Lett*, 617, 143-149. doi:10.1016/j.neulet.2016.02.019
- Weng, C. J., & Yen, G. C. (2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treat Rev*, 38(1), 76-87. doi:10.1016/j.ctrv.2011.03.001
- Windebank, A. J., & Grisold, W. (2008). Chemotherapy-induced neuropathy. *J Peripher Nerv Syst*, 13(1), 27-46. doi:10.1111/j.1529-8027.2008.00156.x
- Windebank, A. J., Smith, A. G., & Russell, J. W. (1994). The effect of nerve growth factor, ciliary neurotrophic factor, and ACTH analogs on cisplatin neurotoxicity in vitro. *Neurology*, 44(3 Pt 1), 488-494. doi:10.1212/wnl.44.3\_part\_1.488
- Wink, D. A., Hanbauer, I., Krishna, M. C., DeGraff, W., Gamson, J., & Mitchell, J. B. (1993). Nitric oxide protects against cellular damage and cytotoxicity from reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90(21), 9813-9817. doi:10.1073/pnas.90.21.9813

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Wink, D. A., & Mitchell, J. B. (1998). Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med*, 25(4-5), 434-456. doi:10.1016/s0891-5849(98)00092-6
- Wongtawatchai, T., Agthong, S., Kaewsema, A., & Chentanez, V. (2012). Altered phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in dorsal root ganglia and sciatic nerve of rats with cisplatin-induced neuropathy. 6(3), 397. doi:<https://doi.org/10.5372/1905-7415.0603.070>
- Woolf, C. J. (1983). Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature*, 306(5944), 686-688. doi:10.1038/306686a0
- Woolf, C. J. (1991). Generation of acute pain: central mechanisms. *Br Med Bull*, 47(3), 523-533. doi:10.1093/oxfordjournals.bmb.a072490
- Woolf, C. J., & Mannion, R. J. (1999). Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet*, 353(9168), 1959-1964. doi:10.1016/s0140-6736(99)01307-0
- Xiao, W. H., & Bennett, G. J. (2012). Effects of mitochondrial poisons on the neuropathic pain produced by the chemotherapeutic agents, paclitaxel and oxaliplatin. *Pain*, 153(3), 704-709. doi:10.1016/j.pain.2011.12.011
- Xu, F., Wen, T., Lu, T. J., & Seffen, K. A. (2008). Modeling of nociceptor transduction in skin thermal pain sensation. *J Biomech Eng*, 130(4), 041013. doi:10.1115/1.2939370
- Xu, R., Kang, Q., Ren, J., Li, Z., & Xu, X. (2013). Antitumor Molecular Mechanism of Chlorogenic Acid on Inducing Genes GSK-3 beta and APC and Inhibiting Gene beta -Catenin. *J Anal Methods Chem*, 2013, 951319. doi:10.1155/2013/951319
- Xu, X. J., Dalsgaard, C. J., & Wiesenfeld-Hallin, Z. (1992). Spinal substance P and N-methyl-D-aspartate receptors are coactivated in the induction of central sensitization of the nociceptive flexor reflex. *Neuroscience*, 51(3), 641-648. doi:10.1016/0306-4522(92)90303-j

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Yagasaki, K., Miura, Y., Okauchi, R., & Furuse, T. (2000). Inhibitory effects of chlorogenic acid and its related compounds on the invasion of hepatoma cells in culture. *Cytotechnology*, 33(1-3), 229-235. doi:10.1023/a:1008141918852
- Yam, M. F., Loh, Y. C., Tan, C. S., Khadijah Adam, S., Abdul Manan, N., & Basir, R. (2018). General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *Int J Mol Sci*, 19(8). doi:10.3390/ijms19082164
- Yao, J., Peng, S., Xu, J., & Fang, J. (2019). Reversing ROS-mediated neurotoxicity by chlorogenic acid involves its direct antioxidant activity and activation of Nrf2-ARE signaling pathway. *Biofactors*, 45(4), 616-626. doi:10.1002/biof.1507
- Yao, X., Panichpisal, K., Kurtzman, N., & Nugent, K. (2007). Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci*, 334(2), 115-124. doi:10.1097/MAJ.0b013e31812dfe1e
- Yegül, İ. (1993). Ağrının nöroanatomi ve nörofizyolojisi. . In E. C. (Ed.), *Ağrı ve tedavisi* (pp. 1-18). İzmir: Yapım Matbaacılık.
- Yilmaz, H. R., Sogut, S., Ozyurt, B., Ozugurlu, F., Sahin, S., Isik, B., . . . Ozyurt, H. (2005). The activities of liver adenosine deaminase, xanthine oxidase, catalase, superoxide dismutase enzymes and the levels of malondialdehyde and nitric oxide after cisplatin toxicity in rats: protective effect of caffeic acid phenethyl ester. *Toxicol Ind Health*, 21(3-4), 67-73. doi:10.1191/0748233705th216oa
- Yonathan, M., Asres, K., Assefa, A., & Bucar, F. (2006). In vivo anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Cheilanthes farinosa*. *J Ethnopharmacol*, 108(3), 462-470. doi:10.1016/j.jep.2006.06.006
- Yoon, Y. W., Sung, B., & Chung, J. M. (1998). Nitric oxide mediates behavioral signs of neuropathic pain in an experimental rat model. *Neuroreport*, 9(3), 367-372. doi:10.1097/00001756-199802160-00002



## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Yoshida, K., & Gage, F. H. (1992). Cooperative regulation of nerve growth factor synthesis and secretion in fibroblasts and astrocytes by fibroblast growth factor and other cytokines. *Brain Res*, *569*(1), 14-25. doi:10.1016/0006-8993(92)90364-f
- Yucel, A., & Cimen, A. (2005). [Neuropathic pain: mechanisms, diagnosis and treatment]. *Agri*, *17*(1), 5-13.
- Zajaczkowska, R., Kocot-Kepska, M., Leppert, W., Wrzosek, A., Mika, J., & Wordliczek, J. (2019). Mechanisms of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Int J Mol Sci*, *20*(6). doi:10.3390/ijms20061451
- Zhao, Y., Wang, J., Ballevre, O., Luo, H., & Zhang, W. (2012). Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertens Res*, *35*(4), 370-374. doi:10.1038/hr.2011.195
- Zhou, Z., Liang, Y., Deng, F., Cheng, Y., Sun, J., Guo, L., & Xu, G. (2015). Phosphorylated neuronal nitric oxide synthase in neuropathic pain in rats. *Int J Clin Exp Pathol*, *8*(10), 12748-12756.
- Zilliox, L. A. (2017). Neuropathic Pain. *Continuum (Minneap Minn)*, *23*(2, Selected Topics in Outpatient Neurology), 512-532. doi:10.1212/con.0000000000000462
- Zimmermann, M. (2001). Pathobiology of neuropathic pain. *Eur J Pharmacol*, *429*(1-3), 23-37. doi:10.1016/s0014-2999(01)01303-6

# ÖZGEÇMİŞ

## Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Çiğdem ÇENGELLİ ÜNEL

Doğum tarihi ve yeri: 05.01.1986

Uyruğu: T.C. vatandaşı

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji

Anabilim Dalı, Meşelik kampüsü, 26480 Odunpazarı, Eskişehir

## Eğitim Durumu

09/1997-06-2004: Fatih Anadolu Lisesi

09/2004-06/200: Koç Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya ve Biyoloji  
Mühendisliği Bölümü

İngilizce: 90 (Yökdil 2017)

## Mesleki Deneyim:

### Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Türk Farmakoloji Derneği

### Yayımlar:

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

### Makale:

1. B. Dönertas, Ç. Çengelli Ünel, S. Aydın, E. Ulupınar, O. Özatık, B. Kaygısız, E. Yıldırım and K. Erol, Agmatine Co-Treatment Attenuates Allodynia And Structural Abnormalities In Cisplatin-Induced Neuropathy In Rats, *Fundam Clin Pharmacol.* **2018** Jun;32(3):288-296.
2. B. Dönertas, Ç. Çengelli Ünel and K. Erol, Cannabinoids And Agmatine As Potential Therapeutic Alternatives For Cisplatin-Induced Peripheral Neuropathy, *J Exp Pharmacol.* **2018** Jun 22;10:19-28
3. Ç. Çengelli Ünel and K. Erol, The Role Of Ionic Homeostasis In Cisplatin-induced Neurotoxicity: A Preliminary Study, *Eurasian J Med.* **2018** Jun;50(2):81-85

