

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI (TIP)
DOKTORA PROGRAMI

**SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ *İN VİTRO* PERİFERİK
NÖROPATİ MODELİNDE KUERSETİN VE DÜŞÜK
SEVİYELİ LAZER TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**SİMGE ÜNAY
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-21002 proje numarası ile ve TÜBİTAK-SBAG tarafından 220S547 proje numarasıyla desteklenmiştir. Simge ÜNAY 100/2000 YÖK doktora bursiyeridir.

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı (Tıp) Doktora Programı çerçevesinde Simge ÜNAY tarafından hazırlanan “Sisplatin ile İndüklenmiş *in vitro* Periferik Nöropati Modelinde Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Tedavisinin Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24.03.2022

Üye	: Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN	Aydın Adnan Menderes
(T.D.)		Üniversitesi
Üye	: Prof.Dr. Murat PEHLİVAN	Ege Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Gökhan CESUR	Aydın Adnan Menderes
		Üniversitesi
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT	Aydın Adnan Menderes
		Üniversitesi
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Serçin ÖZLEM ÇALIŞKAN	Uşak Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana her konuda destek veren, tezimin hazırlanmasında bana bastan sona ilgi ve anlayışını hiç azaltmayan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN hocama içtenlikle teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Yardımlarından dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mehmet BİLGİN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Özlem BOZKURT GİRİT'e, Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Biyofizik Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Devrim ÖZ ARSLAN'e teşekkür ederim.

Deneyleirimde bana yardım eden Biyofizik Anabilim Dalı araştırma görevlilerine, Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalından Arş. Gör. Esra GÖKMEN YILMAZ'a, Tıbbi Biyokimya anabilim dalından Arş. Gör. Burçin İrem ABAS'a teşekkür ederim.

Ayrıca, bu çalışmanın gerçekleşmesinde önemli rol oynayan ve gerekli maddi imkânları sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğüne ve TÜBİTAK'a da teşekkür ediyorum.

Her gün hayata bakış açımı, hayat felsefemi geliştirmem de yardımcı, her konuda yanımda olan, sonsuz sevgi, emek ve sabır için sevgili babama ve anneme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sinir Sistemi	2
2.1.1. Periferik Sinir Sistemi	3
2.2. Periferik Nöropati.....	4
2.2.1. Periferik Nöropati <i>in vitro</i> Modelleri.....	4
2.3. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati	7
2.4. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati'ye Neden Olan Farmakolojik Ajanlar	9
2.4.1. Vinka Alkaloidler	10
2.4.2. Taksanlar.....	11
2.4.3. Proteazom İnhibitörleri.....	12
2.4.4. İmmunomodülatörler	13
2.4.5. Platin Bazlı Antineoplastikler.....	13
2.4.5.1. Sisplatin	14

2.5. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Ajanlar.....	17
2.5.1. Sinir Koruyucu Tedavi.....	17
2.5.2. İyon Kanalları Hedefli Tedavi	18
2.5.3. Nörotransmitter Esaslı Tedavi	19
2.5.4. Anti inflamatuar Tedavi	20
2.5.5. Antioksidanlar.....	21
2.5.5.1. Kuersetin.....	22
2.6. Düşük Seviyeli Lazer Tedavi.....	24
2.6.1. Düşük Seviyeli Lazer Tedavi 'nin Etki Mekanizması	25
2.6.2. Farklı Dalga Boylarındaki DSLT'nin Hücre Üzerine Etkisi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Gereç.....	29
3.1.1. Kimyasalların Hazırlanması	31
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Hücre Çoğaltılması ve Farklılaştırılması.....	31
3.2.2. Matrijel ile Plate Yüzeyi Kaplama	32
3.2.3. Kemoterapi ile İndüklenmiş Periferik Nöropati Modelinin Oluşturulması.....	32
3.2.4. Düşük Seviyeli Lazerin Sitotoksitesitesi	32
3.2.5. Kuersetin'in Sitotoksitesite Deneyi.....	33
3.2.6. Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Kombine Uygulaması.....	34
3.2.7. Hücre Canlılığı Testi.....	35
3.2.8. Apoptoz Testi.....	35
3.2.9. Canlılık Analizleri	35
3.2.10. Mitokondri Membran Potansiyeli.....	36
3.2.11. Laktat Dehidrogenaz Aktivite Analizi	36

3.2.12. Real Time PCR (RT-PCR) Analizi	37
3.2.13. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. Hücre Çoğaltılması ve Farklılaştırılması	39
4.2. Matrijel Oranı	41
4.3. Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Dozunun Belirlenmesi	41
4.4. Sisplatin ile İndüklenmiş Periferik Nöropati Modelinde Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Kombine Tedavinin Hücre Canlılığı Analizi.....	43
4.5. Apoptoz Analizi	45
4.6. Mitokondriyal Membran Potansiyeli Analizi	48
4.7. Flüoresans Görüntüleri	51
4.8. Laktat Dehidrogenaz Aktivitesi Analizi	53
4.9. RT-PCR	55
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	66
KAYNAKLAR	68
BİLİMSEL ETİK BEYANI	96
ÖZ GEÇMİŞ.....	97

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATF-3:	:	Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü-3
ATP:	:	Adenozin Trifosfat
BBB:	:	Kan Beyin Bariyeri
DHS:	:	Donor At Serum
DRG:	:	Dorsal Kök Gangliyon
DSLТ:	:	Düşük Seviyeli Lazer Tedavi
FBS:	:	Fetal Sığır Serum
HO/PI:	:	Hoechst/Propidyum iyodür
IENF:	:	İntra Epidermal Sinir Fiber
IL-1 beta:	:	İnterlökin 1 Beta
KİPN:	:	Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati
Kuercetin:	:	Que
LDH:	:	Laktat Dehidrogenaz
MMP:	:	Mitokondri Membran Potansiyeli
MSS:	:	Merkezi Sinir Sistemi
MtDNA:	:	Mitokondriyal DNA
NCS1:	:	Nöronal Kalsiyum Sensörü
NGF:	:	Sinir Büyüme Faktörü
OSS:	:	Otonom Sinir Sistemi
PSS:	:	Periferik Sinir Sistemi
ROS:	:	Reaktif Oksijen Türleri
SCN:	:	Suprakiazmatik Çekirdek
Sisplatin:	:	Cis

- SSS:** : Somatik Sinir Sistemi
- TNF-alfa:** : Tümör Nekroz Faktör Alfa
- TRP:** : Transiyent Reseptör Potansiyel

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Nöron hücresinin yapısı	3
Şekil 2. Sinir büyüme faktörünün hücre üzerindeki etkisi	7
Şekil 3. KİPN tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanların etki mekanizması	10
Şekil 4. Sisplatin'in hücre içindeki etki mekanizması	15
Şekil 5. Sinir koruyucu tedavinin etkileri.....	18
Şekil 6. Kuersetinin kimyasal yapısı	23
Şekil 7. Kuersetinin hücre üzerine etkisi	23
Şekil 8. DSLT mekanizması	26
Şekil 9. DSLT'nin biyofiziksel etkisi	27
Şekil 10. DSLT uygulama şeması.	33
Şekil 11. Farklılaştırılmamış PC12 hücre hattında düşük seviyeli lazer doz ön denemeleri.	42
Şekil 12. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre hattında düşük seviyeli lazer doz ön denemeleri	42
Şekil 13. Farklılaştırılmamış kuersetin doz ön.....	43
Şekil 14. DSLT, kuersetin ve çözücülerin PC12 hücrelerine etkisi.....	44
Şekil 15. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde uygulanan kombine tedavinin (3 µM que ve 0,25 J/cm ² DSLT) hücre canlılığı üzerine etkisi.	44
Şekil 16. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücrelerine uygulanan kombine tedavinin (3 µM que ve 0,25 J/cm ² DSLT) hücre canlılığı üzerine etkisi.	45
Şekil 17. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre hattının Annexin&dead analizi...	46
Şekil 18. Farklılaştırılmamış PC12 hücre grubunun Annexin&dead analizi	47
Şekil 19. Farklılaştırılmamış PC12 hücre grubunun Mitopotential analizi.....	49
Şekil 20. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre grubunun Mitopotential analizi. .	50

Şekil 21. HO/PI boyası ile flüoresans mikroskopunda görüntüleri alınmış deney grupların %canlı ve ölü hücre oranları	52
Şekil 22. NADH standart eğrisi.....	53
Şekil 23. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerin LDH analiz sonuçları.....	54
Şekil 24. Farklılaştırılmış PC12 hücrelerin LDH analiz sonuçları.....	55
Şekil 25. PC12 hücrelerinde GAP-43 ve Synapsin I genlerinin ekspresyonu.....	56
Şekil 26. Farklılaştırılmış PC12 hücre deney gruplarının GAP-43 gen ekspresyonu	56
Şekil 27. Farklılaştırılmış PC12 hücre deney gruplarının Synapsin I gen ekspresyonu	57

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. PC12 hücre tipleri.	6
Resim 2. DSLT'nin uygulanması	34
Resim 3. PC12 hücrelerin ışık mikroskobu görüntüleri (10X)	39
Resim 4. PC12 hücrelerinin flüoresans mikroskobunda HO/PI görüntüleri (10X)	40
Resim 5. Farklılaştırılmamış (A) ve farklılaştırılmış (B) PC12 hücrelerinin ışık mikroskop görüntüleri (10X).	40
Resim 6. Deney gruplarının HO/PI boyası ile flüoresans mikroskop görüntüleri (10X).....	51
Resim 7. NADH kolorimetrik ölçüm plate	54

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Periferik nöropatinin oluşmasına neden olan toksinler.....	4
Tablo 2. KİPN seviyeleri.....	8
Tablo 3. Kemoterapik ilaçların kimyasal yapıları.....	16
Tablo 4. DSLT uygulamasının parametreleri	25
Tablo 5. Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinin deney grupları.	34
Tablo 6. Primer dizileri.	37
Tablo 7. Deney grupların total apoptoz değerleri.	48
Tablo 8. Deney gruplarının total depolarize değerleri.	51
Tablo 9. Deney Gruplarının HO/PI değerleri.....	52
Tablo 10. Deney gruplarının LDH aktivite değerleri.....	54
Tablo 11. Deney grupların GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonları	57

ÖZET

SİSPLATİN İLE İNDÜKLENMİŞ *İN VİTRO* PERİFERİK NÖROPATİ MODELİNDE KUERSETİN VE DÜŞÜK SEVİYELİ LAZER TEDAVİSİNİN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Ünay S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik
Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Aydın, 2022

Amaç: Kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati (KİPN), kemoterapötik ilaçların yan etkisiyle oluşmaktadır. Sisplatin sonucu oluşan nöron kayıplarını minimize etmek için farmakolojik ajanlar ve fotobiyostimülatörler kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bu metotların etki mekanizması ve kullanım etkinlikleri net değildir, araştırılmaktadır. Bu tez çalışmasında, kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisinin sisplatin ile indüklenmiş *in vitro* periferik nöropati modeli üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma için PC12 hücre hattı kullanılmıştır. Sisplatin ile periferik nöropati modeli oluşturulan hem farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine, kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavi uygulanmıştır. Uygulama yapılan hücrelere hücre canlılığı, apoptoz, mitokondriyal membran potansiyeli, LDH, RT-PCR analizleri yapılmıştır.

Bulgular: Analiz sonuçlarına göre sisplatinin hem farklılaştırılmamış hem de farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde apoptoz, mitokondriyal membran potansiyelinde, LDH oranlarında artışa, hücre canlılığında, GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarında azalmaya sebep olduğu bulunmuştur. Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati modeli oluşturulan hem farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine ayrı ayrı uygulanan kuersetin ve DSLT gruplarda ise apoptoz, mitokondriyal membran potansiyelinde, LDH oranlarında azalma, hücre canlılığında, GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. Ancak kombine tedavi (kuersetin ve

DSLTT) uygulanan gruplarda ise sisplatin uygulanan gruplar arasında istatikscl olarak bir fark görülmemiştir.

Sonuç: Sisplatin ile indüklenen periferik nöropatide kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisinin uygun dozları belirlenmiştir. Ancak kombine tedavinin etkinliği görülmemiştir. Gelecek çalışmalarda kombine tedavinin mekanizması araştırılacaktır.

Anahtar Kelimeler: Düşük Seviyeli Lazer Uygulaması, Kemoterapi ile İndüklenmiş Periferik Nöropati, Kuersetin, Sisplatin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF QUERCETIN AND LOW-LEVEL LASER THERAPY IN CISPLATIN-INDUCED *IN VITRO* PERIPHERAL NEUROPATHY MODEL

Unay S. Aydin Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Biophysics Program, Doctorate Thesis, Aydin, 2022.

Objective: Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) is caused by the side effects of chemotherapeutic drugs. Pharmacological agents and photobiostimulators are used in the treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy to minimize neuronal loss resulting from cisplatin. However, the mechanism of action and efficacy of these methods are not clear and are being investigated. We investigated the effects of quercetin and low-level laser therapy in an undifferentiated and NGF-differentiated PC12 cell line which for cisplatin-induced peripheral neuropathy was created.

Materials and methods: PC12 cells line was used. Cisplatin, quercetin, and low-level laser therapy were treated with undifferentiated and differentiated PC12 cells. Cells were performed on cell viability, the induction of apoptosis, the alterations in mitopotential, LDH, and RT-PCR analysis.

Results: Our results indicated that cisplatin caused an increase in apoptosis, mitochondrial membrane potential, LDH activity and, a decrease in cell viability, expressions of GAP-43, and Synapsin I gene in both undifferentiated and differentiated PC12 cells. Apoptosis, mitochondrial membrane potential, and LDH activity decreased when cisplatin with quercetin and cisplatin with low-level laser therapy (LLLT) separately applied in both undifferentiated and differentiated PC12 cells. However, cisplatin and a combination of therapy (quercetin+LLLT) caused an increase in total apoptosis, total depolarization, and LDH activity and, a decrease in cell viability, expressions of GAP-43, and Synapsin I gene.

Conclusion: In this study, that the appropriate doses of quercetin and low-level laser therapy may be used for the treatment of cisplatin-induced peripheral neuropathy through

quercetin and low-level laser therapy affected on cells. The results revealed the efficacy of separate applications of quercetin and low-level laser therapy *in vitro* cisplatin-induced peripheral neuropathy model. However, no treatment efficacy of the combined therapy was observed. The mechanisms of the combined therapy shall be investigated in future studies.

Keywords: Chemotherapy-induced peripheral neuropathy, Cisplatin, Low-Level Laser Therapy, Quercetin

1. GİRİŞ

Kanser tedavisinde sispilin, paklitaksel, dosetaksel, oksipilin gibi kemoterapötik ajanlar kullanılmaktadır. Ancak bu ajanlar kanser tedavisinde başarıları etkide bulunmalarına rağmen bazı yan etkiler ortaya çıkmakta ve bu yan etkiler kişilerin yaşam kaliteleri düşürmektedir. Kemoterapötik ajanlar dorsal kök gangliyonları etkileyerek kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropatiye (KİPN) neden olmaktadır. KİPN semptomları özellikle alt ve üst ekstremitelerde görülmektedir. Nöron hücrelerin membran yapısına hasar vererek yanma, hissizlik, uyuşmalara neden olmaktadır.

Farmakolojik ajanların KİPN'i önleyici veya tedavi edici etkinlikleri araştırılmaktadır. Bu amaçla, nöron koruyucu ve nörotransmitter hedefli farmakolojik ajanların ve antioksidanların kullanımı literatürdeki çalışmalarda önerilmektedir. Ancak bu ajanlar tamamen KİPN'i tedavi edemeyip sadece KİPN'in semptomlarını minimum düzeye indirebilmektedir.

KİPN tedavisi için en çok tercih edilen yöntem fotobiyostimülatörler diğeri bir adıyla düşük seviyeli lazer tedavilerdir. Bu tedavi yönteminde kullanılan 600-800 nm dalga boylarında lazer tedavisi kemoterapötik ajanlar nedeniyle hasar görmüş olan nöronların büyümesini tetiklerken 800-920 nm dalga boylarında uygulanan lazer tedavisi ise KİPN'in neden olduğu ağrı tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak hem farmakolojik hem de fotobiyostimülatörlerin KİPN tedavisindeki çalışma mekanizmaları hala daha net bir şekilde açıklanamamaktadır.

Günümüzde kadar yapılan çalışmalarda kemoterapi ile indüklenen periferik nöropatide kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisi tek başına uygulanarak tedavinin etkinliği incelenmiştir. Hem kuersetinin hem de düşük seviyeli lazerin kombine uygulanmasının farklılaşmış ve farklılaşmamış hücrelerde meydana gelen değişiklikleri, nörit büyüme üzerine olan etkisini, hücrede meydana gelen değişimleri belirten çalışmalar oldukça sınırlıdır. Tüm bunlar birlikte değerlendirildiğinde bu tez çalışmasında sispilin ile indüklenen periferik nöropati modeli oluşturulan farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücreleri üzerinde kuersetinin ve düşük seviyeli lazer uygulamalarının tek başına ve birlikte kullanılarak anti-inflamatuar etkilerini belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

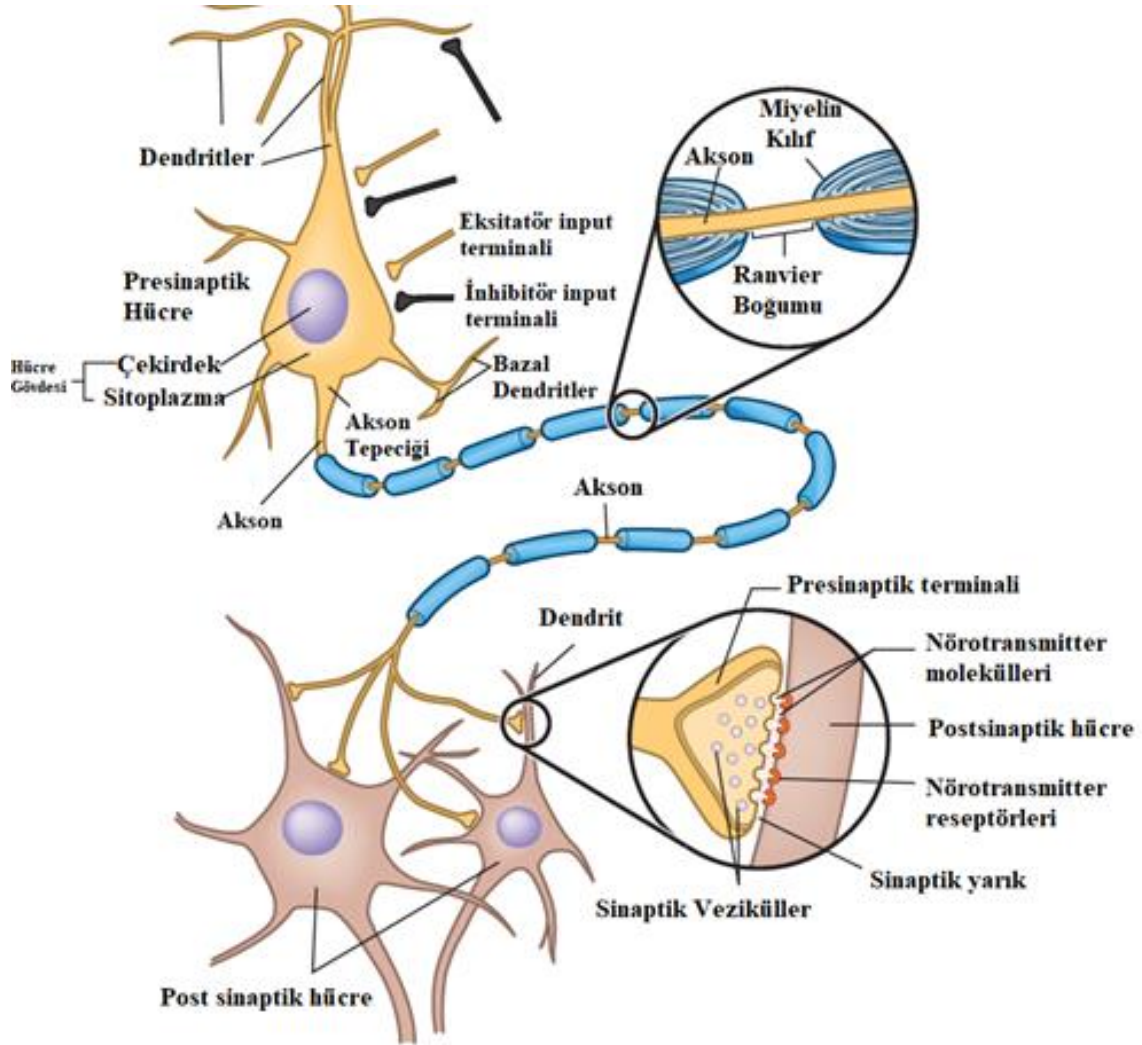
Sinir sistemi, bir canlı organizmanın iç ortam ile dış ortam arasındaki iletişim ve kontrol ağıdır. Bağ dokulardan ve kan damarlarından meydana gelmektedir. Yapısında nöronlar adı verilen sinir hücreleri ve glia (nöroglia) olmak üzere 2 önemli hücre tipi bulunmaktadır. Bir nöronun görevi, kendi elektriksel özelliğini diğer nöronlardan gelen elektrokimyasal sinyallerle entegrasyonuna bağlı olarak sinyallerin üretilmesi olarak tanımlanabilmektedir (Lang ve Rubinson, 2018).

Bir nöron yapısında tüm hücre organellerini içeren hücre gövdesi ve diğer hücrelerden gelen sinyali hücre gövdesine iletmekte görevli olan ipliksi yapıda olan dendritler bulunmaktadır. Aksonun hücre gövdesine bağlanan bölgesi akson tepeciği olarak adlandırılır ve sinir sinyallerinin iletilmesinde, toplanmasında rol oynamaktadır. Birçok akson yapısının etrafında yalıtkan özellik gösteren, sinir sinyallerinin hızlı bir şekilde bir sonraki hücrenin dendrit yapısına iletilmesini sağlayan miyelin kılıf denilen bir tabaka ile sarılmıştır. Aksonların sinaptik uçlar adı verilen özelleşmiş bölgeler bulunmaktadır. Bu bölgelerden salınan nörotransmitter maddeler presinaptik nöronun postsinaptik nörona iletilmektedir (Şekil 1) (Campbell ve Reece, 2006).

Nöroglia veya glia, nöronları hem fiziksel hem de metabolik olarak sürdüren, nöron yapılarını izole eden ve sinir sisteminin iç ortamını korumaya yardımcı olan destekleyici hücreler olarak karakterize edilmiştir. Ayrıca, gliaların sinir sisteminde aktivite akışının şekillenmesinde de önemli rol oynadığı bilinmektedir (Lang ve Rubinson, 2018). Astrositler, oligodendritler ve schwann hücreleri gibi glia çeşitleri bulunmaktadır. Astrositler, kan-beyin bariyerinin oluşumunda rol alırken, oligodendritler merkezi sinir sistemindeki nöronların, schwann hücreleri ise periferik sinir sistemindeki nöronların miyelin kılıflarının yapımında rol almaktadırlar (Campbell ve Reece, 2006).

Sinir sistemi merkezi ve periferik sinir sistemi olarak 2'ye ayrılmaktadır. Merkezi sinir sistemi (MSS), beyin ve omurilik olmak üzere 2 önemli yapıdan meydana gelmektedir. Periferik sinir sistemi (PSS), MSS ile vücudun tüm bölümleri arasında bir ara yüz sağlayan

sinirler ve gangliyon denilen nöron gruplarından oluşmaktadır. MSS ve PSS arasındaki geçiş, omurilikten çıktıkları yere yakın dorsal ve ventral köklerde ve beyinden çıktıkları yere yakın kranial sinir liflerinde meydana gelmektedir (Lang ve Rubinson, 2018).



Şekil 1. Nöron hücresinin yapısı (düzenlenmiş hali) (Lang ve Rubinson, 2018).

2.1.1. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi (PSS) hem merkezi sinir sistemine gelen duyuşsal bilgiyi hem de merkezi sinir sisteminden çıkan motor komutları için ortam sağlamaktadır. PSS'nin yapısında bulunan nöronlar çoğu farklı fonksiyonlarda rol oynamaktadır. Duyu (afferent) ve motor (efferent) bölümü olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır. Duyu bölümü, dış ve duyu reseptörleri tarafından iç ve dış ortamlardaki girdileri alınarak MSS'ye bilgi taşıyan

nöronlardan meydana gelmektedir (Campbell ve Reece, 2006). Her bir duyu nöronu, belirli bir enerji türünü elektriksel sinyale çevirebildikleri için aktardıkları enerji türüne göre sınıflandırılabilirler (Lang ve Rubinson, 2018). Motor bölümü ise MSS'den efferent sinirler tarafından meydana gelmektedir. Somatik sinir sistemi (SSS) ve otonom sinir sistemi (OSS) efferent sinirler tarafından meydana gelmektedir. Somatik sinir sistemi iskelet kas hücreleri ile bağlantı yapabilen sinir liflerini içermektedir (Vander, 2010). Otonom sinir sistemi vücutta istemli veya istemsiz eylemleri koordine etmektedir (Catala ve Kubis, 2013). OSS, uyanıklık, enerji üretiminin tetiklenmesini tetikleyen sempatik sinir sisteminden ve vücutta meydana gelen normal fizyolojik durumların devam etmesini sağlayan parasempatik sinir sisteminden oluşmaktadır.

2.2. Periferik Nöropati

Periferik nöropati, merkezi sinir sistemi (beyin ve spinal kord) ile periferik sinir sistemi arasındaki nöronların zarar görmesi sonucu oluşmaktadır. Sinir hücrelerinin tipine ve sinyal iletimine bağlı olarak meydana gelebilmektedir. Semptomlar hasar görmüş olan motor, duyu veya otonomik sinirlerin türüne göre değişmektedir. Diyabetik nöropati, ilaca bağlı nöropati, beslenmeye ve toksik maddelere bağlı olarak oluşabilmektedir (Barrel ve Smith, 2018) (Tablo 1).

Tablo 1. Periferik nöropatinin oluşmasına neden olan toksinler (London ve Albers, 2007).

Nörotoksin tipi	Toksinler
Kemoterapik ilaçlar	Paklitaksel, Sisplatin, Bortezomib, Oksaliplatin
Antibiyotikler	Klorokin, Dapson, Izoniyezid, Metronidazol, Nitrofurantoin
Anti aritmik ilaçlar	Amiodoron, Perheksilin
Diğer tedaviler	Safran, Altın Bileşikleri, Fenitoin
Ağır metaller	Arsenik, Civa, Kurşun
Organik çözücüler	Heksan, Akrilamid

2.2.1. Periferik Nöropati *in vitro* Modelleri

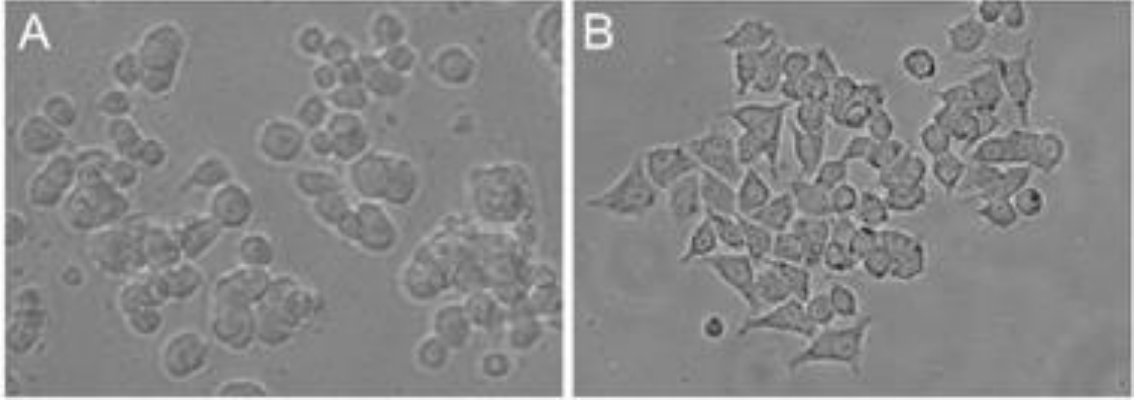
Kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati modelini *in vitro* çalışmalar için genellikle DRG (dorsal kök gangliyon), PC12, (SH)-SY5Y (Schwann benzeri hücre) olmak

üzere 3 farklı hücre hatları tercih edilmektedir. *In vitro* çalışmalar sayesinde çalışmanın tekrar edilebilme olanağı artmaktadır.

(SH)-SY5Y, insan kökenli nöroblastom hücre hattıdır. Retinoik asit, dibütiril siklik AMP ile farklılaştırma yapılarak olgun insan nöron hücrelerine dönüştürülebilir. Asetilkolin reseptörlerinin ekspresyonu sebebiyle dopaminerjik/kolinerjik model olarak daha çok kullanılmaktadır (Kovalevich ve Langford, 2013). Periferik nöropati modelinin yanı sıra Alzheimer, parkinson gibi nörodejeneratif hastalık modellerinde de tercih edilmektedir.

Dorsal kök gangliyon, periferik sinir sisteminin yapısında bulunan duyuşal nöronların hücre gövdeleridir. DRG, periferik dokuları ve merkezi sinir sisteminin spinal dorsal boynuzunu innerve eden iki aksonlu pseudo-unipolar nöron tipidir. Periferik nöropati modelinin yanı sıra aksonal dejenerasyonu modellerinde de tercih edilmektedir (Lin ve diğerleri, 2018). Dorsal kök gangliyonlar genellikle embriyonik veya erken postnatal sıçan yavrularından cerrahi yoluyla elde edilir. Ancak hücre izolasyonu protokolündeki en ufak bir sapma farklı hücre tiplerine veya fonksiyonlara sebep olmaktadır (Ponce ve diğerleri, 2018).

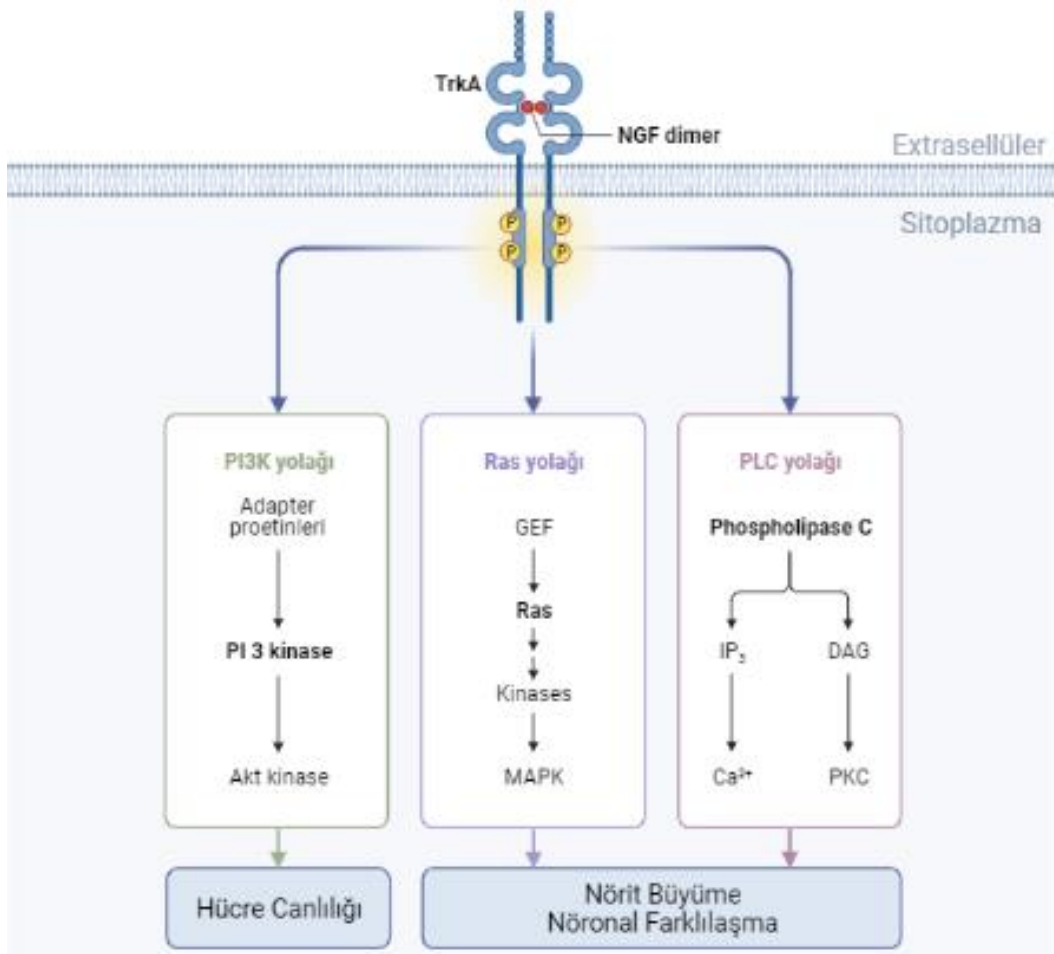
Sıçan feokromasitoma hücre (PC12) 1976 yılında Greene ve Tischler tarafından kullanılmaya başlanılmıştır. PC12, nörotoksik, sinir koruyucu, nöroinflamasyon, sinaps gelişim süreci gibi çalışmaları içeren sinir bilim araştırmalarının yanı sıra kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati, Alzheimer, Parkinson, Amyotrofik Lateral Skleroz, kanser gibi hastalıkların modellerinde de kullanılmaktadır (Wiatrak ve diğerleri, 2020). Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (ATCC)'ye göre PC12 ve PC12 Adh olmak üzere 2 farklı tipi bulunmaktadır. PC12 hücreleri, küçük, düzensiz şekilli, yüzen hücre kümeleri olarak veya birkaç dağınık hafifçe bağlı hücreler olarak büyümektedir. Ayrıca uygun materyallerle kaplanmamış yüzeylerde topaklanma görülebilmektedir. Aynı zamanda kötü yapışmaya meyillidirler. Öte yandan, PC12 Adh tipli hücreler plastik yüzeylere iyi bir şekilde yapışma özelliği göstermektedirler (Resim 1) (Wiatrak ve diğerleri, 2020).



Resim 1. PC12 hücre tipleri. A) geleneksel PC12 B) PC12 adh (düzenlenmiş hali) (ATCC).

PC12 hücrelere sinir büyüme faktörü (NGF) uygulandığında dopamin sentezlenmesini tetiklemektedir. Tetiklenen hücreler nöron fenotipine dönüşmektedir. Nöron formatına dönüşen hücrelerde büyüme faaliyeti durmakta ve elektriksel olarak uyarılabilir hale gelmektedir. Nöronal farklılaşma süreci NGF'in reseptör tirozin kinaz olan TrkA'ya bağlanmasıyla başlamaktadır. TrkA, NGF ile uyarılarak PLC γ , Ras/MAPK ve PI3K/Akt olan 3 farklı hücre içi sinyal iletim yolağını aktif hale getirmektedir (Huang ve Reichardt, 2003). PLC γ , Ras/MAPK ve PI3K/Akt yolları; nörona özgü proteinlerin belirlenmesi, çeşitli transkripsiyonların aktifleşmesi ve GAP-43 genini tetikleyerek dendrit uzantılarının meydana gelmesini sağlamaktadır (Negrini ve diğerleri, 2013) (Şekil 2).

Fazla sayılarda pasajlama sonucu hücreler toksik bileşenlere karşı duyarlılık geliştirmektedir. NGF ile farklılaşmış PC12 hücreleri, sinaptik iletişimin bir belirteci olan Synapsin I proteinini ifade eder. Ayrıca, Synapsin I protein ekspresyonunun seviyesinin hücre farklılaşma seviyesine bağlı olduğu kanıtlanmıştır (Das ve diğerleri, 2004). Synapsin I, sinapslarda nörotransmitterlerin salınmasında rol oynamasının yanı sıra sinaptogenez ve nöronal plastisitede önemli bir etken olduğu gösterilmiştir (Mirza ve diğerleri, 2017).



Şekil 2. Sinir büyüme faktörünün hücre üzerindeki etkisi (düzenlenmiş hali) (Linares ve Paola, (2007)).

2.3. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati

Kemoterapi kanser hastaları için en yaygın tedavilerden biridir. Ancak kemoterapi sırasında kullanılan kemoteraptik ajanlar nöron hücreleri için oldukça toksik etkiye sahiptir (Streckmann ve diğerleri, 2018). Çünkü duyuşal nöronlar, kan-beyin bariyeri tarafından korunmadıkları için nörotoksisiteye duyarlıdır (Seretny ve diğerleri, 2014). Bu özelliği sebebiyle kemoterapötik ajanların yan etkisi sonucu kişilerde kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati (KİPN) görülmektedir (Dariusz Izyck ve diğerleri, 2016). Genellikle motor ve otonomik değişiklikler görülmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. KİPN seviyeleri (Dariusz Izyck ve diğerleri, 2016).

Seviye	0	1	2	3	4	5
Motor nöropati	Normal	Asemptomatik, Muayene sırasında tanı	İlman semptomlar, Günlük aktiviteleri etkilemez	Hareket kısıtlılığı, destek alarak yürüyebilme	Felç	Ölüm
Duyusal Nöropati	Normal	Asemptomatik, Tendon reflekslerinde kayıplar	İlman semptomlar, Günlük aktiviteleri etkilemez	Parestezi	Yatağa bağımlı	Ölüm

Klinik açıdan KİPN hastalarında alt ve üst ekstremitelerinin distallerinde “eldiven veya çorap giyilmiş gibi” his yakınmalarından şikâyetçi olmaktadır. Diğer semptomlar arasında uyuşma, karıncalanma, dokunma duyusunda hissizlik, periferik ekstremitelerinde parestezi ve disestezi, hareket kısıtlılığı, ağrı ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde duysal kayıp görülebilmektedir (Bernhardson ve diğerleri, 2007; Zajackowska ve diğerleri, 2019). Ek olarak, postüral kontrolde bozulma (Cammisuli ve diğerleri, 2016), düşme olasılığında artış ve düşük yaşam kalitesine yol açan motor fonksiyon bozuklukları görülmektedir. (Dhawan ve diğerleri, 2020; Gadgil ve diğerleri, 2019; Winters-Stone ve diğerleri, 2017). KİPN semptomları, onkolojide yeterince dikkate alınmamaktadır (Dhawan ve diğerleri, 2020). Ayrıca hastaların yaklaşık %89’unda en az bir akut nöropati semptomları görülmektedir (İbrahim ve Ehrlich, 2019; Pachman ve diğerleri, 2015). KİPN semptomları daha çok kemoterapi sırasında kullanılan kemoterapötik ajanların dozlarına bağlıdır. Bu sebeple semptomlar görülmeye başlandığında doz azaltımı veya tedavinin sonlandırılması olabilmektedir. Ancak kanser hastalarının sağkalımını olumsuz etkileyebilmektedir (İbrahim ve Ehrlich, 2019; Dorsey ve diğerleri, 2019).

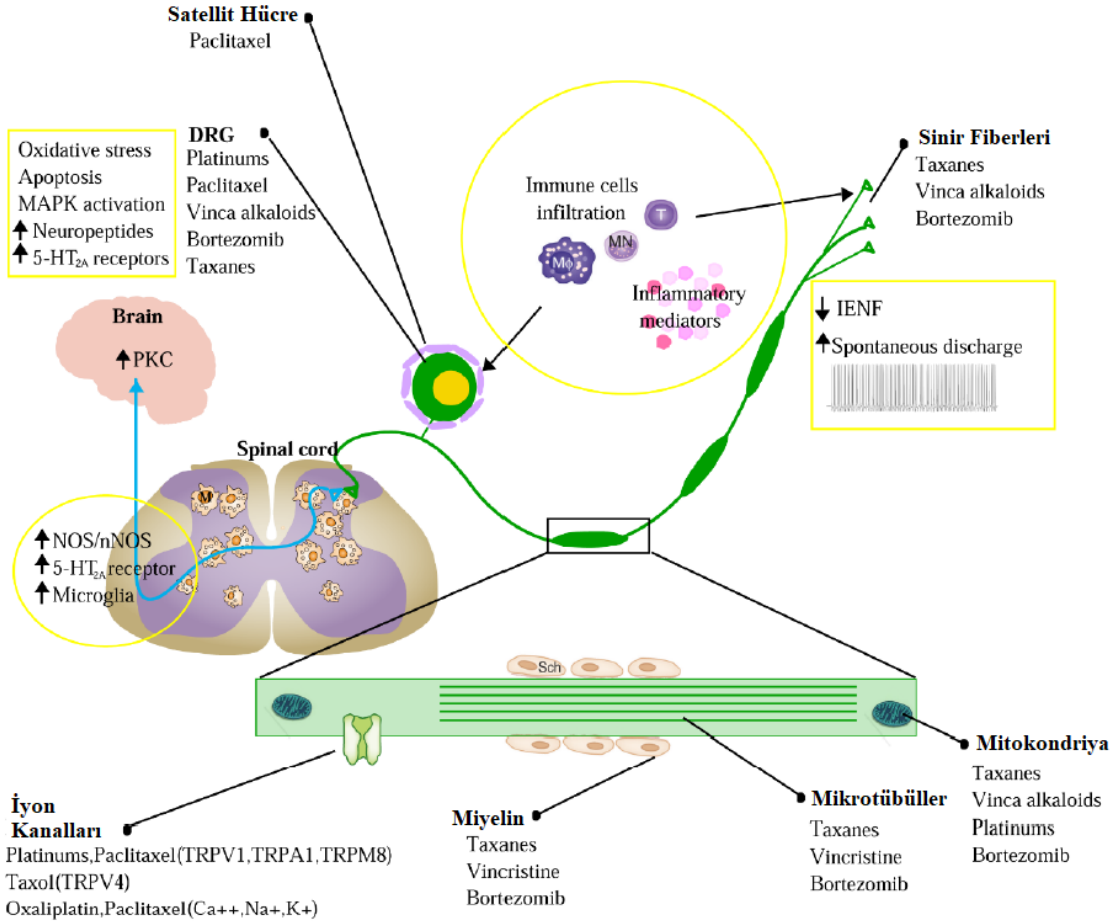
KİPN semptomlarının bilinen etiyolojileri, dorsal kök gangliyonlarındaki nöronal hücre gövdelerinde hasar, aksonal toksisite, aksonal membran iyonu (Na⁺) kanal disfonksiyonu, mitokondriyal hasar (Dhawan ve diğerleri, 2020) ve merkezi duyarlılaşmadır (Staff ve diğerleri, 2017). KİPN’nin patofizyoloji mekanizması tamamen anlaşılmasına rağmen kemoterapötik ajanların sitotoksik aktivitesinin schwann hücrelerini ve aksonları etkilediği gösterilmiştir (Dariusz Izyck ve diğerleri, 2016). Kullanılan birçok kemoterapötik ajanlar kan-beyin bariyerini geçememesine rağmen kan-sinir bariyerlerinden geçerek dorsal kök gangliyonlarına (DRG) etki etmektedir. Bu nedenle, DRG etrafında bulunan ve besin sağlamada rol alan kılcal damarlara ulaşarak nörotoksiklerin perifere dağılmasına neden olmaktadır. PSS’de yer alan uzun sinir aksonları hücre fonksiyonunu etkileyen dış

uyaranlara karşı duyarlı durumunda olması nedeniyle toksik ilaçlara karşı daha savunmasız durumdadır (Wang ve diğerleri, 2012). Nörotoksikler, DRG hücrelerinde sinir lifleri boyunca yayılmaktadır. Akson yapısında, miyelin kılıfta, hücre gövdesinde hasar meydana gelmektedir. Hasarların etki mekanizması kullanılan ajanların türüne bağlıdır (Hausheer ve diğerleri, 2006).

KİPN'in tanısı, hastaların nörotoksik şikâyetlerine göre toplam nöropati skoruna (TNS) ve Questionnaire-CIPN-yirmi maddelik skalasına (QLQ-CIPN 20) göre yapılmaktadır. QLQ-CIPN20, semptomları görülen kişinin duyuşal ve motor semptomlarını ve fonksiyonlarını değerlendiren 20 maddelik bir ankettir (Hausheer ve diğerleri, 2006; Postma ve diğerleri, 2005). Anketlerin yanı sıra sinir iletim çalışmaları (NCS), Elektromiyografi (EMG) ile KİPN'in klinik değerlendirmesi için tercih edilebilmektedir (Hausheer ve diğerleri, 2006). Her zaman tercih edilmemesine rağmen küçük sinir lifi disfonksiyonundan kaynaklanan KİPN'lerde deri biyopsileri de yapılabilmektedir (Lauria ve diğerleri, 2007).

2.4. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati'ye Neden Olan Farmakolojik Ajanlar

Kemoterapi ilaçları nöron yapısına zarar verdiği için pato-mekanizma faktörlerindedir. Nöronlardaki mikrotübül yapılarında bozulma, oksidatif stres, mitokondriyal, miyelin kılıf ve DNA hasarına neden olmaktadır. Aynı zamanda immünolojik süreçler ve nöroinflamasyona neden olmaktadır (Areti ve diğerleri, 2014). KİPN'ye neden olan ilaçlar platin bazlı antineoplastikler, vinka alkaloidler, taksanlar, proteozam inhibitörleri ve immunomodülatör ilaçlar olmak üzere 5 ana grupta toplanabilmektedir (Starobova ve diğerleri, 2017). Her bir kemoterapi ilacının farklı bir etki mekanizması bulunmaktadır (Şekil 3).



Şekil 3. KIPN tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanların etki mekanizması (düzenlenmiş hali) (Hu ve diğerleri, 2018).

2.4.1. Vinka Alkaloidler

Vinka alkaloidler arasında vinblastin, vinorelbin ve vinkristin gibi ilaçlar bulunmaktadır (Tablo 3). Bu ilaçlar çoğunlukla lenfoma, küçük boyutlu akciğer ve testiküler kanser olarak da bilinen testis kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır. Vinblastin ve vinorelbin daha az nörotoksik özellikte iken vinkristin ise en şiddetli periferik nöropatiye neden olmaktadır (Moudi ve diğerleri, 2013). Vinka alkaloid sitotoksikite için temel etki mekanizması, tübülüne bağlanarak mikrotübüler düzeneğini ve polimerizasyonu bozmaktır. Hücrenin bölünmesini durdurmak için hücre döngüsündeki M fazına etki eden ajanlardır (Miltenburg ve Boogerd, 2014).

Vinka alkaloidler, tübülün üzerindeki etkileri nedeniyle nöronal hücre iskeletine de etki etmektedirler. İskelet üzerine olan etkileri sonucunda sağlam aksonal mikrotübül

kaybına, uzunluklarına ve düzenlerinde değişikliklere yol açmaktadır. Bu değişiklikler aynı zamanda aksonal dejenerasyonuna ve nöronal transportun bozulmasına da neden olmaktadır. Vinkristin nöronal kalsiyum sensörü (NCS1)'ne bağlanır. Bu olay kalpainsi aktive ederek intraselüler proteinlerin azalmasına ve nöronal disfonksiyonuna sebep olmaktadır (Benbow ve diğerleri, 2012). Vinkristin, aynı zamanda NCS1'e bağlanmasıyla kalsiyum homeostazi de mitokondrial fonksiyonunun bozulması da görülmektedir. Bu sebeple; reaktif oksijen türlerinde artma ve nöronal uyarılma bozulma olmaktadır (Canta ve diğerleri, 2015). Vinkristin, erken dönemde motor fiberlerinden çok sensör fiberlerine etki etmektedir. Sonuç olarak, vinka alkaloidleri kraniyal sinirleri ve çoğunlukla okülomotor sinirleri hedef almaktadır (Nazir ve diğerleri, 2017).

Vinkristine bağlı nöropati semptomları merkezi sinir sisteminin yanı sıra hem periferik sensör sinirler hem de motor sinirleri ve otonomik sinir sistemini içermektedir. Hastalar çoğunlukla, uyuşmadan, karıncalanmadan, üst ve alt uzuvlarda ağrıdan şikâyet etmektedirler. Otonomik nöropati de tipik olarak kabızlık, idrar tutamama ve ortostatik hipotansiyon görülmektedir (Starobova ve Vetter, 2017).

2.4.2. Taksanlar

Taksanlar genel olarak, meme, ovaryum, prostat, mide, baş ve boyun kanserleri gibi küçük çaplı olmayan kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (Rowinsky ve Donehower, 1995). Paklitaksel, dozetaksel içeren bu ilaçlar mikrotübül-stabilize eden ajanlardır (Tablo 3). Dozetaksel paklitakselden daha fazla etkili ve suda çözünebilmektedir.

Taksana bağlı kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropatide mekanizması net olarak belli değildir. Mikrotübül tutulumu, aksonal taşıma için yolun değiştirilmesine bağlı olarak nöropatiye yol açabilir (Gornstein ve Schwarz, 2017). Aksonal disfonksiyonunun gelişmesinde mitokondriyal hasarı rol oynamaktadır. Tedavi edilmeyen sinir lifleri ile karşılaştırıldığında mitokondri genellikle şişmiş ve genişlemiş boyutta görülmektedir (Matsumura ve diğerleri, 2014). Hücre içi kalsiyum hem mikrotübül düzeneği hem de mitokondriyal fonksiyon için önemli bir modülatör olarak rol oynamaktadır. Genel olarak, kalsiyum homeostazi eksikliğinin, KİPN gibi nöropatik ağrının indüksiyonunda önemli bir bileşen olduğu kabul edilmektedir (Boeckel ve Ehrlich, 2018). Vinka alkaloidler gibi taksanlar da nöronal kalsiyum sensör 1'e (NCS1) bağlanmaktadır. Taksanların NCS1 ile

etkileşimi, hücre içi kalsiyum sinyal yollarının mekanizmasını değiştirerek, kalsiyuma bağımlı bir enzim olan kalpain'ın aktivasyonu ve mitokondriyal disfonksiyonu ile sonuçlanır (Boehmerle ve diğerleri, 2007). Aktive edilmiş kalpain daha sonra NCS1 de dahil olmak üzere birçok proteinin bozulmasını katalize ederek nöronal disfonksiyona yol açmaktadır (Benbow ve diğerleri, 2011).

Paklitaksel ile bağılı periferik nöropatide uyuşma, karıncalanma ve çorap-eldiven hissi gibi simetrik distal değişimler görülmektedir. Ayrıca alt ekstremitelerde de genellikle derin tendon reflekslerinde azalmaya neden olmaktadır (Balayssac ve diğerleri, 2011). Taksana bağılı periferik nöropati alınan ilacın dozuna (Carrozzi ve diğerleri, 2015), hastanın yaşına (Ferguson ve diğerleri, 2007), aynı zamanda alınan nöropsikiyatrik ilaçlarla olan etkileşime (Park ve diğerleri, 2008) bağılıdır.

2.4.3. Proteazom İnhibitörleri

Proteazom inhibitörü düzenleyici olarak bortezomib, carfilzomib ve ixazomib onay almış olup klinik ortamda kullanılmaktadır (Tablo 3). Klinik ortamda kullanılan ilk proteazom inhibitörü bortezomibtir. Carfilzomib, multi miyelomun tedavisi için onaylanmış yeni bir proteazom inhibitörüdür. Anti-tümör etkilerini proteazom aktivitesini inhibe ederek gösterirler. Bu sebeple tümör hücrelerinde yanlış katlanmış protein birikimine, hücre döngüsünün durmasına ve apoptoz gibi olaylara neden olmaktadır (Broly ve diğerleri, 2010).