4. Fikriye Yasemin Özatik, Orhan Özatik, Semra Yiğitaslan, Çiğdem Çengelli Ünel, Kevser Erol Protective role of resveratrol on testicular germ cells in mice with testicular toxicity Turk J Urol **2017**; 43(4): 444-50
5. Semra Yiğitaslan, Kevser Erol, Fikriye Yasemin Özatik, Orhan Özatik, Sabiha Şahin, Çiğdem Çengelli Estrogen-like Activity of Quercetin in Female Rats Erciyes Med J **2016**; 38(2): 53-8
6. Kevser Erol, Semra Yiğitaslan, Çiğdem Ünel, Bilgin Kaygısız, Engin Yıldırım Evaluation of Cisplatin Neurotoxicity in Cultured Rat Dorsal Root Ganglia via Cytosolic Calcium Accumulation Balkan Med J **2016**;33: 144-51
7. Semra Yigitaslan, Kevser Erol, Cigdem Cengelli The Effect of P-Glycoprotein Inhibition and Activation on the Absorption and Serum Levels of Cyclosporine and Tacrolimus in Rats Adv Clin Exp Med **2016**, 25, 2, 237–242
8. Kırımlioğlu GY, Yazan Y, Erol K, Çengelli Ünel Ç. Gamma-aminobutyric acid loaded halloysite nanotubes and in vitro-in vivo evaluation for brain delivery. Int J Pharm. **2015** Nov 30;495(2):816-26.
9. El-Khouly A, Gündüz MG, Cengelli C, Simşek R, Erol K, Safak C, Yıldırım SO, Butcher RJ. Microwave-Assisted Synthesis and Spasmolytic Activity of 4 Indolylhexahydroquinoline Derivatives. Drug Res (Stuttg). **2013** Jun 26

#### **Poster ve Sözlü Bildiriler**

1. K. Erol, E. Bozkurt and Ç. Çengelli Ünel, The Acute Effects Of Chlorogenic Acid In Cisplatin Induced Peripheral Neuropathy, Poster Bildiri, 18th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology, 01 July 2018, 06 December 2018.
2. O. Özatik, E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar and Ç. Çengelli Ünel. Effects Of Chronic Anandamide Administration And The Role Of Nitric Oxide On Cisplatin Induced Peripheral Neuropathy In Rats. Poster Bildiri. 18th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology, 01 July2018-06 July 2018.
3. O. Özatik, E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar and Ç. Çengelli Ünel, Sisplatin Nöropatisine Karsı Anandamidin

- Koruyucu Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması, Poster Bildiri 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-20 October 2017.
4. O. Özatık, E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar & Ç. Çengelli Ünel, Sisplatin Nörotoksitesine Karsı Agmatinin Koruyucu Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması, Sözlü Sunum, 24.Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-20 October 2017.
  5. E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar and Ç. Çengelli Ünel, Kronik Agmatin Uygulamasının Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Nöropati Üzerine Etkileri, Poster, 15. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 07-10 May 2017.
  6. E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar and Ç. Çengelli Ünel, Kronik Anandamid Uygulamasının Sıçanlarda Sisplatinle İndüklenen Nöropati Üzerine Etkileri, Poster, 15. Ulusal Sinirbilim Kongresi, 07-10 May 2017.
  7. O. Özatık, F. Y. Özatık, B. Kaygısız, K. Erol, Ç. Çengelli Ünel, D. Bayraktar and Ö. Teksoy, The Contribution Of Resveratrol To Antiepileptic Effects Of Diazepam And Gabapentin, Poster, 30th. Seoul World Congress Of The International College Of Neuropsychopharmacology (Cinp), 03-07 July 2016
  8. B. Kaygısız, K. Erol, S. Aydın, Ç. Çengelli Ünel and Ç. Toprak, The Role Of Nitric Oxide On Anticonvulsant Activity Of Agmatine Valproic Acid Gabapentin And Phenitoin In Mice, Poster, 30th. Seoul World Congress Of The International College Of Neuropsychopharmacology (Cinp), 03-07 July 2016.
  9. E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar and Ç. Çengelli Ünel, Effects Of Agmatine On Cisplatin Induced Neuropathy And Neurotoxicity, Poster, 7th. European Congress Of Pharmacology, 26-30 June 2016.
  10. E. Yıldırım, B. Kaygısız, K. Erol, B. Dönertas, S. Aydın, E. Ulupınar & Ç. Çengelli Ünel, Effects Of Anandamide On Cisplatin Induced Neuropathy And Neurotoxicity, Poster, 7th. European Congress Of Pharmacology, 26-30 June 2016.