Hem mitokondride hem de endoplazmik retikulumda (ER) meydana gelen oksidatif hasar periferikdeki nöronal toksisitenin oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Çünkü bortezomib mitokondriyal intrinsik apoptoz yolağını aktive etmektedir (Pei ve diğerleri, 2004). Aynı zamanda mitokondride adenosin trifosfat (ATP)'a bağılı serin proteazeyi inhibe ederek multi miyelomada nöropatinin gelişmesine neden olmaktadır (Arastu-Kapur ve diğerleri, 2011).

Bortezomib verilen hastalarda oluşan periferik nöropati doza bağılıdır ve dozda azaltılma yapıldığında semptomlar azalmaktadır. Bortezomib'in uygulama yöntemindeki (intravenöz veya subkutan) ve uygulanan doz aralığındaki (haftalık ya da 2 haftada 1 uygulamalar) değişiklikler anti tümör etkinliğini korurken nöropati insidansında azalmaya sebep olmaktadır (Manasanch ve Orłowski, 2017).

2.4.4. İmmunomodülatörler

İmmunomodülatör grubunda Talidomid, pomalidomid ve lenalidomid ilaçları bulunmaktadır (Tablo 3). Son 20 yılda Talidomid multi miyelom tedavisi için en etkili ajandır ve hastaların sağ kalım oranlarında önemli artışlara neden olmaktadır. Lenalidomid ve pomalidomid 2. jenerasyon immunomodülatörlerdir. Kronik miyeloid lösemi ve farklı seviyelerdeki tiroit kanseri tedavilerinde kullanılmaktadırlar (İbrahim ve Busaidy, 2017). Bu ajanların etki mekanizması hem immün sistemi hem de hücresele düzeydedir. Kemik iliğinde sitokin üretimini modüle ederek hücrenin büyümesine, hayatta kalma oranına ve göçün artmasına neden olmaktadır (Kotla ve diğerleri, 2009). Bu grup ilaçlar ayrıca temel fibroblast büyüme faktörünü (b-FGF) ve vasküler endotel büyüme faktörünü (VEGF) inhibe ederek anjiyogenezi bloke etmektedir (Bolomsky ve diğerleri, 2014).

Talidomid bağılı periferik nöropatinin patolojisi hala net bir şekilde anlaşılammıştır. Sinir iletim çalışmaları talidomide bağılı periferik nöropatinin duyusal ve motor sinirlerin dejenerasyonuna bağılı olabileceğini göstermiştir. Talidomid anti-anjiyojenik etkiye sahip olduğundan, sinir lifi hipoksisine ve iskeminin ardından duyusal nöronlarında geri dönüşü olmayan hasarında sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (Jongen ve diğerleri, 2015). Talidomidin dihidroksi metabolitinin aktivasyonunun, reaktif oksijen türlerinin aşırı salınmasına ve dolayısıyla DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu metabolitlerin talidomid tedavisine bağılı periferik nöropatiden sorumlu olup olmadığı henüz belirlenmemiştir (Wani ve diğerleri, 2017).

2.4.5. Platin Bazlı Antineoplastikler

Antineoplastikler, DNA'ya bağlanmaktadır. Alkil özellikleri nedeniyle sarmal içi çapraz bağlar oluşturarak kemoterapötik etkiler göstermektedirler. Bu sayede hücreyi apoptoza uğratmaktadır (Scagliotti ve Vokes, 2018). Bu ilaç grubu kan-beyin bariyerini geçememektedir ancak dorsal kök gangliyonlarda (DRG) nörotoksite meydana getirmektedirler (Jamieson ve diğerleri, 2003). Bu yapılar DRG'de nöronal membran uyarılabilirliğinin bozulmasına, aksonal transport disfonksiyonuna, nörotransmisyonun parçalanmasına, proinflatuar kemokinezlerin salınımının arttırarak inflamatuvarın artmasına ve voltaj kapılı iyon kapılarında değişikliğe neden olmaktadır (Staff ve diğerleri,

2017; Fukuda ve diğeri, 2017). Antineoplastikler aynı zamanda spinal kord, deri ve nöron hücrelerine de etki etmektedir (Fumagalli ve diğeri, 2021). Sinir hücrelerinde, proinflatuar sitokinezlerin salınımında, transkripsiyonel faktörlerinden aktive edici transkripsiyon faktörü-3'de (ATF-3) artışa ve makrofajlarda infiltrasyona neden olmaktadır. Spinal kord da astrosit ve mikrogliya aktivasyonunda ve proinflatuar kemokinezlerin salınımında artışa, anti inflammatuar sitokinezlerde azalma, membran reseptörlerinde (TRPV1 ve TLR) artışa, T hücrelerinde de infiltrasyonu görülmektedir. Deride mast hücrelerinde ve PGE2 de artış neden olmaktadır. Meydana gelen bu değişiklikler nedeniyle kalıcı distal sensör kayıpları görülmektedir. Antineoplastikler kolorektal, özefagus, mide, karaciğer, ovaryum ve pankreas gibi solid kanser türlerinin tedavilerinde kullanılmaktadır (Kanat ve diğeri, 2017). Antineoplastikler ilaçlar arasında sisplatin, karboplatin ve oksiplatin gibi ilaçlar bulunmaktadır (Tablo 3).

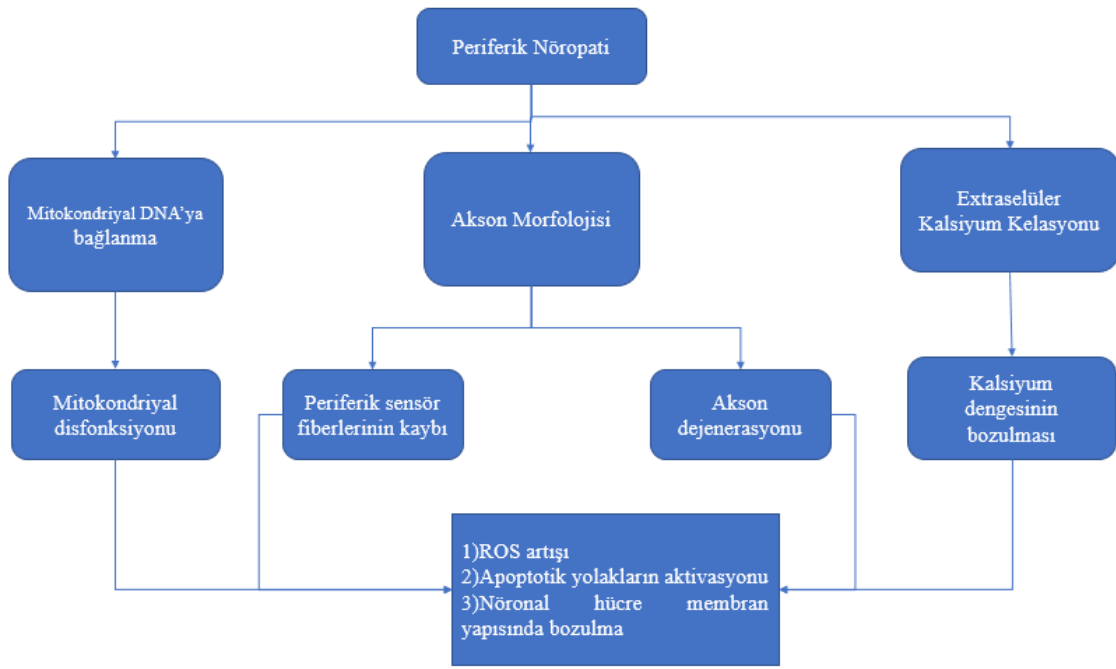
2.4.5.1. Sisplatin

Sisplatin, 1844 yılında sentezlenmiştir (Conte ve diğeri, 2020). Sisplatin veya cis-diamminedikloroplatinum (II), iki değerlikli platin'in nötr, kare düzlemlerle bir koordinasyon kompleksidir (Todd ve Lippard, 2009) (Tablo 3). Anti tümör etkisini gösterebilmesi için cis konfigürasyon gerekmektedir (Zamble ve Lippard, 1995).

Sisplatin suda hidrolize uğramaktadır. Klorür konsantrasyonu, sisplatinin hidrolizinin veya su oluşumunun belirlenmesinde önemli bir faktör oynamaktadır. Kan plazmasının yüksek klorür konsantrasyonu (~103 mM) sisplatinin hidrolizini önlemektedir. Hücreye girdikten sonra, klorür konsantrasyonu 4 mM'ye düşmekte ve bu durum su tutma sürecini kolaylaştırmaktadır (Sedletska ve diğeri, 2005). Sisplatin hücreye hem pasif difüzyon hem de aktif alım ile bakır membran taşıyıcı CTR1 yoluyla girmektedir (Holzer ve diğeri, 2006).

Sisplatin hücreye girdikten sonra doğrudan DNA'ya bağlanır ve DNA'nın üçüncül yapısını değiştirerek ipler arası çapraz bağlar ve iplik içi eklentiler oluşturmaktadır (Cavaletti ve diğeri, 2014). Sisplatinin DNA üzerine bağlanma sayısı arttıkça, hücrede görülen sitotoksik etkilerin de o kadar büyük olduğu gösterilmiştir. Sisplatin, mitokondriyal DNA (mtDNA) ve nükleer (n) DNA'ya bağlanır. MtDNA'da herhangi bir DNA onarım sistemi yoktur; bu nedenle, platin eklentileri mtDNA'dan çıkarılamaz. Bu, protein

sentezinde ve mitokondriyal solunum zinciri reaksiyonlarında karışıklıklara neden olmaktadır (Podratz ve diğerleri, 2011). Mitokondriyal disfonksiyon ve hücrenin enerji metabolizmasındaki bozulma, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine yol açar ve hücrel oksidatif strese neden olmaktadır. Dahası, sisplatin mitokondriyal sitokrom c salınımına ve mitokondriyal intrinsik yol aracılığıyla apoptozu teşvik eden kaspazlara neden olmaktadır (Canta ve diğerleri, 2015) (Şekil 4).

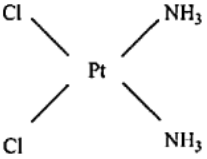
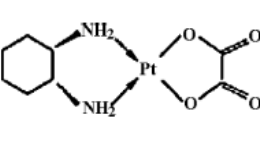
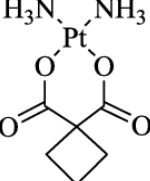
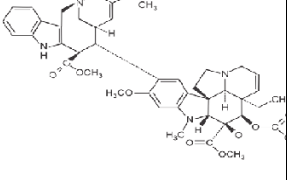
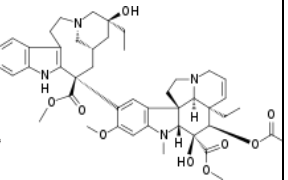
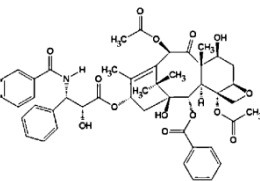
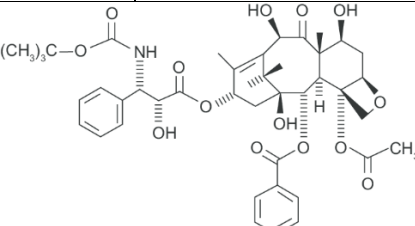
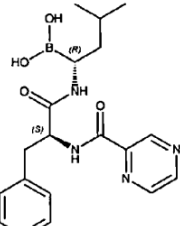
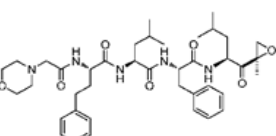
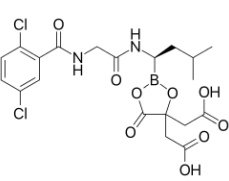
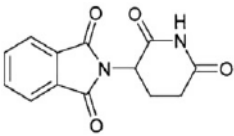
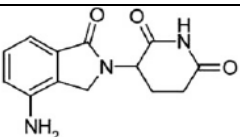


Şekil 4. Sisplatin'in hücre içindeki etki mekanizması (düzenlenmiş hali) (Starobova ve Vetter, 2017).

Sisplatin, en fazla en fazla ototoksisiteye, miyelotoksisiteye, nefrotoksisiteye neden olmaktadır. Bu ilacın neden olduğu nörotoksisite doza bağlıdır. Semptomlar arasında ağrı veya ağrısız periferik nöropati, mekanik ve soğuk allodini ve ataksi bulunmaktadır. Sisplatin kaynaklı kemoterapi tedavisi alan kişilerin %24 ile %92 arasında periferik nöropati semptomları görülmektedir. Ancak %20'si kemoterapiyi bırakmak zorunda kalmaktadır (Bhadri ve diğerleri, 2013). Sisplatin kaynaklı semptomlar aynı zamanda ilacın yapıma yöntemlerine de bağlıdır. İntra arteriyel infüzyonun, intravenöz infüzyonuna göre daha az yan etki göstermektedir (Alberts ve diğerleri, 2019). Sisplatin ayrıca merkezi sinir sistemini etkileyebilir ve doğrudan beyine enjekte edildiğinde büyük ölçüde sitotoksisite görülmektedir (Kanat ve diğerleri, 2017). Alt ve üst ekstremitelerin distal kısımlarında

aksonal dejenerasyona neden olmaktadır. Distal kısımların daha fazla dejenerasyon olması ve nörit büyümesinin inhibisyonu sonucu aksonopatinin başlangıcı görülmektedir (Klein ve diğerleri, 2007). Sisplatin, aksonal büyümeyle ilişkili bir protein olan GAP-43'ü, presinaptik membran proteinleri Synapsin I ve sinaptofizini (ana hücre iskeleti proteini olan 200-kD nörofilament NF-200) azaltarak regüle etmektedir (Ferreira ve diğerleri, 2016). Aksonal taşımada rol oynayan mikrotübüllerin disfonksiyonu sisplatin ile indüklenen aksonal dejenerasyonda rol oynamaktadır (Prior ve diğerleri, 2017).

Tablo 3. Kemoterapik ilaçların kimyasal yapıları.

İlaç grupları	Kimyasal Yapıları		
Platin Bazlı Olan Antineoplastikler			
	Sisplatin	Oksaliplatin	Karboplatin
	Vinka Alkaloidler		
Vinorelbin		Vinblastin	Vinkristin
Taksanlar			
	Paklitaksel	Dosetaksel	
Proteazom inhibitörleri			
	Bortezomib	Carfilzomib	İxazomib
	İmmuno-modülatörler		
Talidomid		Lenalidomid	Pomalidomid

2.5. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati Tedavisinde Kullanılan Farmakolojik Ajanlar

Kemoterapi ilaçları her ne kadar kanserli hastaların yaşam sürelerini olumlu anlamda etki etse de bu ajanların yan etkilerinden dolayı oluşan periferik nöropatinin semptomlarını minimize etmek için farmakolojik ajanlar kullanılmasına rağmen klinik açıdan tatmin edici sonuçlar bulunmamaktadır (Shahid ve diğerleri, 2017). Bu farmakolojik ajanlar sinir koruyucu tedavi, iyon kanalları hedefli tedavi, anti-inflamatuarlar, nörotransmitter esaslı tedavi ve antioksidanlar olmak üzere 5 farklı grupta toplanabilmektedir.

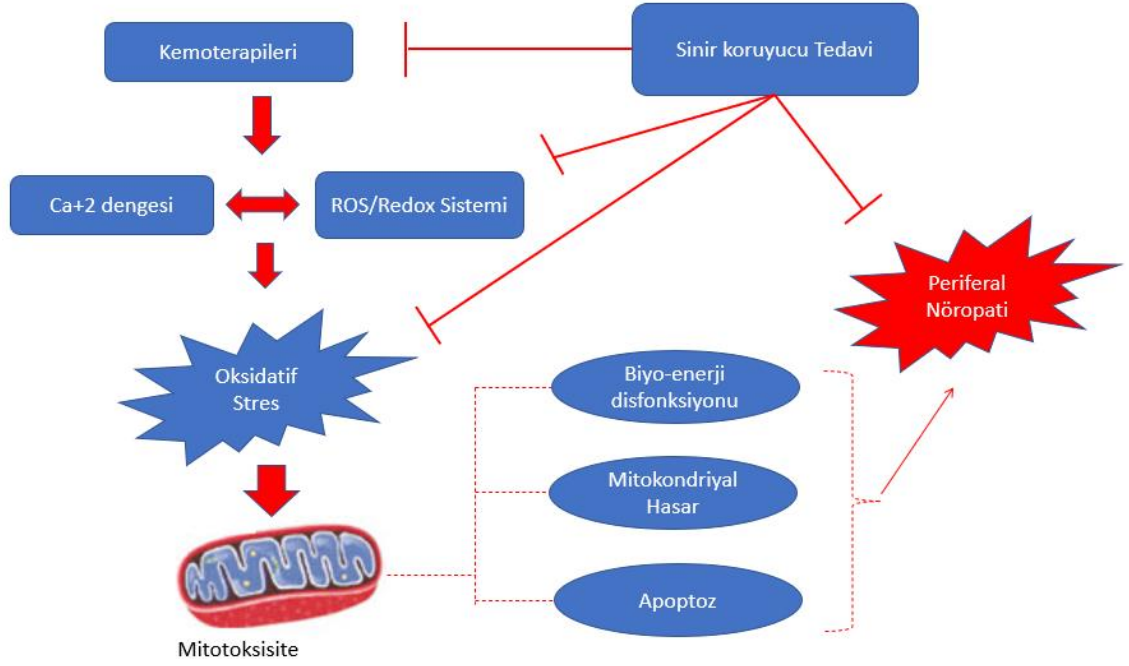
2.5.1. Sinir Koruyucu Tedavi

Kemoterapötik ajanlar, kan-beyin bariyerini geçememesine rağmen kan-sinir bariyerine nüfuz etmektedir. Bu sayede DRG ve sinir terminallerinde birikebilmektedirler (Cavaletti ve diğerleri, 2000). Yüksek konsantrasyonlarda bu ilaçlar, aktive edici transkripsiyon faktörü-3'ün (ATF-3) ekspresyonunun artmasına, ekstremitelerde intra epidermal sinir fiberlerin (IENF) yoğunluğunun azalmasına ve anormal sinir iletim hızlarına neden olur. Periferik sinir liflerinin, aksonların ve miyelin kılıflarının kombine hasarının KİPN ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Koskinen ve diğerleri, 2011) (Şekil 5). Sinir koruyucu tedavi de eritropoietin, N-asetilsistein ve Glutasyon ajanları kullanılmaktadır.

Eritropoietin (EPO), hematopoezin düzenlenmesinde rol oynayan böbrekte üretilen bir sitokin yapısıdır. Yapılan çalışmalarda EPO'nun nöroprotektif özellikte olduğu gösterilmiştir. Sinir rejenerasyonunu arttırmayı ve periferik sinir hasarından sonra fonksiyonel iyileşmeyi desteklemektedir (Yin ve diğerleri, 2010). Sisplatin ve dosetaksel ile indüklenen periferik nöropatiler de intra epidermal sinir fiberlerin (IENF) kaybının kısmen ama önemli ölçüde engellemektedir (Kassem ve diğerleri, 2010). Ancak, EPO'nun tümör hücrelerinin büyümesinde de rol oynadığından kullanımında dikkat edilmektedir (Pradeep ve diğerleri, 2015).

Bir antioksidan olan N-asetilsistein, glutasyon peroksidazı aktive etmekte ve glutasyonun kan konsantrasyonunda artışa neden olmaktadır (Sharma ve diğerleri, 2014). Glutasyon, ağır metallerle olan yüksek afinitesi sayesinde dorsal kök gangliyonlarında platin

eklentilerinin birikmesini önlemektedir. Glutasyon aracılı nöro-koruyucu, p53 sinyal yolunun aktivasyonunu inhibe ederek platin bazlı ajanlarla indüklenen apoptozun önlenmesi ile de bağlantılıdır (Park ve diğerleri, 2008).



Şekil 5. Sinir koruyucu tedavinin etkileri (düzenlenmiş hali) (Waseem ve diğerleri, 2018).

2.5.2. İyon Kanalları Hedefli Tedavi

Kemoterapik ilaçlar nöronlardaki morfolojik bozulmalara ek olarak periferik nosiseptörlerde eşik değerlerinde azalmaya neden olmaktadır. Nöronal aktivitedeki bu elektrofizyolojik değişimler intraselüler ve extraselüler iyon konsantrasyonlarıyla ilişkilendirilmektedir. Ağrılı KİPN'in patolojisinde transiyent reseptör potansiyel (TRP) ailesi önemli rol oynamasının yanı sıra voltaj kapılı sodyum, potasyum ve kalsiyum iyon kanallarının aktivasyonu da etkisi bulunmaktadır (Kawakami ve diğerleri, 2012). İyon kanalları hedefli tedavi de lidokain, meksiletin, kalsiyum/magnezyum infüzyon, gabapentin, pregabalin, mentol gibi ilaçlar kullanılmaktadır.

Lidokain ve meksiletin, sodyum iyon kanallarını bloke etmektedirler. Kalsiyum ve magnezyum (Ca / Mg) infüzyonu, KİPN'nin önlenmesi için kullanılan en umut verici ajanlardan biridir. Kalsiyum ve magnezyumun intravenöz olarak verilmesiyle hücre dışı

kalsiyum konsantrasyonunun artışına neden olmaktadır. Bu sayede, sodyum kanallarının hareketini kolaylaştırarak onları bloke etmektedir (Yamaoka ve diğerleri, 2006).

Gabapentin ve pregabalin, presinaptik terminallerde voltaj kapılı kalsiyum kanallarının bloke edilmesi ve uyarıcı nörotransmitterlerin aşağıya doğru regülasyonu (down regülasyonu) yoluyla anti-nosiseptif etki gösteren antikonvülsanlardır (Piccolo ve diğerleri, 2014). Paklitaksel ve oksaliplatinin neden olduğu periferik nöropati üzerinde hem gabapentin hem de pregabalinin güçlü bir analjezik etkisi bildirilmiştir. Bununla birlikte gabapentin, vinkristin bağlı allodini'ye etki etmemektedir (Peng ve diğerleri, 2012). Bu nedenle gabapentin ve pregabalinin KİPN'ye karşı olan etkisi hala araştırılmaktadır.

Doğal bir soğutma bileşiği olan mentol, nöropatik (Wasner ve diğerleri, 2008) ve inflamatuvar (Liu ve diğerleri, 2013) ağrının giderilmesi için uygulanmaktadır. Ağrılı alanlara lokal olarak uygulanan mentollü kremleri nöropatik ağrıyı önemli ölçüde azaltmakta ve çoğu durumda duyu kayıplarını hafifletmektedir (Mahn ve diğerleri, 2014).

2.5.3. Nörotransmitter Esaslı Tedavi

Monoamin nörotransmitter grubunda bulunan serotonin ve norepinefrinin opioid aracılı supraspinal analjezide önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Zemlan ve diğerleri, 1983). Nosiseptik özellik bakımından norepinefrin daha güçlü analjezik etki etmektedir. (Bellingham ve diğerleri, 2010).

Venlafaksin, düşük dozlarda serotoninini, yüksek dozlarda ise norepinefrini inhibe etmektedir. Bu sebeple KİPN'ye karşı koruyucu bir strateji olarak kullanılmıştır (Piccolo ve diğerleri, 2014). Venlafaksin, oksaliplatinin neden olduğu semptomatik akut nörosensör toksisiteye karşı aktivite göstermesine rağmen, bulantı (% 43,1) ve güçsüzlük (% 39,2) gibi yan etkileri göz ardı edilmemektedir (Durand ve diğerleri, 2012).

Venlafaksin tersine, duloksetinin serotonin ve norepinefrinin inhibisyonu dengelidir ve klinikte KİPN'in yan etkilerini minimize etmek için duloksetin uygulanmaktadır. Duloksetin, analjezi açısından platinele tedavi edilen hastalarda taksanla tedavi edilen hastalara göre daha büyük bir fayda gözlemlenmektedir (Bellingham ve diğerleri, 2010). Ek olarak, venlafaksin ile karşılaştırıldığında, duloksetin uygulaması daha az yan etki

etmektedir (Smith ve diğeri, 2013). Tüm bu veriler duloksetinin venlafaksine göre KİPN tedavisini iyileştirebileceğini düşündürmektedir (Hershman ve diğeri, 2014).

Amitriptilin, desipramin ve nortriptilin, serotonin / norepinefrin yolu ile çalıştığı bilinen trisiklik antidepresanlardır (Zhao ve diğeri, 2009). Ancak KİPN'in yan etkilerini azaltmada tatmin edici başarı sağlayamamaktadırlar (Gewandter ve diğeri, 2014). Trisiklik antidepresanlar ayrıca antikolinergik, antihistaminergik ve antiadrenergik ilerleme, ağız kuruluğu, uyusukluk, kilo alımı ve ortostatizm gibi sistemik yan etkilere yol açmaktadır (Bet ve diğeri, 2013). Bu veriler, KİPN'nin diğeri nöropatik ağrı sendromlarından daha karmaşık olduğunu ve trisiklik antidepresanların tek başına KİPN tedavisi için yeterli olmadığını göstermektedir.

2.5.4. Anti inflamatuvar Tedavi

Kemoterapik ilaçlar, inflamatuvar kaskatların aktivasyonuna, sitokinezlerin, pro ve anti inflamatuvarlar ile birlikte kemokinezlerin fazla miktarda salınmalarına neden olmaktadır. Bu inflamatuvar mediatörler büyüme faktörleri, bradikinin, serotonin, norepinefrin, nitrik oksit ve interlökinler içermektedir. Bu faktörler arasında tümör nekroz faktör alfa (TNF-alfa), interlökin 1 beta (IL-1 beta), IL-6, IL-8 KİPN ile ilişkilidir (Diezi ve diğeri, 2013). Kemoterapi ile ilişkili matriks metalloproteinazlar (MMP2, MMP3, MMP9 ve MMP24), pro-inflamatuvar sitokinezlerin aktivasyonunu tetiklemektedir. TNF-alfa ve IL-1beta direk olarak A ve C fiberlerini etki etmekte ve bu sinirlerden spontane elektrik akımlarına neden olmaktadır (Schäfers ve diğeri, 2008). Sinir büyüme faktör tirozin kinaz reseptör A yolağının bloke edilmesi veya TNF-alfa antikoru ile tedavi edilmesinin yanı sıra IL-1Ra (interlökin-1 reseptör antagonisti) ve IL-10 anti inflamatuvarın up-regüle edilmesi borteomib ve paklitaksel ile indüklenmiş periferik nöropati ağrısını iyileştirebilmektedir. Pro-inflamatuvar sinyalleşmeyi bloke etmenin faydaları, KİPN'nin başlatılması ve şiddetlenmesindeki potansiyel rolünü daha da vurgulamaktadır. İlginç bir şekilde, bu patolojik ilerleme sadece sinir hücrelerini değil, aynı zamanda nöronal olmayan bağışıklık hücrelerini de içerir; genel kemoterapötik ajanların makrofaj infiltrasyonu, T lenfosit alımı (Huang ve diğeri, 2014), schwann hücre aktivasyonu (Zheng ve diğeri, 2012) ve bu hücreler ile DRG nöronları etrafındaki satellit hücre arasındaki iletişimde bir artışa neden olduğu bilinmektedir.

Metformin, adenosin monofosfat akvite edilmiş protein kinaz (AMPK) yolağını aktive eden bir anti diyabet ilacı olarak kullanılmaktadır. Günümüzde KİPN tedavisinde de kullanılmaktadır. Metforminin intraperitoneal uygulaması önemli ölçüde periferik intra epidermal sinir fiberlerin (IENF) bozulmasını engellemenin yanı sıra sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropatinin meydana getirdiği uyuşma hissini de engellemektedir. Benzer etkiyi paklitaksel tarafından oluşan periferik nöropatide de göstermektedir (Mao-Ying ve diğerleri, 2012). Ayrıca, metformin pro-inflamatuar sitokinezleri azaltarak ve AMPK'ya bağlı bir şekilde aktive edici transkripsiyon faktörü-3 (ATF-3) indüksiyonu yoluyla makrofaj yanıtını baskılayarak anti inflamatuar etki yaratmaktadır (Huang ve diğerleri, 2009).

Minosiklin, yarı sentetik, ikinci nesil bir tetrasiklin türevidir. Minosiklin, monositlerin aktivasyonunu inhibe etmek, proinflammatuar sitokinezlerin salınımını azaltma gibi etkiler göstermektedir (Huang ve diğerleri, 2014). Ek olarak, araştırmacılar minosiklinin anti inflammatuar, anti apoptotik ve serbest radikalleri temizleme gibi özellikleri bulunduğunu belirtmişlerdir (Suk, 2004).

2.5.5. Antioksidanlar

Kemoterapinin anti-neoplastik etkilerinden birisi kanser hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini arttırmaktır (Butturini ve diğerleri, 2013). Ancak kemoterapiye cevap olarak periferik ve somatik sinir sisteminde oksidatif stres türleri tespit edilmiştir. Artan nöronal oksidatif stresin endojen antioksidanları tükettiği, biyoenerjinin metabolizmayı etkilediği, iyon kanallarını aktive ettiği ve inflammatuar olayların oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir (Sawicka ve diğerleri, 2013). Bu patolojik değişiklikler sinir hücresinde apoptoz ve mikro tübüllerin dağılması, demiyelizasyon gibi yapısal değişikliklere neden olmaktadır (Areti ve diğerleri, 2014). Bu sebeple oksidatif stres aracılı nörodejenerasyonun KİPN ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Melatonin, hem anti-inflamatuar hem de antioksidan görevi gören bir nörohormondur (Favero ve diğerleri, 2018). Bu sebeple, periferik sinirlerin fonksiyonlarını sınırlandırarak KİPN'in semptomlarını azalttığına inanılmaktadır. Melatonin'in mekanizması alfa281 protein alt birimi üzerinde voltaja bağlı kalsiyum kanallarını engellemektir. Aynı zamanda

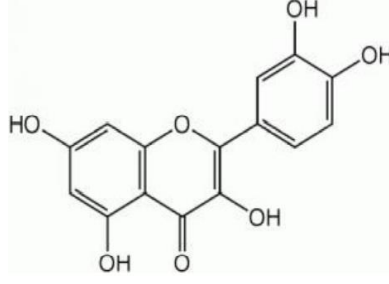
kaspaz 3 ve 9'ün üretimini artmasını sağladığı için anti-tümör, pro-apoptosis gibi etkiye de sebep olmaktadır (Soliman ve diğerleri, 2020).

Amifostin, DNA hasarının onarılmasını hızlandıran ve Fas/FasL aracılı apoptozu baskılayan sitoprotektif bir antioksidandır (Majsterek ve diğerleri, 2005). Ototoksisite, nörotoksisite, nefrotoksisiteye karşı koruyucu bir etki sağlamaktadır (Gurney ve diğerleri, 2014). Ayrıca, paklitakselin neden olduğu ciddi klinik nöropatide önemli bir azalma (Lorusso ve diğerleri, 2003) ve sisplatinde, altı kur tedaviden sonra nörotoksisite de azalma görülmüştür (Kemp ve diğerleri, 1996). Amifostin tedavisinde hipotansiyon, kusma, bulantı en sık görülen yan etkileridir. (Duval ve diğerleri, 2012).

Mangafodipir, yan etkisi olmayan, manyetik rezonans yöntemiyle karaciğer görüntülenmesinde kullanılan kontrast bir ajandır. Mangafodipir, şelat bağından kaynaklanan süperoksit dismutaz mimetik aktivitesi nedeniyle artık bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. Bu özellik, mangafodipire kemoterapiye karşı sitoprotektif bir etki sağlamaktadır (Yri ve diğerleri, 2009). Ancak, manganezin toksisitesi, mangafodipirin klinik kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle, Ca^{+2} ile birlikte Mn^{+2} KİPN için yeni tedaviler geliştirmek için faydalı olabilir (Karlsson ve diğerleri, 2012).

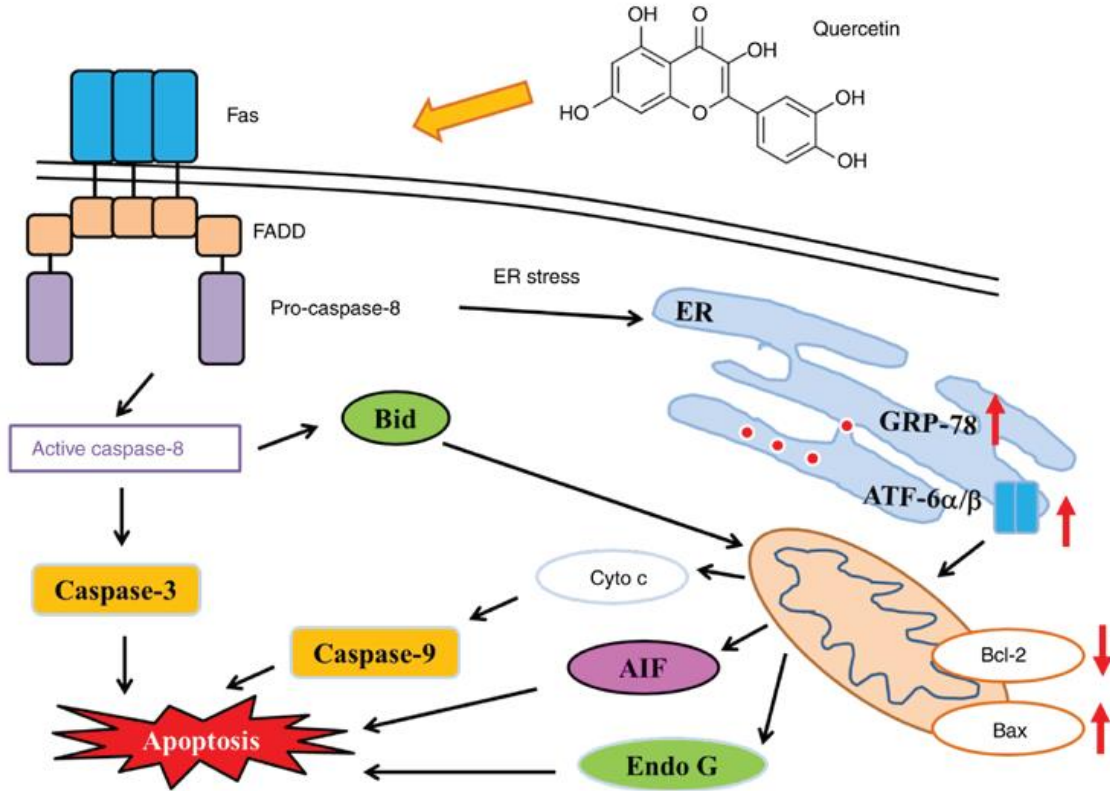
2.5.5.1. Kuersetin

Kuersetin, 3-hidroksiflavon omurgasına sahip flavonollerin bir üyesidir (Zaplatic ve diğerleri, 2019). (Şekil 6). Antioksidan (Milanezi ve diğerleri, 2019; Inal ve diğerleri, 2002), anti-inflamatuar (Li ve diğerleri, 2018), anti-tümör (Vafadar ve diğerleri, 2020), anti-diyabet (Hu ve diğerleri 2020), nöroprotektif (Yang ve diğerleri 2020), nefroprotektif (Behling ve diğerleri 2006), otoprotektif (Wang ve diğerleri 2020), kardiyoprotektif (Zhang ve diğerleri, 2018), kan basıncının düzenlenmesi (Huang ve diğerleri, 2020) ve anti bakteriyel aktivite (Wang ve diğerleri, 2019) gibi büyük farmakolojik etkilere sahiptir.



Şekil 6. Kuersetinin kimyasal yapısı (Costa ve diğerleri, 2016).

Kuersetin, hücre içine direk nüfuz edememektedir. Hücre membranında bulunan FAS reseptörüne bağlanmaktadır. Reseptöre bağlı olan FADD (Fas-associated protein with death domain) pro-kaspaz-8'e bağlanır ve ER strese neden olarak GRP-78'i (Gastrin-releasing peptide-78) ve ATF-6alfa-Beta (aktive edici transkripsiyon faktörü-6 alfa/beta)'nin artışına neden olmaktadır. Pro-kaspaz-8 aynı zamanda kaspaz-8'i de aktive etmektedir. Kaspaz-8 hem kaspaz-3'u hem de BİD'i aktive etmektedir. BİD, Bcl-2'yi inhibe ve Bax'ın artışına neden olarak kaspaz-9'u aktive etmesiyle hücre apoptoza gitmektedir (Şekil 7) (Ma ve diğerleri, 2018).



Şekil 7. Kuersetinin hücre üzerine etkisi (Ma ve diğerleri, 2018).

Kuersetinin için en önemli konulardan biri kan beyin bariyerini (BBB) geçip geçmediğidir. Hücre kültürü çalışmalarında BBB modelinde kuersetinin beyne girdiği gösterilmiştir (Schaffer ve Halliwell, 2012). In vivo çalışmalarında sıçanlarda ve domuzlarda kuersetin uygulama çalışmalarında beyin dokusunda düşük miktarda kuersetin bulunduğunu belirtmişlerdir (Ishisaka ve diğerleri, 2011). Kuersetin' in beyne penetrasyonunu arttırmada lipit nanopartikülleri önemli rol oynamaktadır (Dhawan ve diğerleri, 2011).

Nöronal hücre hatlarında yapılan *in vitro* çalışmalar, düşük dozlarda kuersetinin oksidatif stresi indükleyerek hücre toksisitesinin de antagonize özellikte olduğu gösterilmiştir (Dajas ve diğerleri, 2012). Magalingam ve diğerleri (2015), tarafından yapılan çalışma da kuersetin glikozitlerin PC12 hücrelerinde 6-hidroksidopamin tarafından indüklenen gen ekspresyonundaki değişiklikleri bloke edebildiğini gösterilmiştir. Antioksidan etkinin serbest metallerin bağlanması, serbest radikallerin temizlenmesi, enzim inhibisyonu ve koruyucu enzimlerin ekspresyonunun indüklenmesi gibi farklı kaynakları olduğu düşünülmektedir. Farklı kanser hücre hatlarında hücre apoptozunu aktive ettiği, akciğer kanserinde hücre proliferasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve servikal kanserlerde nF-kB ekspresyonunun azaltılmasıyla apoptotik hücre popülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Youn ve diğerleri, 2013).

2.6. Düşük Seviyeli Lazer Tedavi

Kemoterapi ile indüklenen periferik nöropatinin tedavisinde farmakolojik ajanların yanı sıra fotobiyostimülatörler de kullanılmaktadır. 50 yıldan fazladır lazer tedavi veya düşük seviyeli lazer terapi (DSLTL) yaygın olarak kullanılmaktadır (Ginani ve diğerleri, 2015). DSLTL, dalga boyu 600-1100 nm ve çıkış gücü 1-500 mW olan kırmızı ışın veya yakın kızılötesi olan lazeri tanımlamaktadır. 0.04 ile 50 J/cm² arası düşük enerji seviyesi olan bu ışınma sürekli veya darbelidir. DSLTL'nin 5 temel parametresi vardır. Bunlar; dalga boyu, çıkış gücü, güç yoğunluğu, enerji yoğunluğu, toplam maruz süresidir (Musstaf ve diğerleri, 2019) (Tablo 4).

DSLTL'nin hücrenin çoğalma, proliferasyon, göç olayları gibi fonksiyonel olaylarda olumlu olarak katkı sağlamaktadır (Huang ve diğerleri, 2009). 2 J/cm² gibi düşük dozlarda, DSLTL hücre proliferasyonunu uyarırken 16 J/cm² gibi yüksek dozlarda ise baskılayıcı özellik göstermektedir. Işığa maruz kalma süresine bağlı biyolojik yanıtlar oluşmaktadır

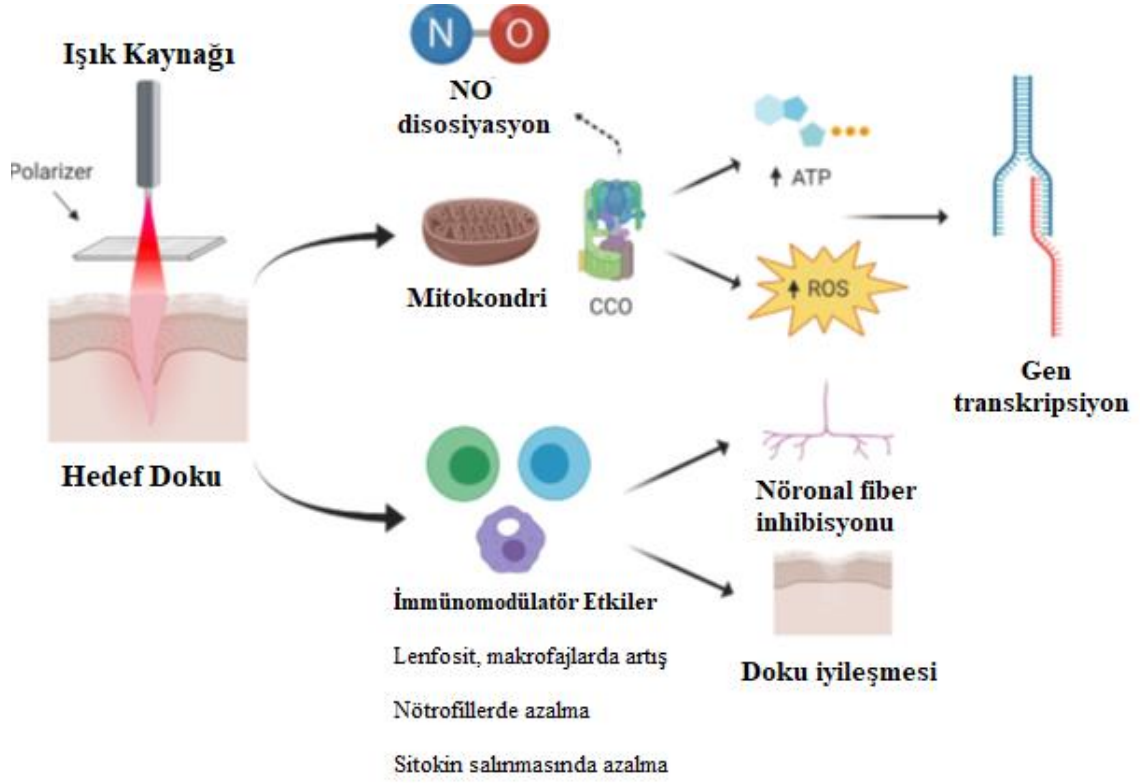
(Bolten ve diğeri, 1995). Düşük seviyede enerji yayılımı olduğu için ortama ısı, ses veya titreşim yaymamaktadır (Hrnjak ve diğeri, 1995).

Tablo 4. DSLT uygulamasının parametreleri (Musstaf ve diğeri, 2019).

Parametreleri	Ölçü birimi		Açıklama
Dalga boyu	Nm	600-1100	Elektromanyetik bir radyasyon, dalga benzeri bir özelliğe sahip olan ayrı paketler halinde hareket eder.
Güç	W	$10^{-3} - 10^{-1}$	Birim zamanda tüketilen enerji miktarıdır.
Güç Yoğunluğu	W/cm ²	$10^{-1} - 10^0$	Birim alana iletilen güç
Enerji Yoğunluğu	J/cm ²	$10^{-2} - 10^2$	Lazer dozu
Toplam maruz süresi	Saniye	10-3000	Hedef sistemin enerjiye maruz kaldığı süre

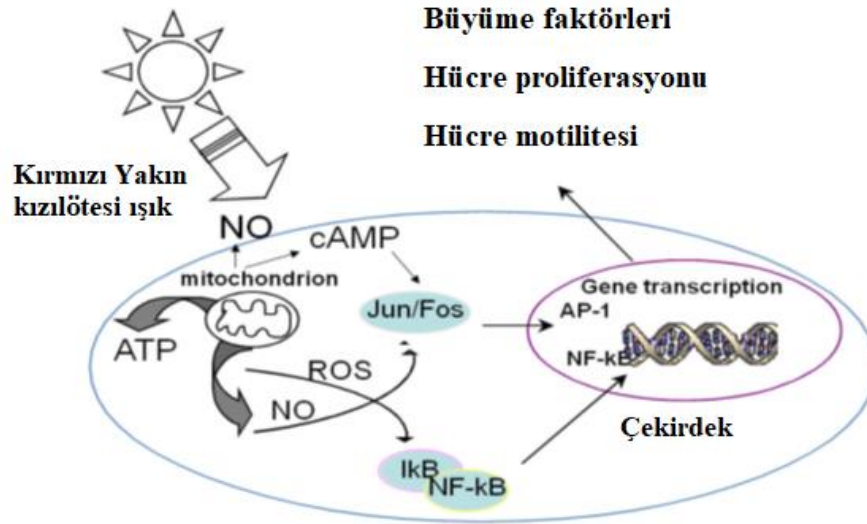
2.6.1. Düşük Seviyeli Lazer Tedavi 'nin Etki Mekanizması

DSLTL, hücrede fazla oranda ATP, RNA ve DNA sentezine neden olmaktadır. Bu sebeple hücre solunumu ve mitokondriyal elektron taşıma sistemini iyileştirmektedir (Takac ve diğeri, 1998) (Şekil 8). Düşük lazer dozlarında, DSLTL'den sonra artan ATP ve protein sentezini takiben, büyüme faktörlerinde ve sitokinlerin ekspresyonlarında artışa ve sonuçta hücre proliferasyonuna yol açmaktadır (Hu ve diğeri, 2007). Ancak yüksek lazer dozlarında Ca⁺² salınımı artmaktadır. Artan Ca⁺² ile kalsiyum-adenozin trifosfataz (ATPaz) kalsiyum pompalarında aktive artmasına neden olarak hücrenin ATP'sini tüketerek hücre metabolizmasını inhibe etmektedir (Schindl ve diğeri, 2000).



Şekil 8. DSLT mekanizması (Düzenlenmiş hali) (Tripodi ve diğerleri, 2020).

DSLТ, yara iyileşmesini, kollajen sentezini, sinir rejenerasyonunu, anormal hormonal fonksiyonun normalleşmesini, ağrının azalmasını, endorfin salınımının uyarılmasını ve bağışıklık sisteminin modülasyonunu uyarmaktadır. DSLТ'nin yara iyileşmesi üzerindeki etkileri sıklıkla artmış hücre proliferasyonuna bağlanmaktadır (Hawkins ve Atrakamse, 2005). Ayrıca DSLТ hücrede, redoks özelliklerindeki değişiklikler ve elektron transferinin hızlanması, sitokrom c oksidazın katalitik merkezinden nitrik oksit (NO) salınımı, süperoksit üretimi, fotodinamik etkilere de neden olmaktadır (Rosso ve diğerleri, 2018) (Şekil 9).



Şekil 9. DSLT'nin biyofiziksel etkisi (Düzenlenmiş hal) (Cotler ve diğerleri, 2015).

2.6.2. Farklı Dalga Boylarındaki DSLT'nin Hücre Üzerine Etkisi

Farklı dalga boylarındaki DSLT çalışmalarında nöronal hücreler üzerinde farklı etkiler olduğu gösterilmiştir. DSLT'de 600-780 nm arasındaki dalga boyları nöronal ve aksonal büyümede daha fazla etkili olduğu belirtilmiştir. Ross ve diğerleri (2018), Medalha ve diğerleri (2012), çalışmalarında 660 ve 808 nm, Barbosa ve diğerleri (2010), çalışmalarında 660 ve 830 nm, Gigo ve diğerleri (2010) çalışmalarında 660 ve 780 nm dalga boylarını karşılaştırdıklarında 660 nm 'nin nörondaki fibere ve aksona büyüme konusunda daha fazla etkili olduklarını göstermişlerdir. Chow ve diğerleri (2007), Zheng ve diğerleri (2015) ve Holanda ve diğerleri (2018) yaptıkları çalışmalarda 830 nm lazer dalga boylarının nöronlardaki aksonal büyümeyi inhibe ettiğini ve mitokondriyal membran potansiyelini azalttığını ve bu sebeple ağrı modellerinde kullanılmasını önermişlerdir. Zupin ve diğerleri (2019) çalışmalarında için spesifik olarak 800 nm dalga boyunun mitokondriyal disfonksiyonunu arttığını göstermişlerdir. Buchaim ve diğerleri (2015), çalışmalarında 660 nm dalga boyunda 30 mW enerji çıkışı ve 4 J/cm^2 lazer kullanmışlardır. Çalışma sonuçlarında DSLT'nin vagus sinir rejenerasyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Takhtfooladi ve diğerleri (2015), siyatik sinir hasarının tedavisinde 685 nm dalga boyu, 15 mW enerji çıkışı ve 3 J/cm^2 lazer kullanmışlardır. DSLT'nin sinir fonksiyonlarını pozitif yönde hızlı bir iyileştirme etkisi olduğunu göstermişlerdir. Wang ve diğerleri (2014) çalışmalarında, siyatik sinir hasarının tedavisinde 808 nm dalga boyu, 170 mW çıkış gücü

ve 3-8-15 J/cm² enerji yoğunluğu uygulamışlardır. 3 ve 8 J/cm² enerji yoğunluğunun sinir hasarının morfolojik ve fonksiyonel olarak hızlı bir rejenerasyona ve GAP-43'un ekspresyonunda artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *in vitro* çalışmalarda 660 nm lazer dalga boyunun fibroplastların büyüme faktörünün üretimini arttırdığını (Yu ve diğerleri, 1994) ve 632,8 nm dalga boylarının da kültürlenmiş fibroplastların miyofibroblastlara dönüştürdüğü bilinmektedir (Pourreau-Schneider ve diğerleri, 1990). Bu nedenle, hücrelerin maksimum proliferasyon hızına ulaşmak için doğru parametre kombinasyonunu (örneğin dalga boyu, güç yoğunluğu ve enerji yoğunluğu) bilmek önemlidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada kullanılan sarf, kimyasal malzemeler ve cihazlar aşağıda gösterilmiştir.

Sarf ve Kimyasal Malzemeler

- PC12 cell line (CRL-1721)
- RPMI-1640 (#R8758)
- Fetal Sığır Serumu (#S181H)
- Donor At Serum (#H1138)
- L-glutamin
- Penisilin/streptomisin
- Tripsin
- EDTA (#E5134)
- Matrijel
- Kuersetin (#337951)
- Sisplatin (#13119)
- MTT
- Annexin V & Dead Cell Assay (#MCH100105)
- Mitopotential Assay Kit (#MCH100110)
- Laktat Dehidrogenaz Aktivite Kit (#MAK066)
- Propidium İyodür
- Hoesct
- Tuzlu Fosfat Tampon (PBS, #H4641)

- Dimetil sülfoksit (DMSO, #ST00031)
- Etanol
- Sinir Büyüme Faktörü (#N2513)
- RNA izolasyon kiti (#740984.50)
- cDNA sentez kiti (#G236)
- qPCR mastermix kiti (#G891)
- GAP-43 ve Synapsin I Forward/Reverse primerleri

Cihazlar

- Muse Cell Analyzer
- 670 nm lazer kaynağı (#MRL-FN-671)
- Hücre kültür kabini
- CO₂ inkübatörü
- Işık Mikroskobu
- Flüoresans mikroskobu
- Santrifüj
- Sıcak Su banyosu
- Derin dondurucu (-80°C)
- Derin dondurucu (-20°C)
- Plak Okuyucu
- Hassas Terazı
- Nanodrop
- Real-Time PCR (Thermo Fischer Step One Plus)
- Distile su cihazı
- Soğutmalı Santrifüj
- Isı bloğu

- Otoklav
- Vorteks

3.1.1. Kimyasalların Hazırlanması

Sisplatin ve Kuersetin ana stokları 10 mM konsantrasyon olacak şekilde DMSO'da çözdürülerek hazırlanmıştır. Hücrelere uygulanmadan önce DMSO'nun etkisini azaltmak için PBS ile 1:10 oranında dilüe edilmiştir. Hazırlanan tüm ana stok alikotlanarak -20°C'de saklanmıştır.