11. Ç. Çengelli Ünel, Resveratrolün Diazepam Ve Gabapentinin Antikonvülsan Etkisine Katkısının Araştırılması, Poster, 13. Ulusal Sınır Bilim Kongresi (Usk2015), 30 April 2015.
12. Ç. Çengelli Ünel, Karnozinin Tek Akciğer Ventilasyonu Sonrası Olusan Akciğer Hasarı Üzerine Koruyucu Rolü, Poster, 8. Ulusal Göğüs Cerrahisi Kongresi, 23 April 2015.
13. Ç. Çengelli Ünel, The Effects Of Cannabinoids On Cisplatin Induced Neurotoxicity In Vitro, Poster, 17th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology (Wcp2014), 13 July 2014.
14. Ç. Çengelli Ünel, The Protective Role Of Melatonin On Lung Injury Due To One Lung Ventilation, Poster, 17th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology (Wcp2014) , 13 July 2014.
15. Ç. Çengelli Ünel, The Protective Role Of Pentoxifylline On Lung Injury Due To One Lung Ventilation, Poster, 17th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology (Wcp2014), 13 July 2014.
16. Ç. Çengelli Ünel, The Role Of Voltage-Gated Ca<sup>2+</sup> And Katp Channels In The Neurotoxicity Of Cisplatin And Ifosfamide, Poster, 17th World Congress Of Basic And Clinical Pharmacology (Wcp2014), 13 July 2014.
17. Ç. Çengelli Ünel, Kadına Yönelik Sıddet Ve Aile Planlaması Konusunda Eskişehir'de Kadınların Durumu, Sözlü, 1. Kadın Araştırmaları Sempozyumu, 02 May 2014.
18. Ç. Çengelli Ünel, Serebellar Granül Hücreleri Üzerine Sisplatin Nörotoksitesinde Voltaj-Bağımlı Ca<sup>2+</sup> ve Katp Kanallarının Rolü, Poster, 1st. Cell Death Research Congress With International Participation, 30 October 2013.
19. Ç. Çengelli Ünel, Women's Role In Achieving A Sustainable Future, Poster, 31. Uluslararası Üniversiteli Kadınlar Federasyonu İfuw, 16 August 2013.
20. Ç. Çengelli Ünel, Effects Of Resveratrol On 4-Vinylcyclohexene Diepoxide Induced Testicular Germcell Toxicity In Mice, Poster, 6th. European Congress Of Pharmacology Ephar, 17 July 2012.
21. Ç. Çengelli Ünel, Estrogenic Effects Of Quercetin In Rats, Poster, 6th. European Congress Of Pharmacology Ephar 17 July 2012.

22.Ç. Çengelli Ünel, Evaluation Of Cisplatin Neurotoxicity In Cultured Rat Dorsal Root Ganglia Via Cytosolic Calcium Accumulation, Poster, 6th. European Congress Of Pharmacology Ephar, 17 July 2012.

## **Bilimsel Etkinlikler**

### **Projeler :**

1. Pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel kindling epilepsi modelinde hidrojen sülfürün (H<sub>2</sub>S) etkilerinin araştırılması (Yardımcı Araştırmacı, Proje No: 2019-2495) (26.03.2019-devam)
2. Sisplatinle oluşturulan in vivo ve in vitro nörotoksisitede klorojenik asitin rolü (Yardımcı Araştırmacı, Proje No: 2017-11004) (Bitiş tarihi: 08.07.2019)
3. Sisplatinle sıçanda oluşturulan nöropatik ağrı üzerine anandamid ve agmatinin etkileri (Yardımcı Araştırmacı, Proje No: 201611D06) (Bitiş tarihi: 07.06.2017)
4. Sisplatinin İn Vitro Nörotoksisitesine Kannabinoidlerin etkisi (Yardımcı Araştırmacı, Proje No: 2014-271) (Bitiş tarihi: 22.01.2015)
5. Sisplatin Nörotoksisitesinde Sitolik Kalsiyum Birikiminin Sıçan Dorsal Kök Gangliyonlarında in vitro Değerlendirilmesi (2011/11003) (Yardımcı Araştırmacı, Bitiş tarihi: 31.07.2012)

Sözlü Konferans veya Seminerler :

### **Kurslar ve Eğitim Programları :**

1. 1st International Brain Research School, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta 24 – Sep 4, 2015
2. Türk Farmakoloji Derneği Prof. Dr. Oğuz Güç Yaz Okulu (VII) Ankara 22-27 Haziran 2015
3. III. Nöron Kültürü Kursu, Medipol Üniversitesi, İstanbul, 2-5 Haziran 2015
4. Klinik Toksikoloji Kursu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 6-8 Nisan 2015
5. II. Hücre Ölümü Araştırma Teknikleri Teorik Kursu, Eskişehir 2012

6. I. International Certificate Program on Predictive, Personalized, Medicine/Healthcare In Daily Modern Medicine and Pharmacy (P4), Anadolu Üniversitesi Eskişehir 2012
7. I. Uludağ Şok Toplantısı kapsamında yer alan “Deneysel Şok Modelleri Kursu” Uludağ Üniversitesi, Bursa 2011
8. 10. Ulusal Sinirbilim Kongresi kapsamında “Nöroglia” kursu, Yeditepe Üniversitesi İstanbul, 2011
9. Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM) “Deney Hayvanları Kullanımı ile İlgili Eğitim Programı” Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir 2010