Sinir büyüme faktörü (NGF), konsantrasyonu 25,000 ng/ml olacak şekilde boş RPMI-1640 besi ortamı içinde çözülmüştür. Hazırlanan ana stok 250 µl ependorflara alikotlanarak -20°C'de saklanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Hücre Çoğaltılması ve Farklılaştırılması

PC12 hücreleri Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı tarafından temin edilmiştir. Hücreler RPMI 1640 besi ortamında çoğaltılmıştır. Besi ortamının toplam hacmine bağlı olarak %10 karşılık gelen donör at serumu (DHS), %5 karşılık gelen fetal bovine serum (FBS), %1 L-glutamine, %1 Penisilin-streptomisin eklenmiştir. Bu ortam +4°C'de saklanmıştır. Dondurulmuş olarak bulunan hücre hatları, denemelerde kullanılmak üzere 37 °C'lik su banyosunda 1-2 dakikada yavaşça çalkalanarak hücrelerin çözünmesi sağlanmıştır. Tüp içeriği 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarılıp üzerine 3-4 ml ılık kültür ortamı ilave edilmiş ve 1200 rpm'de oda sıcaklığında 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılıp pellet yeni kültür ortamında insülin iğnesiyle resüspanse edilip hücreler T-75 flasklara aktarılmıştır. Bu hücreler 37 °C'de %5 CO₂ ve %96 nem içeren atmosferde çoğaltılmıştır. Kültür ortamı her 48 saatte değiştirilmiştir (Ferreira ve diğerleri, 2016). Hücreler uygulama yapılncaya kadar süspense halde çoğaltılmıştır.

PC12 hücrelerin farklılaşması için RPMI-1640 ortamın toplam hacmine bağlı olarak %1 karşılık gelen donör at serumu (DHS), %1 L-glutamine, %1 Penisilin-streptomisin ve 100 ng/ml NGF eklenmiştir. Bu ortam +4°C'de saklanmıştır. Hücreler hazırlanan farklılaşma medyumunu ile 72 saat 37 °C'de %5 CO₂ ve %96 nem içeren atmosferde inkübe edilmiştir (Wiatrak ve diğerleri, 2020).

3.2.2. Matrijel ile Plate Yüzeyi Kaplama

Uygulama yapılmadan önce 24 kuyucuklu plateler 1:30, 1:50, 1:100, 1:200 oranlarında matrijel ile yüzey kaplanmıştır. Kuyu başına 1x10⁵ hücre olacak şekilde hücre ekimi yapıldı ve 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ ve %96 nem içeren atmosferde inkübe edilmiştir. İnkübenin akabinde hücreler HO/PI boya ile boyanarak hücre canlılığı ve hücrelerin tutunma durumları incelenmiştir.

3.2.3. Kemoterapi ile İndüklenmiş Periferik Nöropati Modelinin Oluşturulması

24 kuyucuklu plateler 1:50 oranında matrijel ile kaplandıktan sonra kuyucuk başına 1x10⁵ hücre olacak şekilde hücre ekimi yapılmıştır. Plateler 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ inkübe edilmiştir. Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelere önceden hazırlanan sisplatin ana stoktan 1:10 oranında PBS ile dilüe edilen solüsyondan 16 µM sisplatin uygulanmıştır. Uygulamadan sonra hücreler 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ inkübe edilmiştir (Ferreira ve diğerleri, 2016).

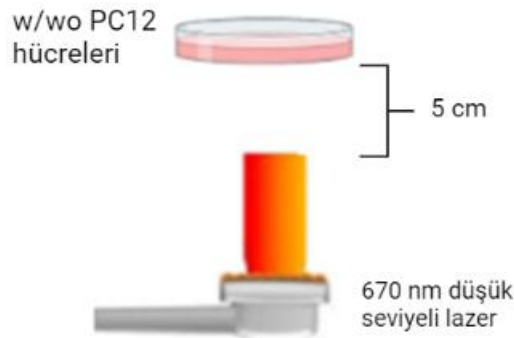
3.2.4. Düşük Seviyeli Lazerin Sitotoksitesi

Deney grupları oluşturulmadan önce düşük seviyeli lazer tedavi doz tayini ön denemeler ile yapılmıştır. Düşük seviyeli lazer tedavi için ön denemelerde 24 kuyucuklu kültür platelerine kuyu başına 1x10⁵ hücre olacak şekilde hücre ekimi yapılarak 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ ve %96 nem içeren atmosferde inkübe edilmiştir. İnkübeden sonra farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelere 0.25, 0.5, 1, 1.5 Joule/cm² lazer dozu

ve 670 nm dalga boyu uygulaması yapılmıştır. Lazer uygulaması karanlık bir ortamda, oda sıcaklığında yapılmış olup, lazer platelerin 5 cm altından uygulanmıştır (Aboud ve diğerleri, 2013) (Şekil 10). Uygulamadan sonra 24 saat 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübeden sonra hücre canlılığı testi sonuçlarına göre lazer dozuna karar verilmiştir. Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir.

Işık dozu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{enerji yoğunluğu} \left(\frac{\text{Joule}}{\text{cm}^2} \right) = \frac{(\text{lazer output (watt)} \times \text{zaman (sn)})}{(\text{lazerin uygulandığı alan (cm}^2\text{)})}$$



Şekil 10. DSLT uygulama şeması.

3.2.5. Kuersetin'in Sitotoksosite Deneyi

Kuersetin doz tayini için sisplatin uygulanan farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelere önceden hazırlanan kuersetin ana stoktan 1:10 oranında PBS ile dilüe edilmiş solüsyondan 3, 10, 30, 100, 500 µM konsantrasyonda kuersetin uygulanarak 24 saat 37°C'de %5 CO₂ ve %96 nem içeren atmosferde inkübe edilmiştir. İnkübenin akabinde hücre canlılığı testi sonucuna bağlı olarak kuersetin dozuna karar verilmiştir. Karar verilen dozlara göre deney grupları oluşturulmuştur (Tablo 5). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir.

Tablo 5. Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinin deney grupları.

Gruplar	Yapılacak Uygulamalar
Grup 1. Kontrol Grubu	Farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelere kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati model oluşturulmamıştır.
Grup 2.KİPN grubu	Farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelere kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulmuştur.
Grup 3.KİPN + DSLT	Farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelere kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulmuş ve 670 nm lazer uygulaması yapılmıştır.
Grup 4. KİPN+ kuersetin	Farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelere kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati model grubuna kuersetin uygulaması yapılmıştır.
Grup 5. KİPN + kuersetin + DSLT	Farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelere kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati model grubuna kuersetin ve 670 nm lazer uygulaması yapılmıştır.
Grup 6. Kontrol + çözücüler	Farklılaştırılmamış PC12 hücrelere çözücüler uygulanmıştır.

3.2.6. Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Kombine Uygulaması

Sisplatin uygulanan farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelere ön deneylerle belirlenen 3 μ M kuersetin ile 0,25 J/cm² lazer uygulaması yapılmıştır (Resim 2). Hürelere kuersetin uygulamasından 0, 10, 20, 30, 40 dakika 37 °C’de %5 CO₂ inkübe edildikten sonra 0,25J/cm² lazer uygulaması yapılmıştır. Uygulama yapılan hücreler 24 saat 37 °C’de %5 CO₂ inkübe edilmiştir. Lazer uygulamaları karanlık ve oda sıcaklığı ortamında gerçekleştirilmiştir. Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir.



A



B

Resim 2. DSLT’nin uygulanması (A) ve Lazer Cihazı (B).

3.2.7. Hücre Canlılığı Testi

Deney grupların hücre canlılığı analizi 3- [4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT) tarafından belirlenmiştir. Uygulamalardan 24 saat sonra hücre canlılığı analiz edilmiştir. Çözeltiye (5 mg / ml) 20 µl MTT ilave edilip ve hücreler, 37°C'de %5 CO₂' de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübenin akabinde süpernatant ortamdan uzaklaştırılıp 300 µl DMSO, formazan kristallerinin ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Mikro plate okuyucuda 570 nm'de absorpsiyon analizi yapılmıştır (Mendonça ve diğerleri, 2013). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir. Hücre canlılığı oranı, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Hücre canlılığı oranı(\%)} = \frac{(\text{muamele edilmiş hücrelerin değerleri})}{(\text{kontrol grubu hücrelerin değerleri})} \times 100$$

3.2.8. Apoptoz Testi

Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelere uygulanmış olan kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisini gruplarında total apoptotik hücrelerinin kantitatif analizi için Annexin V& Dead hücre test kiti kullanılmıştır. Bütün gruplardaki hücreler 350 µl tripsin-EDTA ile kaldırılmış ve son konsantrasyon 5x10⁵ hücre/ml olacak şekilde %1 bovine serum albümin (BSA) ve %1 fetal bovine serum (FBS) içeren tuzlu fosfat tamponu içinde seyrekleştirilmiştir. Daha sonra 100 µl Annexin V ve 7-AAD karışımı ile 100 µl hücre süspansiyonu bir ependorf içerisinde karıştırılmış ve 30 dakika boyunca 37°C'de %5 CO₂' de inkübe edilmiştir. Muse Cell Analyser'da analiz edilmiştir (Ru ve diğerleri, 2019). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir.

3.2.9. Canlılık Analizleri

Deney grupların nöronal hücre ölümü ve canlılığı değerlendirmek için AxioCam 208 kamera ekli ZEISS Axio Vert.A1 invert mikroskop ile görüntüler alınmıştır. Görüntüler 10X büyütme oranında alınmıştır. Kültür ortamına her bir kuyucuğa propidium iyodür (PI) (7.5 µM) ve hoechst (1 µM) boya ilave edilmiştir (λ_{ex} 496 nm; λ_{em} 516 nm). Elde edilen

görüntülerden ImageJ programıyla canlı ve ölü hücreler hesaplanmıştır. Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir. Canlılık ve ölü hücre oranları Canlılık ve ölü hücrelerin yüzde hesaplaması için aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

$$\%Canlı\ hücre\ oranı = \frac{canlı\ hücre\ sayısı}{toplam\ hücre\ sayısı} \times 100$$

$$\%Ölü\ hücre\ oranı = (ölü\ hücre\ sayısı)/(toplam\ hücre\ sayısı) \times 100$$

3.2.10. Mitokondri Membran Potansiyeli

Uygulama yapılan hücrelerdeki mitokondriyal membran potansiyelindeki değişiklikleri göstermek için ve mitopotential assay kit kullanılmıştır. Protokol kitinde belirtilen şekilde negatif ve pozitif kontroller hazırlanmıştır. MitoPotential Dye 1: 1000'i 1X Assay Buffer ile seyrelterek MitoPotential çalışma solüsyonunu hazırlanmıştır. Hücreler 350 µl Tripsin-Edta ile kaldırılmıştır. 100 µL hücreye 95 µL MitoPotential çalışma solüsyonu eklenerek 20 dakika 37°C'de %5 CO₂' de inkübe edilmiştir. İnkübeden sonra hücrelere 5 µL 7-ADD eklenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Muse Cell Analyzer'da analiz edilmiştir (Ru ve diğerleri, 2019). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir.

3.2.11. Laktat Dehidrogenaz Aktivite Analizi

Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine kuersetin ve lazer uygulamasından 24 saat sonra sitoplazmik zarın bütünlüğünü değerlendirmek için LDH aktivite analizi yapılmıştır. Deney gruplarının kültür medyumlarından çalışılmıştır. LDH kitinde belirtildiği protokol uygulanmıştır. NADH'ın standart eğrisi çizdirilerek deney gruplarının B miktarları hesaplanmıştır. Deney gruplarından kültür medyumları alınarak Substrate Mix ile karıştırılarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek Mikro plate okuyucuda 450 nm'de absorbans analizi yapılmıştır (Ru ve diğerleri, 2019). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir. LDH aktivitesi, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

LDH Aktivitesi = $B \times \text{Örnek dilüsyon faktörü (Reaksiyon zamanı)} \times V$

$B = T(\text{final})$ ile $T(\text{initial})$ arasındaki NADH miktarı (nmol)

$V = \text{kuyucuktaki toplam hacim (ml)}$

3.2.12. Real Time PCR (RT-PCR) Analizi

100 ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerinden oluşan deney gruplarındaki gen GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarını incelemek için RT-PCR testi yapılmıştır. RNA izolasyonu için Nucleospin RNA Plus kitinin protokolüne uygun şekilde gerçekleştirildi. Farklılaştırılan hücrelerden deney grupları oluşturuldu. Kuyucuklardaki medyumlar ortamdaki uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa 350 µl lysis buffer uygulanıp hücreler kaldırıldı. Hücreler gDNA removal columna alınarak 11000g'de 30 saniye santrifüj edilerek genomik DNA uzaklaştırıldı. Süpernatantlar RNA purification column'lara alınarak 100 µl binding solution eklendi ve 11000g'de 15 saniye santrifüj edilerek RNA'ların kolon membranına bağlanması gerçekleştirildi. Her kolon 3 kere kitte bulunan yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra nanodrop cihazında protein miktarları kontrol edildi. RNA'dan cDNA'ya çevirmek için OneScript Plus cDNA Synthesis Kit kullanıldı. Protokolde belirtilen karışım hazırlanarak kolonlara eklendi. 55°C'de 15 dakika, 85°C'de 5 dakika inkübe edildi. İnkübenin akabinde BlasTaq 2X qPCR MasterMix kiti kullanılarak pcr analizi gerçekleştirildi (Seven ve diğerleri, 2020). Tüm deneyler 3 kere tekrar edilmiştir. Kullanılan primer dizileri Tablo 6'da verilmiştir. GAPDH housekeeping gen olarak kullanılmıştır. Gen ekspresyonları $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine ile hesaplandı (Bachman, 2013).

Tablo 6. Primer dizileri.

GAP-43 primeri:	F: 5'-GGAATAAGGATCCGAGGAGGAAAGGAG-3' R: 5'-CTTAAAGTTCAGGCATGTTCTTGGT-3'
Synapsin I primeri:	F: 5'-CAGGGTCAAGGCCGCCAGTC-3' R: 5'-CACATCCTGGCTGGGTTTCTG-3'
GAPDH primeri: (Housekeeping gen)	F: 5'-TCCCTCAAGATTGTCAGC-3' R: 5'-TCTTCTGAGTGGCAGTGAT-3'

3.2.13. İstatistiksel Analiz

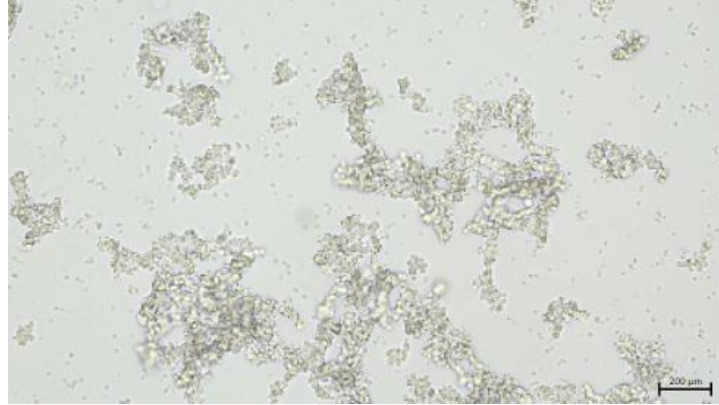
Gruplar arasında tüm parametrelerin karşılaştırılmasında, verilerin normal dağılıma uyduğu tespit edilginde en az iki grup arasında herhangi bir farklılığın olup olmadığını test etmek için “tek yönlü varyans analizi” (one-way ANOVA) yöntemi uygulanmış olup, en az iki grup arasında anlamlı bir farklılığın tespit edildiği değerlerde post-hoc test olarak Tukey testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık *, #, ^, +: $p \leq 0,05$, **, ##, ^^, ++: $p \leq 0,01$, ***, ###, ^^, +++: $p \leq 0,001$ şeklinde ifade edildi. Değerlendirmelerde farklılığı $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Sayısal değerlerin tümü aritmetik ortalama \pm standart hata olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

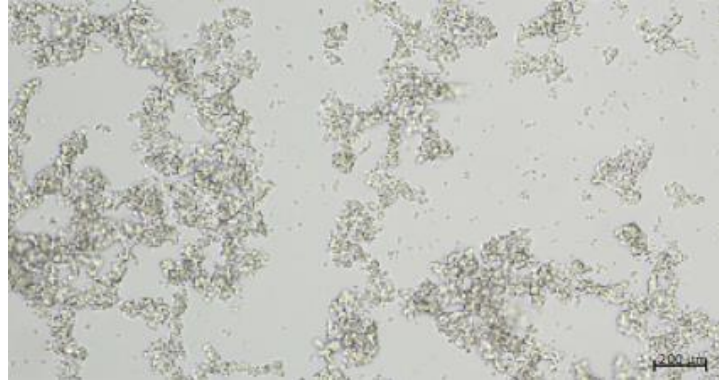
4.1. Hücre Çoğaltılması ve Farklılaştırılması

PC12 hücreleri süspanse halde iken T-75 flaskta çoğaltılmıştır. Hücrelerin canlılık durumlarını takip etmek için haftada 1 kere ışık mikroskopunda ve HO/PI boya ile flüoresans mikroskopunda görüntüleri alınmıştır (Resim 3-4). PC12 hücreleri farklılaştırmak için 100 ng/ml NGF ile inkübe edilen hücrelerin ışık mikroskopunda görüntüleri alınmıştır. Alınan görüntülerde PC12 hücrelerinde farklılaşma olduğu görülmüştür (Resim 5).

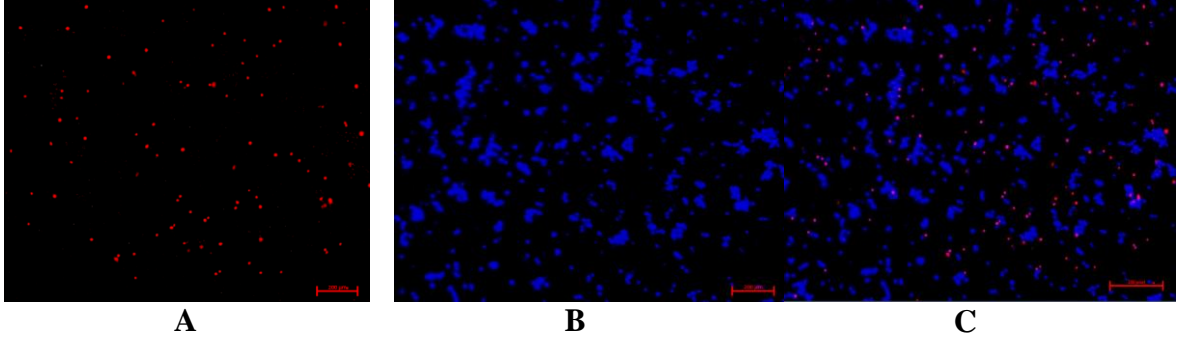
A)



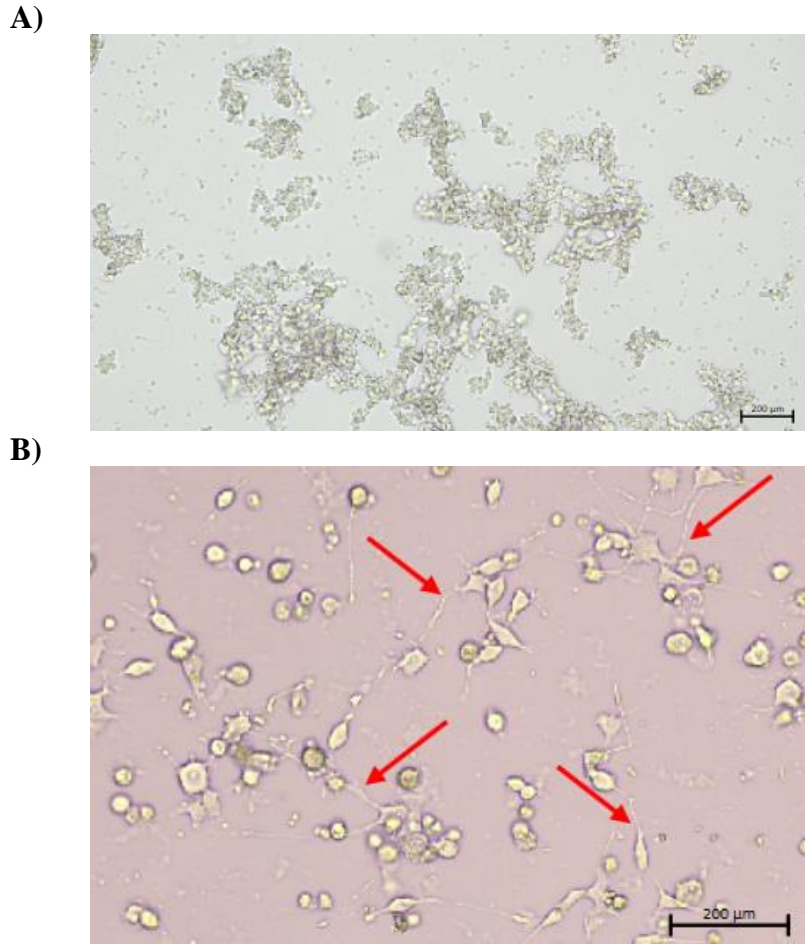
B)



Resim 3. PC12 hücrelerin ışık mikroskobu görüntüleri (10X) A; Düşük Yoğunluk B; Yüksek Yoğunluk.



Resim 4. PC12 hücrelerinin flüoresans mikroskopunda HO/PI görüntüleri (10X) A; PI görüntüleri B; Hoest görüntüleri C; HO/PI merge.



Resim 5. Farklılaştırılmamış (A) ve farklılaştırılmış (B) PC12 hücrelerinin ışık mikroskop görüntüleri (10X). Kırmızı oklar NGF ile farklılaşmış hücreleri göstermektedir.

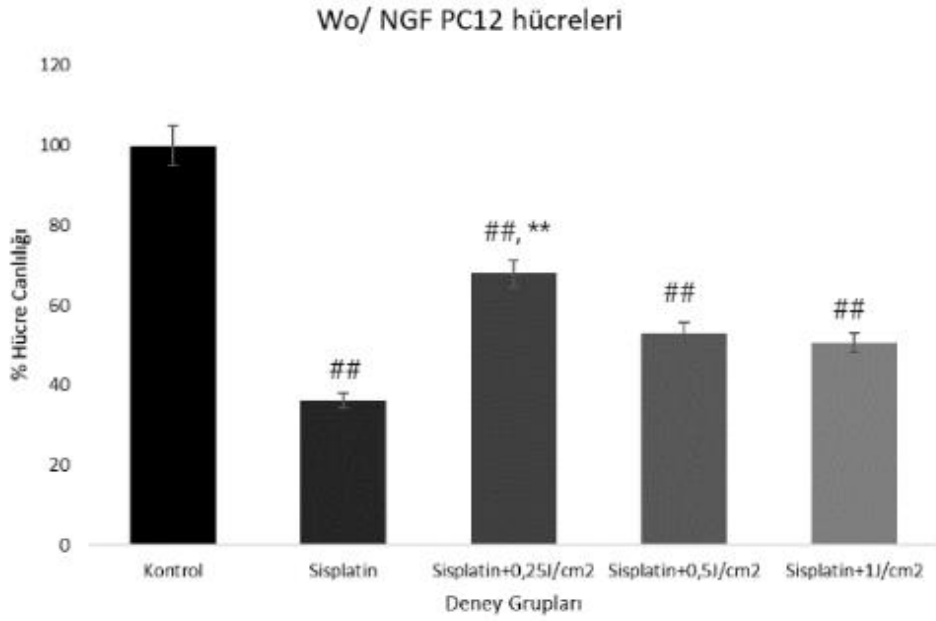
4.2. Matrijel Oranı

PC12 hücreler süspansiyon özelliğinde olması nedeniyle plakalar farklı oranlarda matrijel ile yüzeyleri kaplanmıştır. Yüzeyi kaplanan hücreler 24 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübeden sonra hücreler hoechst ile boyanıp flüoresans mikroskopunda canlılık görüntüleri alınarak plate yüzeyine tutunma oranları karşılaştırılmıştır. En iyi tutunma oranı 1:50 oranında olduğu tespit edilmiştir.

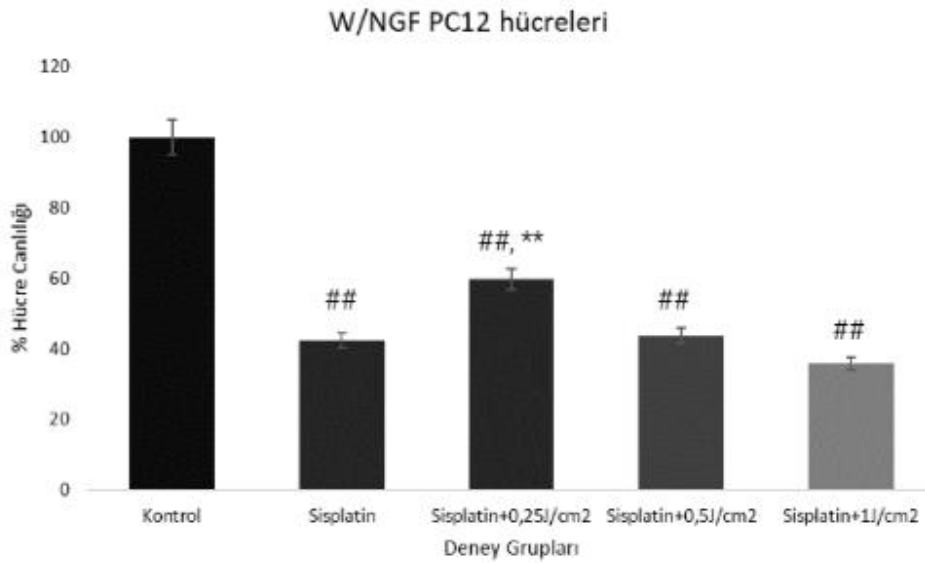
4.3. Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Dozunun Belirlenmesi

16 µM sisplatin uygulanan kemoterapi ile indüklenmiş periferik modeli oluşturulan farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinden ön deney ile kuersetin ve düşük seviyeli lazer dozları belirlenmiştir. Ön deneylerde kuersetin için 3, 10, 30, 100, 500 µM ve düşük seviyeli lazer dozu için 0.25, 0.5, 1 J/cm² uygulanmıştır. Uygulama yapılan gruplara MTT testi ile hücre canlılığı analizi yapılmıştır. Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerindeki lazer doz belirleme sonuçlarına göre 16 µM sisplatin ile model oluşturulan hücrelere 0,5 ve 1 J/cm² lazer dozunun sadece model oluşturulan grup arasında istatistiksel olarak hiçbir fark olmadığı ancak 0,25J/cm² lazer dozu ile arasında önemli bir fark olduğu saptanmıştır (p<0.01). Bu sebeple lazer dozu 0,25 J/cm² seçilmiştir (Şekil 11-12).

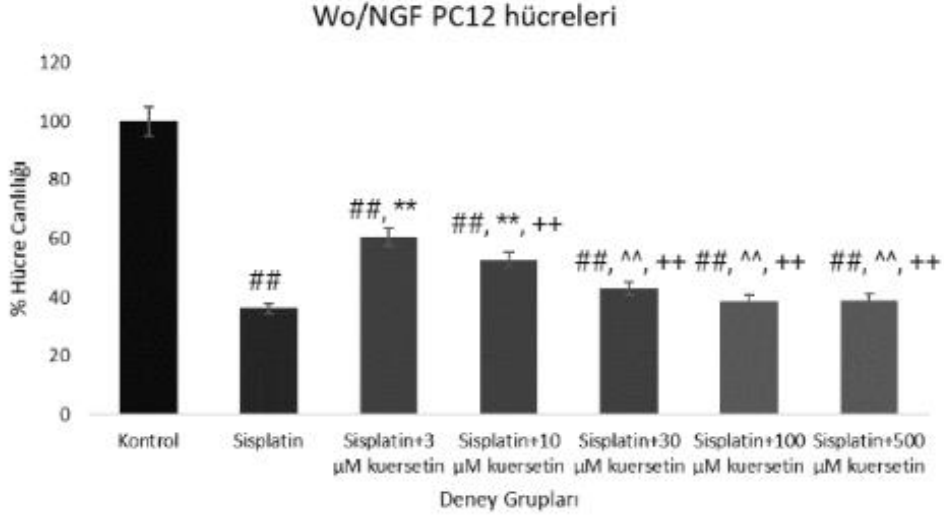
16 µM sisplatin uygulanan kemoterapi ile indüklenmiş periferik modeli oluşturulan farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine uygulanan kuersetinin hücre canlılığı sonuçlarına göre 3 µM kuersetin dozu ile sadece sisplatin ile model oluşturulan grup arasında önemli bir fark olduğu bulunmuştur (p<0.01). Ancak 10-30-100-500 µM kuersetin dozları sisplatin ile model oluşturulan grup arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ayrıca 500 µM kuersetin uygulanan hücreler ışık mikroskopunda incelendiğinde reaktif oksijen radikalleri oluştuğu görülmüştür. Bu nedenle kuersetin dozu olarak 3 µM seçilmiştir (Şekil 13).



Şekil 11. Farklılaştırılmamış PC12 hücre hattında düşük seviyeli lazer doz ön denemeleri (##; kontrol ile diğer grupları arasında farklar ($p<0,01$), **; sisplatin ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p<0,01$)).



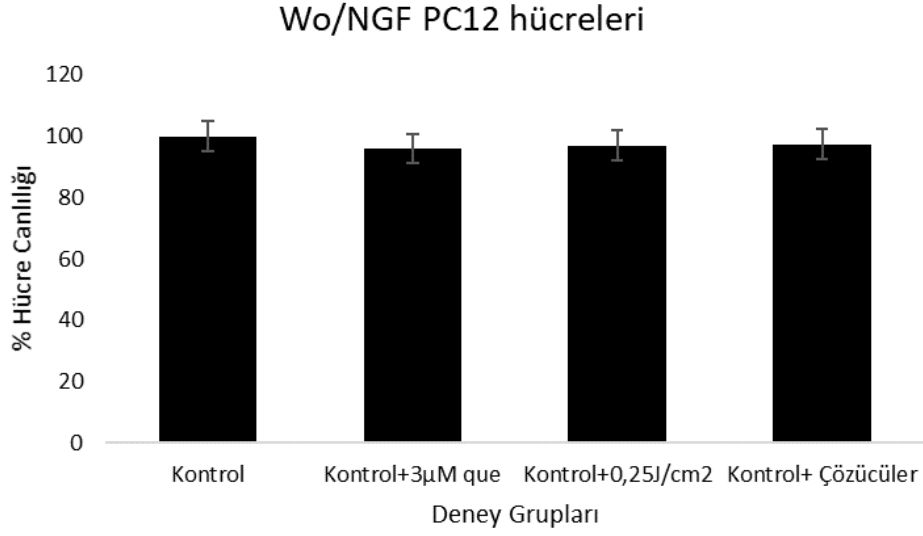
Şekil 12. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre hattında düşük seviyeli lazer doz ön denemeleri (##; kontrol ile diğer grupları arasında farklar ($p<0,01$), **; sisplatin ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p<0,01$)).



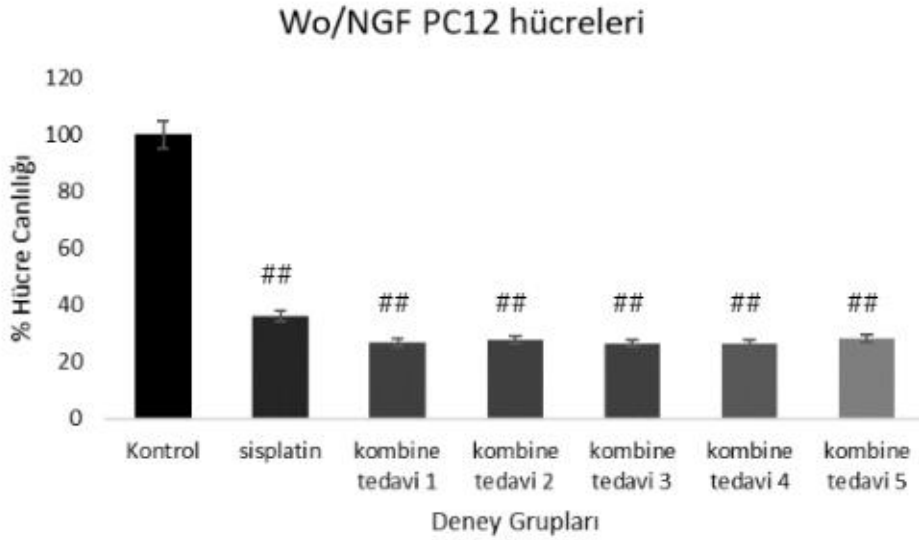
Şekil 13. Farklılaştırılmamış kuersetin doz ön (##; kontrol ile diğer grupları arasında farklar ($p < 0,01$), **; sisplatin ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0,01$), ++; sisplatin+3 µM kuersetin ile diğer kuersetin dozları arasındaki farklar ($p < 0,01$)).

4.4. Sisplatin ile İndüklenmiş Periferik Nöropati Modelinde Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Kombine Tedavinin Hücre Canlılığı Analizi

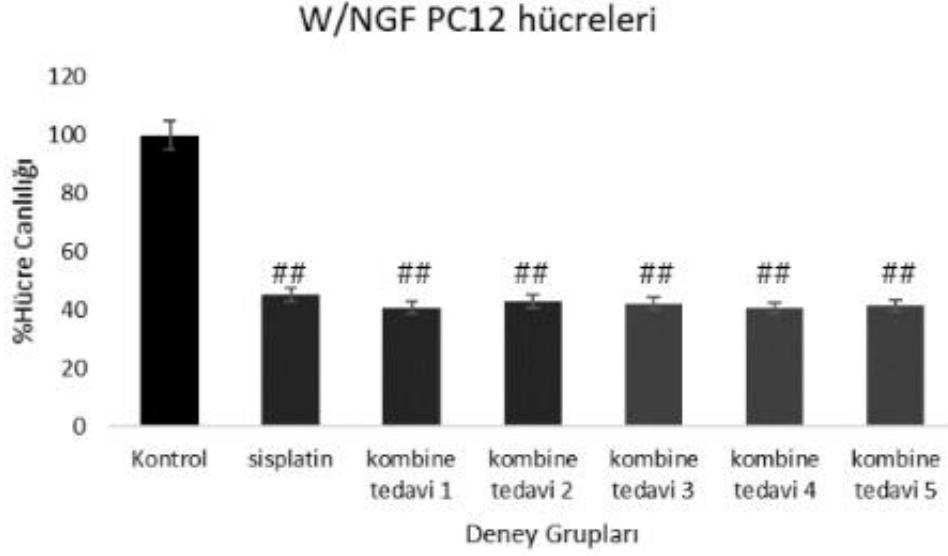
16 µM sisplatin ile kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulan farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelerine ön deneylere belirlenen 3 µM kuersetin uygulaması yapılmıştır. Kuersetin uygulamasından sonra hücreler 0, 10, 20, 30, 40 dakika 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübemin akabinde hücreler 0,25 J/cm² lazere maruz bırakılmıştır. 24 saat boyunca 37 ° C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. Lazer uygulaması karanlıkta ve plate'in 5 cm altından uygulanmıştır. 24 saatlik İnkübeden sonra hücre canlılığı yapılmıştır. MTT sonuçlarına göre kontrol grubuna uygulanan ve ön deneylerle belirlenen kuersetin, lazer dozlarının ve çalışmada kullanılan çözücülerin kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 14). 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerdeki kontrol grup ile sisplatin grupları arasında önemli bir fark bulunmuştur ($p < 0,01$). Ancak sisplatin grubu ile kombine tedavi grupları arasında bir fark bulunamamıştır. (Şekil 15). Ancak farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde kontrol grubu sisplatin grubu ve kombine tedavi uygulanan grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunurken sisplatin grubu ve kombine tedavi uygulanan grup arasında bir fark bulunamamıştır (Şekil 16).



Şekil 14. DSLT, kuersetin ve çözücülerin PC12 hücrelerine etkisi.



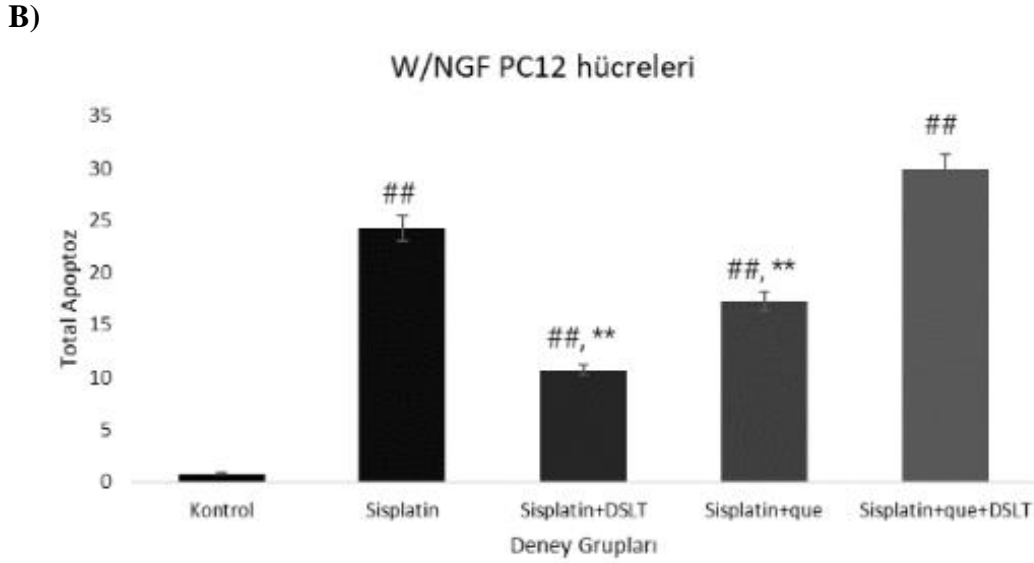
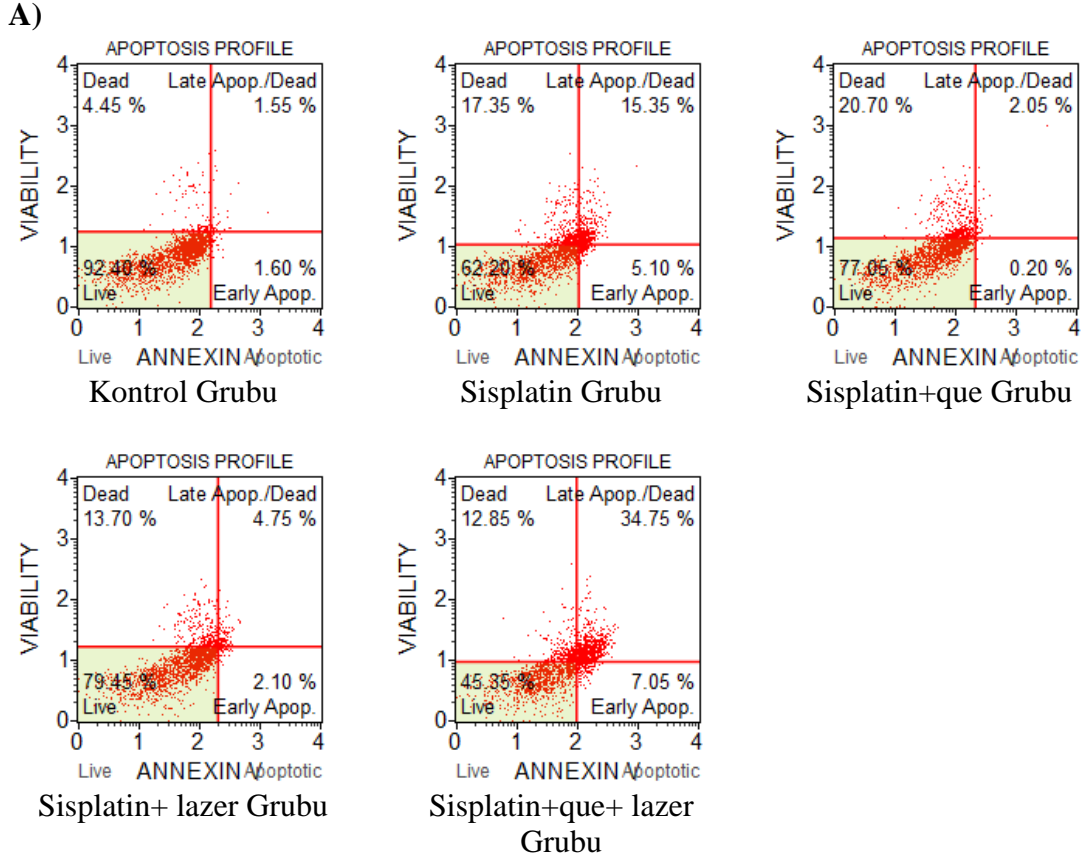
Şekil 15. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde uygulanan kombine tedavinin (3 µM que ve 0,25 J/cm² DSLT) hücre canlılığı üzerine etkisi. Kombine tedavi 1; 0. Dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 2; 10. Dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 3; 20 dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 4: 30 dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 5: 40 dakika kuersetin inkübesi (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar (p<0.01)).



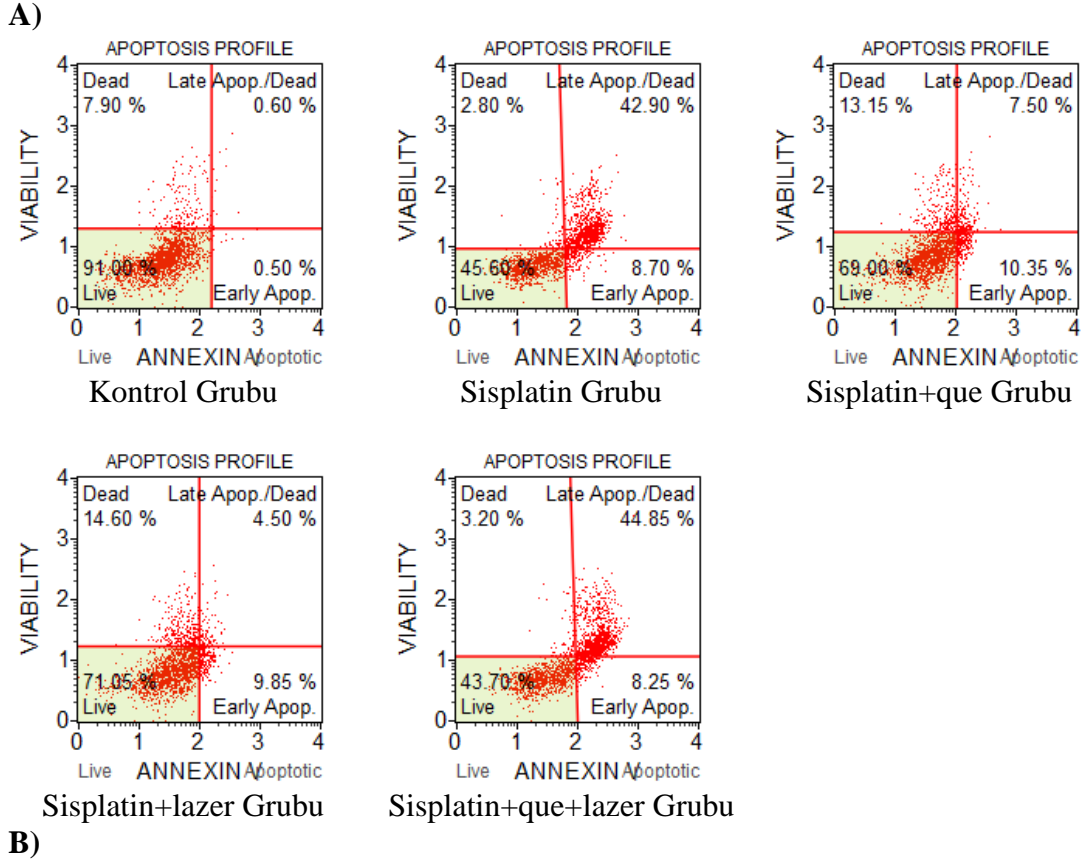
Şekil 16. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücrelerine uygulanan kombine tedavinin (3 μ M que ve 0,25 J/cm² DSLT) hücre canlılığı üzerine etkisi Kombine tedavi 1; 0. Dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 2; 10. Dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 3; 20 dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 4: 30 dakika kuersetin inkübesi, kombine tedavi 5: 40 dakika kuersetin inkübesi (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki fark (p<0.01)).

4.5. Apoptoz Analizi

16 μ M sispilin ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulan farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelerine 3 μ M kuersetin ve 0,25 J/cm² uygulaması yapılarak 24 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂' de inkübe edilmiştir. İnkübenin akabinde Muse apoptosis&dead kitiyle analiz yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre hem farklılaştırılmamış hem de farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde en fazla total apoptoz oranı sispilin grubu ve kombine tedavi uygulanan grupta görülürken en düşük total apoptoz ise kontrol grupta görülmüştür (Şekil 17-18) (Tablo 7). Sispilin+ que ve sispilin+DSLST gruplarındaki total apoptoz oranı istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır.



Şekil 17. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre hattının Annexin&dead analizi A) deneş gruplarının apoptoz profilleri B) Deneş gruplarının total apoptoz oranları (##; kontrol ile diğler gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$), **; sisplatin ile diğler gruplar arasındaki fark önemli ($p < 0.01$)).



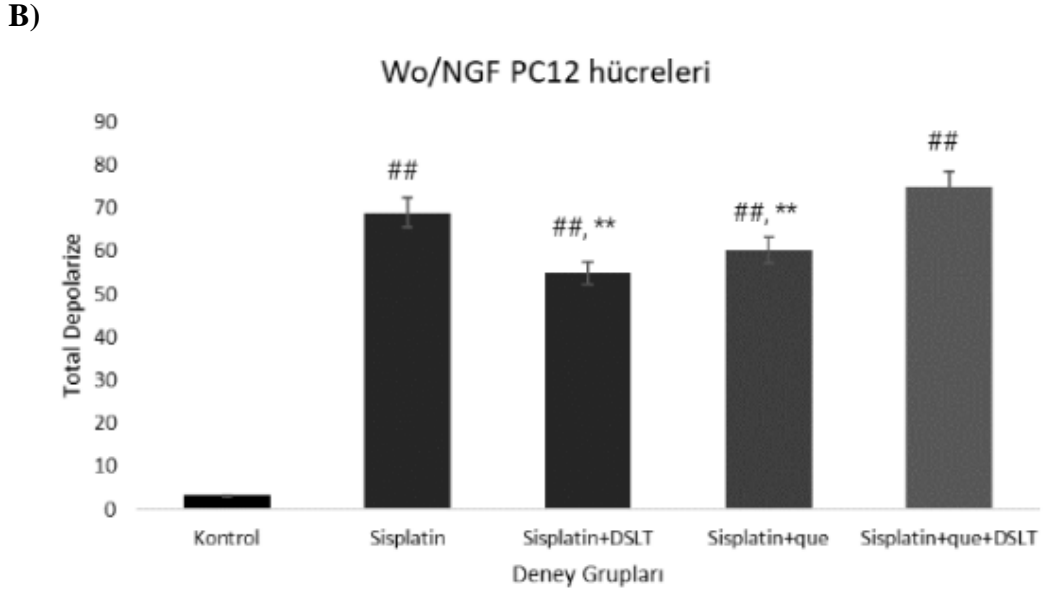
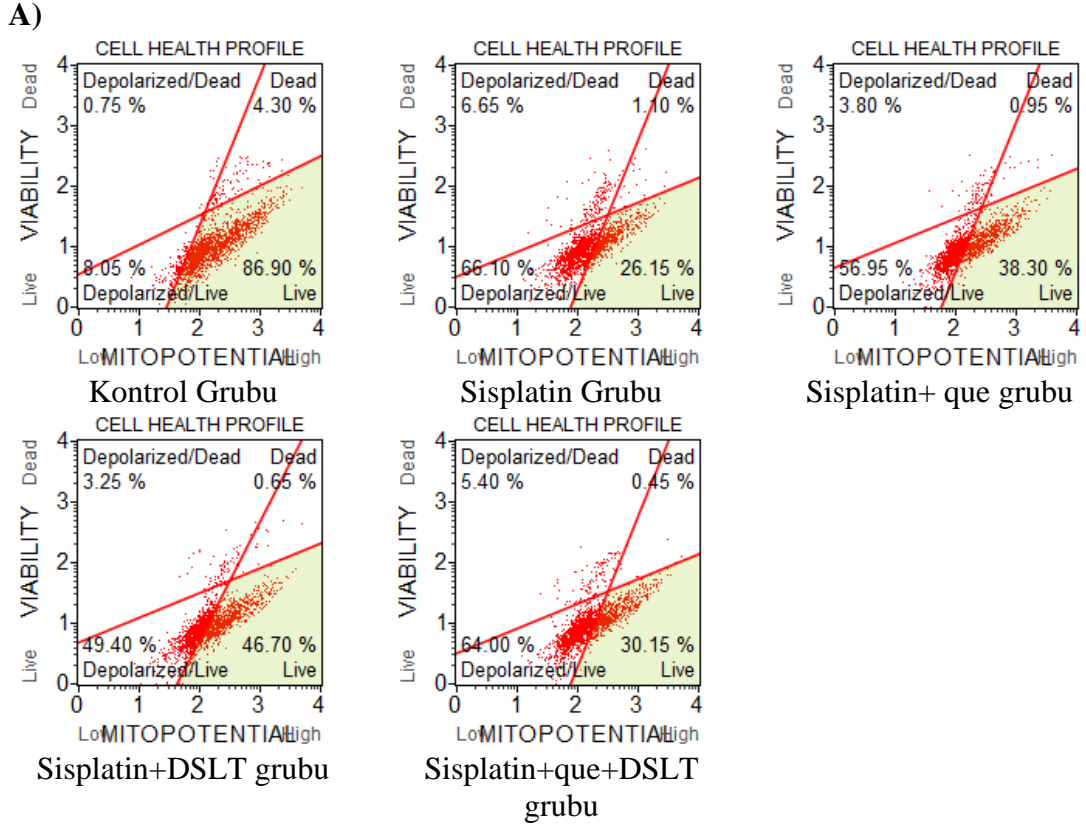
Şekil 18. Farklılaştırılmamış PC12 hücre grubunun Annexin&dead analizi. A) deney gruplarının apoptoz profilleri B) Deney gruplarının total apoptoz oranları (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$), **; sisplatin ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$)).

Tablo 7. Deney gruplarının total apoptoz değerleri.

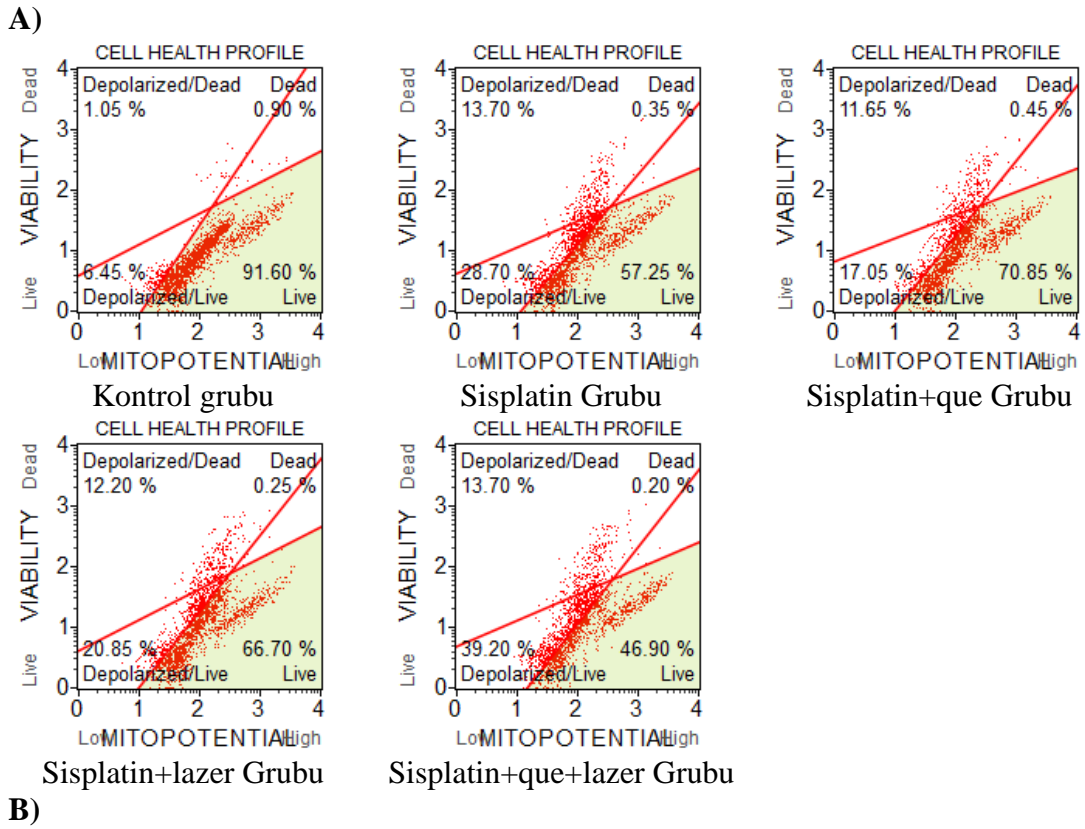
Deney Grupları	PC12 Hücresi	
	Farklılaştırılmamış Hücreler	Farklılaştırılmış Hücreler
Kontrol	0,595±0,213	0,765±0,178
Sisplatin	46,504±8,246	24,210±2,189
Sisplatin + que	20,750±7,475	10,725±0,917
Sisplatin + DSLT	25,175±0,125	17,325±3,115
Sisplatin + que + DSLT	48,764±2,128	29,875±2,149

4.6. Mitokondriyal Membran Potansiyeli Analizi

16 µM sisplatin ile kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulan farklılaşmış ve farklılaşmamış PC12 hücrelerine 3 µM kuersetin ve 0,25 J/cm² uygulaması yapılarak 24 saat boyunca 37°C %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübenin akabinde Muse Mitopotential kitiyle analiz yapılmıştır (Şekil 19-20) (Tablo 8). Farklılaştırılmamış ve farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde en fazla total depolarize sisplatin grubu ve kombine tedavi grubunda, en düşük ise kontrol grubunda olduğu bulunmuştur. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde sisplatin+3 µM kuersetin grubu ile sisplatin+0,25J/cm² grubu arasında ve sisplatin grubu ile kombine tedavi grubu arasında kayda değer bir fark bulunmamıştır. Ancak sisplatin grubu ile sisplatin+3 µM kuersetin ve sisplatin+0,25J/cm² grupları arasında önemli bir fark saptanmıştır (Şekil 19) (Tablo 8). Farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde ise total depolarize de tüm deney grupları arasında istatistiksel olarak fark olduğu görülmüştür (p<0.01) (Şekil 20) (Tablo 8).



Şekil 19. Farklılaştırılmamış PC12 hücre grubunun Mitopotential analizi. A) Deney gruplarının cell healthy profilleri B) deney gruplarının total depolarize oranları (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$), **; sisplatin ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$)).



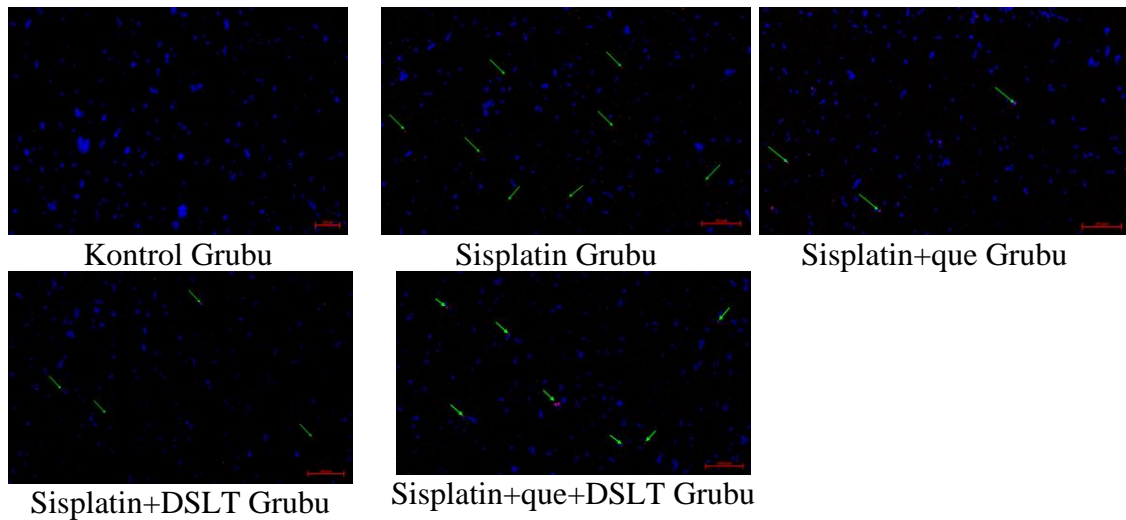
Şekil 20. 100ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücre grubunun Mitopotential analizi. A) Deney grupların cell healthy profilleri B) deney grupların total depolarize oranları (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki fark ($p < 0.01$), **; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki fark ($p < 0.01$), ++; sisplatin+DSLIT ile diğer uygulamalar arasındaki fark ($p < 0.01$), ^^; sisplatin+que ile diğer uygulamalar arasındaki fark ($p < 0.01$)).

Tablo 8. Deney gruplarının total depolarize değerleri.

Deney Grupları	PC12 Hücreleri	
	Farklaştırılmamış Hücreler	Farklaştırılmış Hücreler
Kontrol	3,208±0,292	6,033±1,227
Sisplatin	68,788±1,271	44,312±0,751
Sisplatin + que	60,121±0,054	26,750±1,161
Sisplatin + DSLT	54,833±1,550	35,125±1,410
Sisplatin + que + DSLT	74,850±3,525	51,017±1,224

4.7. Flüoresans Görüntüleri

PC12 hücre hattındaki deney grupların nöronal hücre ölümü ve canlılığı değerlendirmek için HO/PI boyaması yapılarak Axiocam 208 kamera ekli ZEISS Axio Vert.A1 invert mikroskop ile görüntüler alınmıştır. Görüntüler 10X büyütme oranında alınmıştır (Resim 6). Analiz sonuçlarına göre %canlı hücre oranı en fazla kontrolde görülürken en düşük ise sisplatin ve kombine tedavi gruplarında görülmüştür (Tablo 9). Sisplatin+3 μ M ve sisplatin+0,25J/cm² grupları sisplatin grubundan daha fazla canlı hücre oranı olduğu saptanmıştır. İstatiksel olarak sisplatin ve kombine tedavi grupları arasında kayda değer bir fark bulunmamıştır. Ancak diğer grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (Şekil 21a). Yüzde ölü hücre oranında ise en düşük kontrol grubunda, en yüksek ise sisplatin ve kombine tedavi grubunda olduğu saptanmıştır (Şekil 21b).

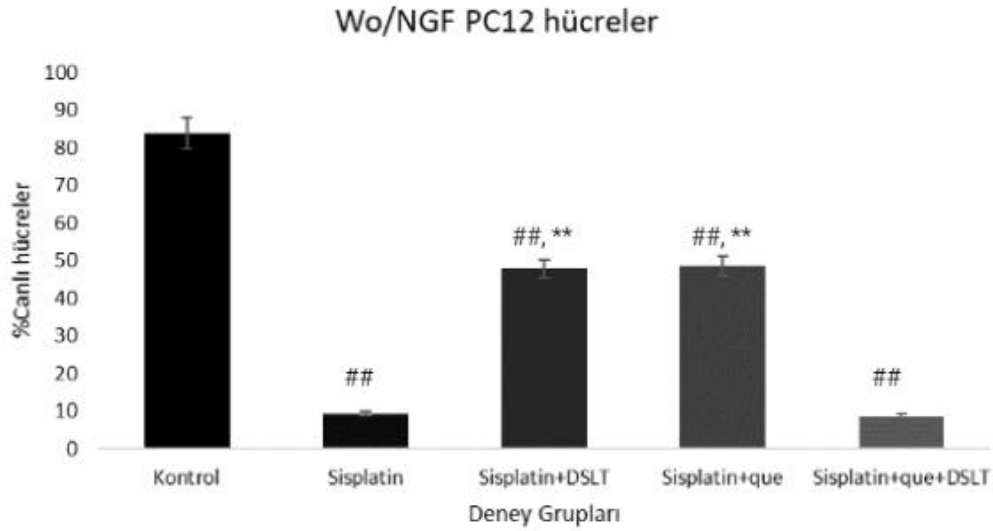


Resim 6. Deney gruplarının HO/PI boyası ile flüoresans mikroskop görüntüleri (10X) Yeşil oklar ölü hücreleri göstermektedir.

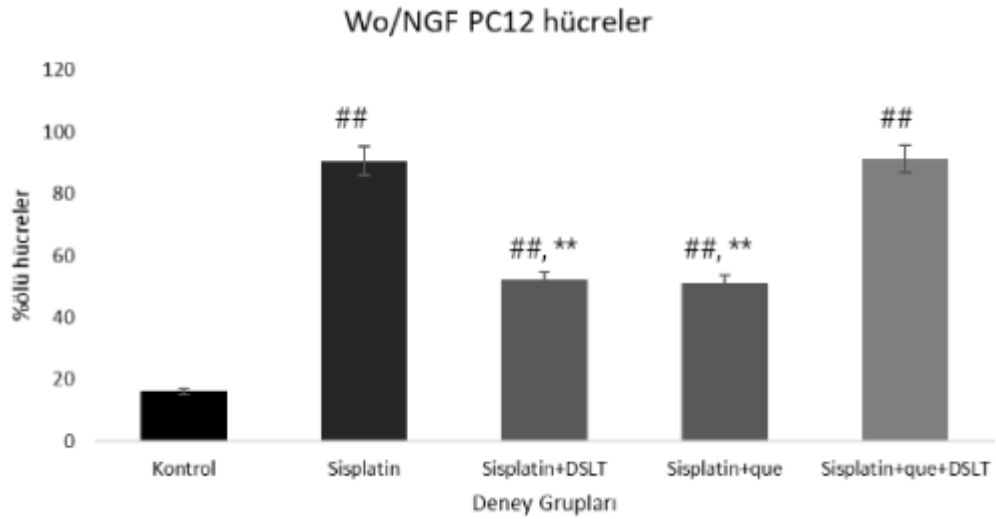
Tablo 9. Deney Gruplarının HO/PI değerleri.

Deney Grupları	Farklaştırılmamış Hücreler PC12 Hücreleri	
	%Ölü Hücre	% Canlı Hücre
Kontrol	16,089±5,196	83,818±5,111
Sisplatin	90,617±1,531	9,383±1,531
Sisplatin + que	52,166±1,665	47,834±1,665
Sisplatin + DSLT	51,429±1,064	48,571±1,064
Sisplatin + que + DSLT	91,234±0,915	8,766±0,915

A)



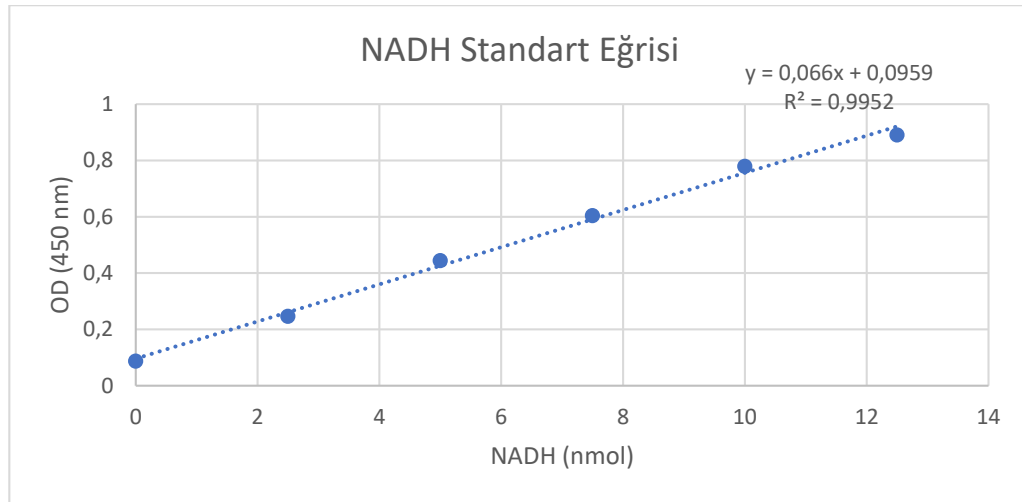
B)



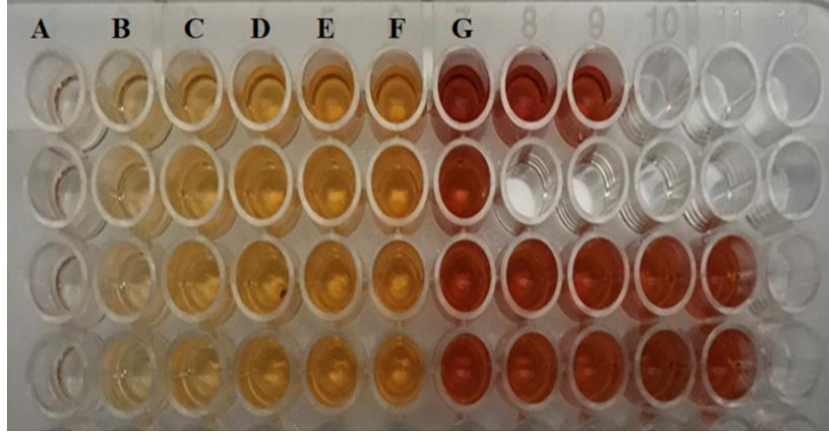
Şekil 21. HO/PI boyası ile flüoresans mikroskopunda görüntüleri alınmış deney gruplarının %canlı ve ölü hücre oranları A) %canlı hücre oranı B) %ölü hücre oranı (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p<0.01$), **; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki farklar ($p<0.01$)).

4.8. Laktat Dehidrojenaz Aktivitesi Analizi

Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine 16 µM sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulduktan 24 saat sonra 3 µM kuersetin ve 0,25 J/cm² uygulaması yapılarak 24 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂'de inkübe edilmiştir. İnkübeden sonra gerçekleştirilen analiz sonucunda elde edilen NADH standart eğrisi yardımıyla örnekler içerisindeki NADH miktarına bağlı olarak örneklerdeki laktat dehidrojenaz aktivitesi belirlenmiş ve hesaplamalar gerçekleştirilmiştir (Şekil 22) (Resim 7). Hem farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde en fazla LDH aktivitesi sisplatin ve kombine tedavi gruplarında görülmüştür (Tablo 10). En düşük LDH aktivitesi kontrol grupta olduğu saptanmıştır. İstatiksel olarak sisplatin ve kombine tedavi grupları arasında kayda değer bir fark görülmemesine rağmen bu gruplar sisplatin+que ve sisplatin+DSLTL grupları arasında önemli bir fark olduğu görülmüştür (Şekil 23-24).



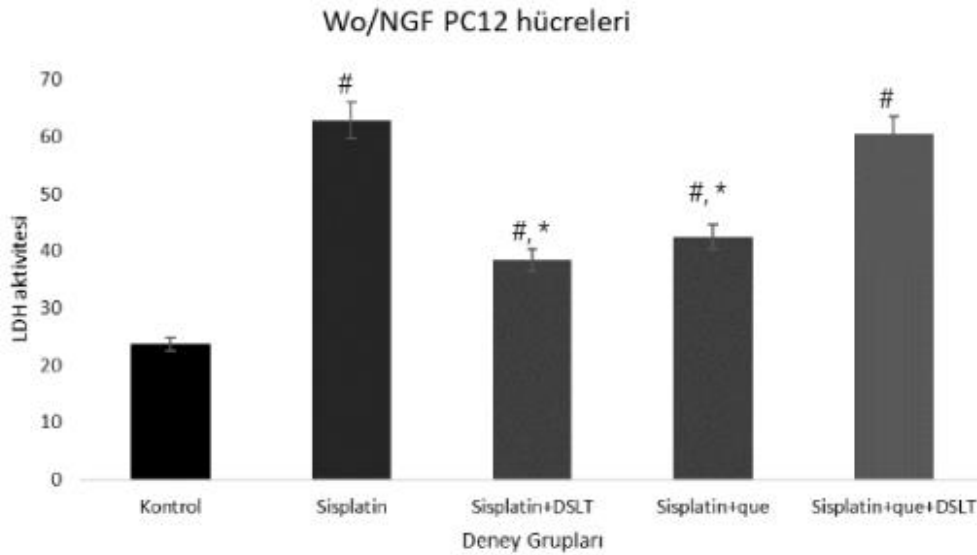
Şekil 22. NADH standart eğrisi.



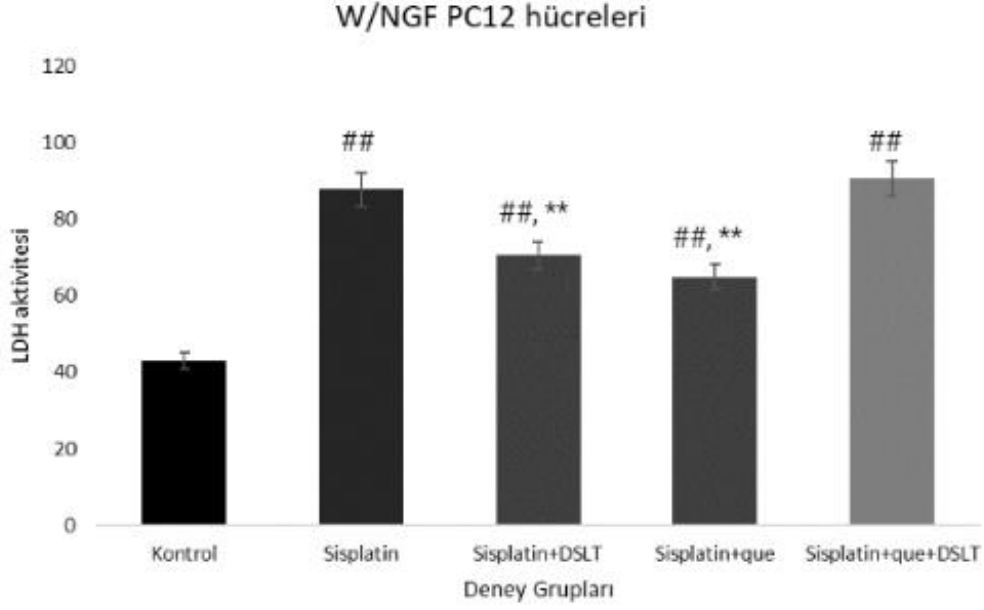
Resim 7. NADH kolorimetrik ölçüm plate A; 0 (Blank) nmol, B; 2.5 nmol, C; 5.0 nmol, D;7.5 nmol, E; 10.0 nmol, F; 12.5 nmol, G; pozitif kontrol.

Tablo 10. Deney gruplarının LDH aktivite değerleri.

Deney Grupları	PC12 Hücreleri	
	Farklılaştırılmamış Hücreler	Farklılaştırılmış Hücreler
Kontrol	23,721±1,394	43,157±2,051
Sisplatin	62,821±8,245	87,838±8,116
Sisplatin + que	38,410±7,611	70,704±7,100
Sisplatin + DSLT	42,463±10,106	64,976±6,426
Sis + que + DSLT	60,476±13,928	90,784±10,583



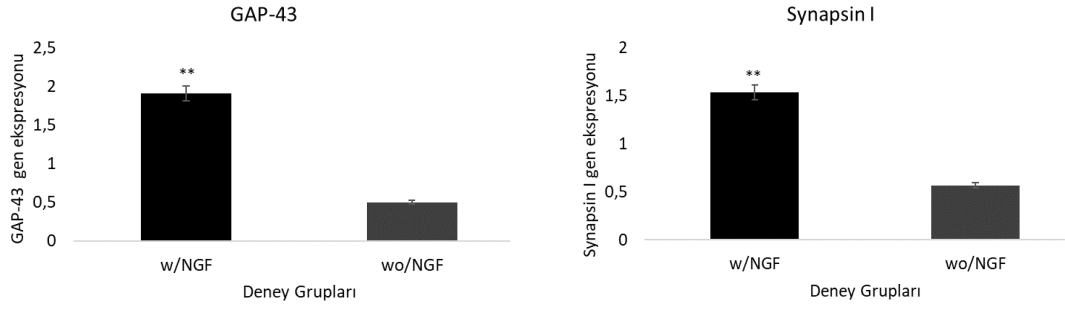
Şekil 23. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerin LDH analiz sonuçları (#; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.05$), *; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki farklar ($p < 0.05$)).



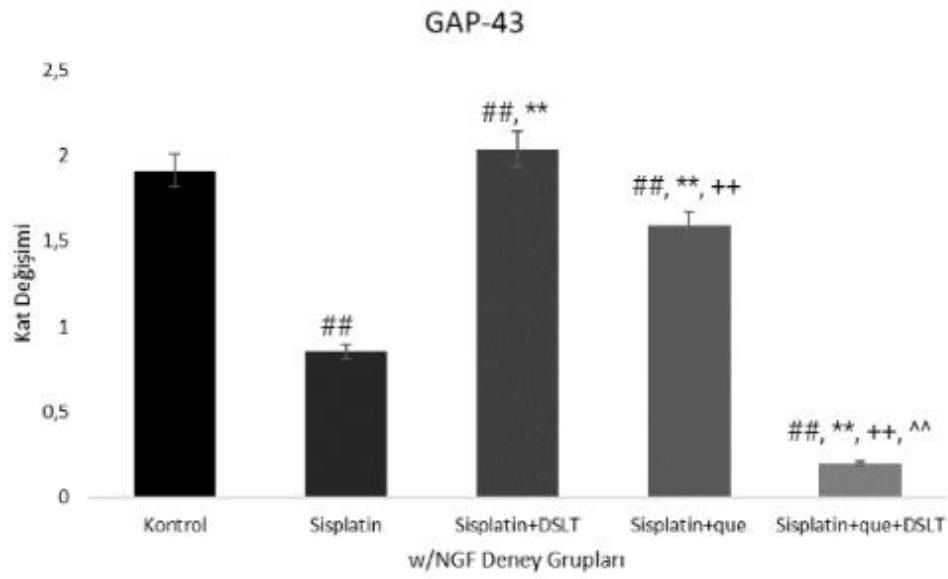
Şekil 24. Farklılaştırılmış PC12 hücrelerin LDH analiz sonuçları (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$), **; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki farklar ($p < 0.01$),

4.9. RT-PCR

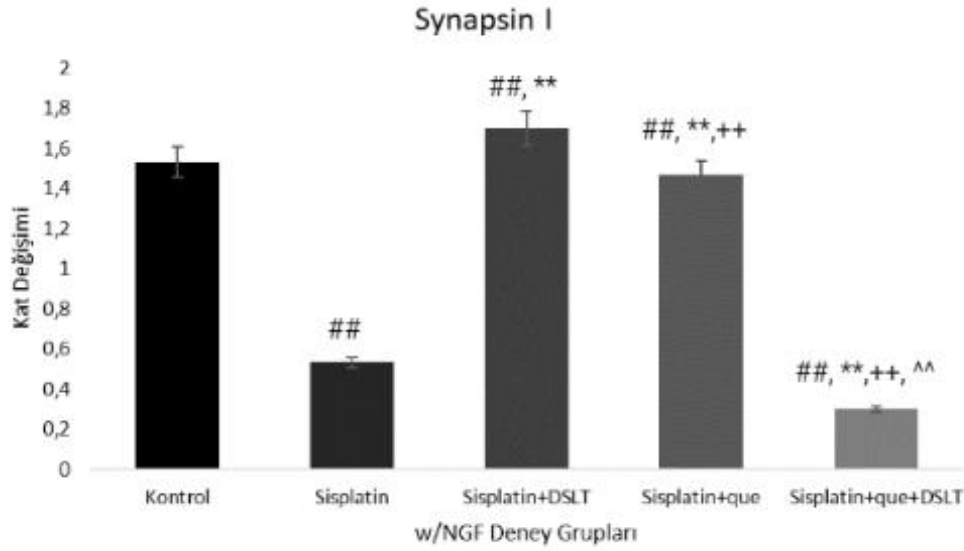
PC12 hücrelerin NGF ile farklılaşmayı gözlemlemenin yanı sıra farklılaşmış ve sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulan PC12 hücrelerine tedavi amaçlı uygulanan kuersetin, düşük seviyeli lazer tedavisinin GAP-43 ve Synapsin I genleri üzerine etkisini belirlemek için RT-PCR analizi yapılmıştır (Tablo 11). Elde edilen sonuçlar $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile hesaplandı. Analiz sonucunda NGF ile farklılaştırılan hücrelerinin farklılaştırılmayan hücrelere kıyasla GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarının daha fazla olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.01$) (Şekil 25). NGF ile farklılaştırılan PC12 hücre deney gruplarının RT-PCR analizi sonuçları 16 μ M sisplatinin hem GAP-43 hem de Synapsin I genlerinin ekspresyonlarını önemli ölçüde azalttığını göstermektedir (Şekil 26-27) ($p < 0.01$). Ayrıca sisplatin+que ve sisplatin+DSLTL deney grupları sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarının daha yüksek ifade edildiği saptanmıştır. ($p < 0.01$).



Şekil 25. PC12 hücrelerinde GAP-43 ve Synapsin I genlerinin ekspresyonu (**: $p < 0.01$).



Şekil 26. Farklılaştırılmış PC12 hücre deney gruplarının GAP-43 gen ekspresyonu (##; kontrol ile diğer gruplar arasındaki farklar ($p < 0.01$), **; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki farklar ($p < 0.01$), ++; sisplatin+DSLIT ile diğer uygulamalar arasındaki farklar ($p < 0.01$), ^^; sisplatin+que ile diğer uygulamalar arasındaki farklar ($p < 0.01$)).



Şekil 27. Farklılaştırılmış PC12 hücre deneş gruplarının Synapsin I gen ekspresyonu (##; kontrol ile diğér gruplar arasındaki farklar ($p<0.01$), **; sisplatin ile tedavi uygulamaları arasındaki farklar ($p<0.01$), ++; sisplatin+DSLIT ile diğér uygulamalar arasındaki farklar ($p<0.01$), ^^; sisplatin+que ile diğér uygulamalar arasındaki farklar ($p<0.01$)).

Tablo 11. Deneş grupların GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonları

Deneş Grupları	GAP-43	
	Farklılaştırılmış Hücreler	Farklılaştırılmamış Hücreler
Kontrol	1,913±0,173	0,500±0,000
Sisplatin	0,853±0,019	
Sisplatin + que	2,040±0,040	
Sisplatin + DSLIT	1,593±0,253	
Sisplatin + que + DSLIT	0,200±0,012	
Deneş Grupları	Synapsin I	
	Farklılaştırılmamış Hücreler	Farklılaştırılmamış Hücreler
Kontrol	1,533±0,393	0,567±0,033
Sisplatin	0,533±0,088	
Sisplatin + que	1,700±0,000	
Sisplatin + DSLIT	1,467±0,067	
Sisplatin + que + DSLIT	0,367±0,088	

5. TARTIŞMA

Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati modelinde kuersetinin ve düşük seviyeli lazer kombine tedavisinin farklılaştırılmamış ve NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerde meydana gelen hasarın ne ölçüde olduğunu belirten çalışmalar oldukça sınırlıdır. Sisplatin ile indüklenen periferik nöropatinin tedavisi ilgili yapılan çalışmalarda kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisi tek başına uygulanarak tedavinin etkinliği incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında, farklılaşmamış ve NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulmuştur. Model oluşturulan gruplarda kuersetinin ve düşük seviyeli lazer tedavisinin etkileri araştırılmıştır.

Sıçan böbrek üstü kökenli PC12 hücre hattına sinir büyüme faktörü uygulandığında hücreler farklılaşmaktadır. Wiatrak ve diğerleri (2020) yaptıkları çalışmada PC12 hücre hattına 50 ng/ml ve 100 ng/ml sinir büyüme faktörü uygulamış ve 3 ile 7 gün arasında olmak üzere farklı zamanlarda inkübe etmişlerdir. Nörit büyüme analizleri sonucunda en iyi nörit büyümenin 100 ng/ml NGF uygulanmış hücrelerde olduğunu saptamışlardır. Ayrıca 100 ng/ml NGF uygulamanın 3. gününden itibaren farklılaşmanın başladığını ve 7. günde tamamlandığını bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında 50 ng/ml ve 100 ng/ml NGF uygulanmış hücreler 3 ile 7 gün arasında inkübe edilmiştir. Canlılık analizlerine göre 100 ng/ml NGF uygulamanın 3. gününde farklılaşmanın başladığı ve canlılık/ölüm oranının diğer günlerle karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görüldü. 50 ng/ml NGF uygulanmış hücrelerde farklılaşmanın daha zaman aldığı ve nörit uzantılarının daha kısa olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, sinir büyüme faktörü (NGF) PC12 hücrelerinde nöronal büyümeyi ve gelişmesini kontrol eden GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarında artışa sebep olmaktadır (Dasgupta ve diğerleri, 2012; Zhong ve diğerleri, 2019). GAP-43 ve Synapsin I genlerinde ekspresyon artışı PC12 hücrelerinde nöronal yapının başarılı bir şekilde oluştuğunun göstergesidir (Das ve diğerleri, 2004).

Çalışma sonucumuzda 100 ng/ml NGF uygulanan hücreler ışık mikroskobu altında incelendiğinde nörit uzantıların 3.günde oluştuğu görüldü. Farklılaştırılan hücreler ile NGF uygulanmayan hücrelere kıyasla daha fazla GAP-43 ve Synapsin I genlerinde ekspresyonlarında artışa sebep olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar literatür çalışmalarıyla paralellik göstermektedir.

Sisplatin gibi platin bazlı kemoterapötik ajanların kullanımı kanser tedavisinde yaygındır. Ancak bu kemoterapötik ajanların periferik sistemde kişinin yaşam kalitesini düşürücü yan etkiler görülmektedir. Kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati (KİPN), tipik olarak distal ekstremitelerde ortaya çıkan ve en uzun aksonlara sahip nöronların artan hassasiyetini gösteren parestezi, uyuşma, yanma ağrısı, sıcaklık duyusu kaybı ve tendon reflekslerinin kaybı gibi simetrik semptomlarla ilişkilidir. Belirtiler önce parmaklarda “çorap ve eldiven” dağılımı ile başlayarak ilerleyen safhalarda kollara ve bacaklara dağılımını takip eder (Acklin ve Xia, 2021). Sisplatin tedavisi alan hastaların yaklaşık olarak %84’unun de bu belirtiler görülmektedir. Ancak KİPN’in patofizyolojisi sisplatin dozuna ve uygulama süresine bağlıdır (Ezzi ve diğerleri, 2019). Sisplatin, mono eklenti olarak DNA yapısına çapraz bağlanarak DNA replikasyonunu inhibe ederek sitokin salınımlarının artmasına ve apoptoz yollarının aktive olmasına neden olmaktadır. Bu sebeple hücrede mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres artışı görülmektedir. Sisplatin, nöronal kökenli hücrelerde ototoksositeye, miyelotoksositeye, nefrotoksositeye sebep olmaktadır (Cavaletti ve diğerleri, 2014; Carozzi ve diğerleri, 2015).

In vivo çalışmalar hücre düzeyinde platin bazlı anti kanser ilaçlarının birikimini ve dağılımını analiz etmek için uygun değildir. Bu sebeple *in vitro* (DRG nöronları, PC12 ve (SH)-SY5Y hücre hatları) çalışmalar KİPN’in moleküler analizi için uygun olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Chua ve Kroetz, 2017; Leisengang ve diğerleri, 2018). Ayrıca PC12 hücre hattı sinir büyüme faktörü (NGF) uygulandığında hücrelerde farklılaşmaya sebep olarak nöron yapısına dönmektedir. Bu sebeple KİPN çalışmalarında PC12 hücre hattı hem primer olarak hem de NGF uygulanarak nöron hücre olarak da tercih edilmektedir. Bu hücrelerde sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati modelinin oluşturulmasının belirtisi hücre canlılığının ortalama olarak %40-60 arasında olmasıdır. Ferreira ve diğerleri (2016) yaptıkları çalışmada PC12 hücre hatlarına 1, 5, 10, 20, 50 ve 100 µM sisplatin dozlarını uygulamışlardır. Sitotoksosite sonuçlarına göre 10 µM sisplatin dozundan itibaren önemli ölçüde hücre canlılığında düşme olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 1 ve 5 µM sisplatin dozlarında mitokondriyal disfonksiyona sebep olmadığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Klein ve diğerleri (2007), PC12 hücrelerinde, nörit oluşumunu istatistiksel olarak farklı sisplatin konsantrasyonlarının nörit büyümesini azaltmada en büyük etkinin 10 µM konsantrasyonda elde ettiğini göstermişlerdir. Bu sebeple NGF uygulanmış ve uygulanmamış PC12 hücre hattında KİPN modelinin oluşturulması için 16-32 µM sisplatinin 24 saat 37 °C, %5 CO₂ ortamında inkübe edilme

protokolü genel olarak tutarlı sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Li ve diğerleri, 2015; Li ve diğerleri, 2019; Mendonca ve diğerleri, 2009).

Bu tez çalışmasında farklılaştırılmamış ve NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde KİPN modelini oluşturmak için 16 μ M sisplatin dozu kullanılmış ve 24 saat 37 °C, %5 CO₂ ortamında inkübe edilmiştir. Hücre canlılığı test sonuçlarına göre hücre canlılığı %60 oranında düşme olduğu gösterilmiştir. Bu düşüş ile KİPN modelinin başarılı bir şekilde oluşturulmuştur. Bu sonuçlar literatür çalışma sonuçlarına göre paralellik göstermektedir.

Araştırmalar, doğrudan DNA'ya eklenti yapılar oluşturan sisplatinin hücrelerde mitokondriyal disfonksiyona ve aksonal hasara yol açan mekanizmaları göstermişlerdir (Jaggi ve Singh, 2012). Zhang ve diğerleri (2019) farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine 10 μ M sisplatin uyguladıktan 24 saat sonra flow sitometrede mitokondriyal membran potansiyeli ve apoptoz analizlerini yapmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre mitokondriyal membran potansiyelinde kontrol grubunda %0,77 iken 10 μ M sisplatin uygulanan grupta %19,36 olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca apoptoz analizde total apoptozun kontrol grubunda %2,83, 10 μ M sisplatin grubunda ise %20,25 olduğunu belirtmişlerdir. Rodriguez ve diğerleri (2021), 100 ng/ml NGF ile PC12 hücre hattını farklılaştırmışlardır. Farklılaştırdıkları hücrelere 0.001 μ M-100 μ M sisplatin dozlarını uygulamışlardır. Uyguladıkları gruplarda flow sitometre ile apoptoz analizini gerçekleştirmişlerdir. Kontrol grubunda %20, 16 μ M sisplatin uygulanan grupta %42 total apoptoz oranı olduğunu göstermişlerdir.

Bu tez çalışmasında farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerine uygulanan 16 μ M sisplatin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında total apoptoz ve total depolarize oranları arasında önemli bir fark bulunmaktadır. Farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde kontrol grubunda %5, 16 μ M sisplatin uygulanan grupta %70 ve 100 ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücrelerinde kontrol grubunda %6,03, 16 μ M sisplatin uygulanan grupta ise %44,63 total depolarize oranları bulunmuştur. Total apoptoz analiz sonuçlarına göre farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde kontrol grubu %3, 16 μ M sisplatin uygulanan grupta %46, 100 ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücrelerinde kontrol grubunda %2, 16 μ M sisplatin uygulanan grupta %26 total apoptoz oranları saptanmıştır. Çalışma sonuçları sisplatinin hem primer hem de nöron hücreler üzerinde programlanmış hücre ölümü olan apoptoz ve mitokondri membran potansiyelinin artışına neden olduğunu göstermektedir.

Sisplatin kaynaklı periferik nöropatide mitokondriyal ve genomik DNA'nın hasarına neden olmaktadır. Ancak kesin mekanizma net olarak belli değildir (Carozzi ve diğerleri, 2010). *In vivo* çalışmalarında sisplatin uygulanan gruplarda siyatik sinirin histolojik analizlerle aksonal dejenerasyonu gözlemleyen çalışmalar mevcuttur (Boehmerle ve diğerleri.,2014). Sisplatin tarafından indüklenen aksonal dejenerasyon, nörit büyümesinin inhibisyonu ile *in vitro* olarak gösterilmiştir (Klein ve diğerleri, 2007). PC12 hücrelerinde, mitokondriyal hasara veya apoptoza neden olamayan çok düşük bir sisplatin konsantrasyonu tarafından indüklenir, ancak NGF tarafından indüklenen aksonal plastisiteyi kontrol eden GAP-43 ve Synapsin I gibi aksonal proteinleri aşağı regüle etmektedir (Ferreira ve diğerleri, 2016). Ayrıca *in vitro* olarak sisplatin ile indüklenen periferik nöropatide NGF'nin, DNA eklenti oluşumunu azaltmada ve nöronal apoptozu inhibe ettiği de gösterilmiştir (Aloe ve diğerleri, 2000).

Bu tez çalışmasında, 100 ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücelere 16 µM sisplatin uygulanarak periferik nöropati modeli oluşturulmuştur. Model oluşturulan hücrelerde GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarında önemli ölçüde azalma olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar 16 µM sisplatinin nöronal büyümeyi ve gelişmeyi inhibe ettiğini göstermektedir.

Platin bazlı anti kanser ilaçları dolaylı yoldan membran hasarına sebep olmaktadır. Bu ilaçlar hücrede Na⁺/K⁺ değiştiricinin aktivitesi azaltarak mitokondriyal DNA eklentileri, elektron taşıma zincirinin proteinlerine zarar vermektedir ve böylece oksidatif stresi ve H₂O₂ salınımını artırır (Areti ve diğerleri, 2014). H₂O₂, ROS oluşumuna neden olur ve nöronu demiyelinize eder; ROS, p53 ve Bax salınımına neden olarak nöronal apoptoza yol açar (Salvemini ve diğerleri 2011). Ferreira ve diğerleri (2016) 100 ng/ml NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerini farklı sisplatin konsantrasyonları uygulayarak periferik nöropati modelini oluşturmuşlardır. Sitoplazmik zarın bütünlüğünün kaybını gösteren laktat dehidrogenaz enziminin salınmasını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda sisplatin uygulanmış gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında LDH aktivitesinde artma olduğunu saptamışlardır.

Bu tez çalışmasının LDH analiz sonuçlarına göre en fazla LDH miktarı sisplatin uygulanan grupta olduğu ve sisplatinin hem farklılaşmamış hem de NGF ile farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde sitoplazmik zarın bütünlüğünün kaybına neden olduğu görülmüştür. Literatür çalışmasına paralellik göstermektedir.

Sisplatin, hücresel hasarda rol oynayan süper oksit anyonları, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri üretir, bu da antioksidan tedavinin sisplatin toksisitesine karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Masuda ve diğerleri, 1994; Santos ve diğerleri, 2007). Kuersetin, potansiyel bir nöroprotektif bileşik olarak kabul edilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, *in vitro* ve *in vivo* olarak nörodejenerasyon üzerinde bazı yararlı etkileri olduğunu ortaya koymuştur (Chen ve diğerleri, 2015). Kuersetin, oksidatif stres faktörlerine karşı *in vitro* koruyucu bir etki gösterir (Heo ve Lee, 2004), hücre sağkalımını artırır (Sasaki ve diğerleri, 2003) ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) (Smith ve Luo, 2003), DNA hasarını (Silva ve diğerleri, 2008) ve nöroinflamasyonu (Kraus ve diğerleri, 2007) azaltmaktadır. Ek olarak, çeşitli *in vivo* modellerinde, kuersetin motor fonksiyonunu iyileştirir (Schültke ve diğerleri, 2003), iltihabı azaltır (Kumar ve diğerleri, 2008), oksidatif stresi azaltır (Lu ve diğerleri, 2006) ve nöronal hücre ölümünü baskılar (Pu ve diğerleri, 2007). Bununla birlikte, akson yeniden büyümesi üzerindeki etkileri büyük ölçüde bilinmemektedir.

Kuersetin 'in sisplatin ile indüklenen periferik nöropati'yi önleyici ve nöron koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Ancak kuersetin'in sisplatin ile indüklenen periferik nöropati tedavisinde kullanıldığını dair çalışmalar kısıtlıdır. Azevedo ve diğerleri (2013), Schwingel ve diğerleri (2014) yaptıkları *in vivo* çalışmalarda oksiplatin ile indüklenmiş periferik nöropati de kuersetin, von frey testi, histopatolojik analiz, immünohistokimya analizleri ile yağların yükseltgenmesi sonucu bozulması olan lipid peroksidasyonunu ve tirozin nitrosilasyonunu önlendiğini göstermişlerdir. Benzer şekilde mast hücrelerinde oluşturulan paklitaksel ile indüklenmiş periferik nöropati modelinde nörolojik ağrıyı iyileştirilerek nöron koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Gao ve diğerleri, 2016).

Nöron hücrelerinde kuersetin doza ve inkübasyon süresine bağlı olarak GAP-43 gen ekspresyonunda artışa neden olmaktadır. Bu ekspresyon artışıyla nörit uzantıları tetiklenmektedir (Chen ve diğerleri, 2015). Kuersetin nörit uzantılarını tetiklemenin yanı sıra nöron koruyucu olarak PC12 hücreleri gibi nöron hücrelere uygulandığında hücre canlılığında artışa ve LDH miktarında azalmaya neden olmaktadır (Bao ve diğerleri, 2017).

Bu tez çalışmasında ön deneyinde 16 μ M sisplatin ile KIPN modeli oluşturulan gruplara tedavi amaçlı 3- 10- 30- 100-500 μ M kuersetin uygulanmıştır. Canlılık analizlerine göre 3 μ M kuersetin dozunun KIPN tedavisinde uygun olduğuna karar verilmiştir. Ayrıca 500 μ M yüksek kuersetin dozlarında hücreler arasında ROS yapılarının oluştuğu

görülmüştür. KİPN modeli oluşturulmuş ve 3 µM kuersetin uygulanan gruplar sadece sisplatin ile model oluşturulan gruplar ile karşılaştırıldığında hücre canlılığında artış, apoptoz, mitokondriyal membran potansiyeli, laktat dehidrogenaz aktivite analizlerinde azalmalar görülmüştür. Kuersetin'in sitoplazmik zar bütünlüğünü iyileştirdiği, mitokondriyal disfonksiyonunu ve programlanmış hücre ölümü olan apoptozu engellediği bulunmuştur. 100 ng/ml NGF ile farklılaştırılan PC12 hücrelerinde sisplatin ile periferik nöropati modeli oluşturulan hücre gruplarına tedavi olarak uygulanan kuersetin'in nöronal büyümeyi kontrol eden GAP-43 ve Synapsin I genleri ekspresyonlarında artışa sebep olduğu görülmüştür. Kuersetinin nöronal büyümeyi olumlu olarak etkilediği için KİPN tedavisinde etkin olduğu saptanmıştır.

Fotobiyomodülatör olarak bilinen düşük seviyeli lazer tedavi yara iyileşmesinde, inflamatuvar da azalmada ve ağrı tedavisinde kullanılmasının yanı sıra kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati semptomlarını minimize etmekte de kullanılmaktadır. Düşük seviyeli lazer tedavinin temel mekanizması hala daha net bir şekilde açıklığa kavuşturulamamıştır (Robijns ve diğerleri, 2017). Rosso ve diğerleri (2018), DSLT de 600-780 nm arasındaki dalga boyları nöronal ve aksonal büyümede daha fazla etkili olduğunu belirtmişlerdir. Medalha ve diğerleri (2012), çalışmalarında 660 ve 808 nm, Barbosa ve diğerleri (2010), çalışmalarında 660 ve 830 nm, Gigo ve diğerleri (2010) çalışmalarında 660 ve 780 nm dalga boylarını karşılaştırdıklarında 660 nm 'nin nörondaki fibere ve aksone büyüme konusunda daha fazla etkili olduklarını belirtmişlerdir. Buchaim ve diğerleri (2015) 660 nm dalga boyu, 30 mW enerji çıkışı ve 4 J/cm² düşük seviyeli lazerin vagus sinir rejenerasyonunu arttırdığını belirtmişlerdir. Takhtfooladi ve diğerleri (2015) çalışmalarında 685 nm dalga boyu, 15 mW enerji çıkışı ve 3 J/cm² düşük seviyeli lazerin siyatik sinir hasarının tedavisinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Ancak siyatik sinir hasarında 808 nm dalga boyu, 3-8 J/cm² enerji dozu düşük seviyeli lazer tedavisinin morfolojik ve fonksiyonel olarak iyileşme görülürken aynı zamanda GAP-43 gen ekspresyonlarında da artışa sebep olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. (Wang ve diğerleri, 2014). GAP-43, nöronal büyüme sırasında yüksek seviyelerde eksprese edilir ve rejenerasyon sürecindeki periferik sinirlerde bulunur (Xu ve diğerleri (2008). Meiri ve diğerleri (1986), *in vivo* çalışmalarında 3 hafta boyunca DSLT uygulanan periferik sinirlerin rejenerasyon sürecinde GAP-43 gen ekspresyonlarında artış olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca *in vitro* çalışmalarda 660 nm düşük seviyeli lazer dalga boyunun fibroplastlarda büyüme faktörlerinin üretimini arttırdığını (Yu ve diğerleri, 1994) ve 632,8 nm dalga boylarının da kültürlenmiş

fibroplastların miyofibroblastlara dönüştürdüğü bilinmektedir (Pourreau-Schneider ve diğerleri, 1990). Hsieh ve diğerleri (2016), oksiplatin ile indüklenmiş periferik nöropati olan hasta gruplara ve *in vivo* olarak enerji yoğunluğu $7,5 \text{ J/cm}^2$ 780 nm düşük seviyeli lazer tedavisi uygulamıştır. Analiz sonuçlarına göre gruplardaki nörotoksik semptomlarda önemli ölçüde iyileşme olduğunu belirtmiştir. Sadece oksiplatin uygulanan grup ile oksiplatin ve DSLT uygulanan gruplar karşılaştırıldığında davranışsal testler ve duyu testlerinde önemli fark olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca düşük seviyeli lazer tedavisinin DRG hücrelerinde TRPM8 proteinin aşırı ekspresyonunu baskıladığını belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasının ön deneyinde $16 \mu\text{M}$ sisplatin ile KİPN modeli oluşturulan farklılaştırılmamış ve farklılaştırılmış PC12 hücre gruplarına 670 nm ve enerji yoğunluğu olarak $0,25-0,5-1 \text{ J/cm}^2$ düşük seviyeli lazer uygulanmıştır. $0,5-1 \text{ J/cm}^2$ enerji yoğunluklarının KİPN'in tedavisinde yeterli olmadığı saptanmıştır. Bu sebeple çalışmada $0,25 \text{ J/cm}^2$ enerji yoğunluğu seçilmiştir. Farklılaştırılmamış ve farklılaştırılmış PC12 hücre gruplarında KİPN modeli oluşturulmuş ve $0,25 \text{ J/cm}^2$ enerji yoğunluğu uygulanmış olan grup ile sadece sisplatin uygulanan grup karşılaştırıldığında hücre canlılığında artış görülmüştür. Ayrıca apoptoz da mitokondriyal membran potansiyelinde ve sitoplazmik zar bütünlüğünü gösteren LDH aktivite miktarında azalma saptanmıştır. Farklılaştırılmamış ve farklılaştırılmış PC12 hücrelerinde model oluşturulan gruplara uygulanan DSLT'nin nöronal büyümeyi ve gelişmesini kontrol eden GAP-43 ve Synapsin I genlerinin ekspresyonlarında artışa sebep olduğu görülmüştür. Bu da KİPN modelinde DSLT'nin nöronal büyümeyi tetikleyerek etkin tedavi olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Kuersetin ve düşük seviyeli lazer kombine tedavi çalışmaları diyabetik periferik nöropati üzerine yoğunlaşmıştır (Ahmed ve diğerleri, 2018; Aboud ve diğerleri, 2015). Ancak, kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropatide kuersetin ve düşük seviyeli lazer tedavisinin kombine tedavisi ile ilgili çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Ahmed ve diğerleri (2018) yaptıkları *in vivo* diyabetik nöropati çalışmasında tedavi olarak hem kuersetin hem de 632,8 nm dalga boyu ve $6,36 \text{ J/cm}^2$ enerji dozu düşük seviyeli lazer kullanmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre kuersetinin ve düşük seviyeli lazer kombine tedavisinin diyabetik nöropati modelinde etkili olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Aboud ve diğerleri (2015), 25 mg/kg kuersetin ve dalga boyu 632.8 nm olan düşük seviyeli lazer kombine tedavisinin *in vivo* diyabetik nöropati modelinde kollajen üretimini hızlandırarak yara iyileşmesini sürecini kolaylaştırdığını belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasında sisplatin ile indüklenen periferik nöropati modeli oluşturulan hem farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde 3 µM kuersetin ve dalga boyu 670 nm, enerji yoğunluğu 0,25 J/cm² olan düşük seviyeli lazer kombine tedavinin etkinliği görülmemiştir. KİPN modeli oluşturulan gruplara uygulanan kombine tedavi (que ve DSLT) ile sisplatin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Kombine tedavinin hücre canlılığını, GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarını inhibe ettiğini görülmüştür. Ayrıca apoptoz, mitokondriyal membran potansiyelini ve LDH aktivitesinde artışa sebep olduğu bulunmuştur. Tüm bu sonuçlar kombine tedavinin hücrelerde membran zar bütünlüğünü ve mitokondriyal disfonksiyonu üzerinde hiç etki etmediği göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kemoterapi de sıklıkla kullanılan sisplatinin yan etkisi olarak kemoterapi ile indüklenmiş periferik nöropati (KİPN) görülmektedir. Hastalarda alt ve üst ekstremitelerde yanma, ağrı, karıncalanma, hissizlik görülmektedir. KİPN hem önlemede hem de tedavisinde farmakolojik ajanların yanı sıra fotobiyostimülatörler kullanılmaktadır.

Sinir büyüme faktörünün (NGF) PC12 hücrelerinde GAP-43 ve Synapsin 1 genlerinin ekspresyonlarında artışa sebep olduğu saptanmıştır.

Bu çalışma ile sisplatinin hem NGF ile farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücre hattında hücre canlılığını %60 oranında azalttığı görülmüştür. Ayrıca yüksek oranlarda uygulanan sisplatinin PC12 hücrelerinde apoptoza, mitokondriyal disfonksiyona, sitoplazmik zar bütünlüğünün bozulmasına neden olduğu saptanmıştır.

Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati modeli oluşturulan hem farklılaştırılmış hem de farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde tedavisinde 3 μ M kuersetin dozunun, 0,25 J/cm² düşük seviyeli lazerin hücre canlılığını arttırdığı bulunmuştur. Ek olarak, hücrelerde apoptozun, mitokondriyal disfonksiyonunun ve laktat dehidrogenaz aktivitesinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Model oluşturulan farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücrelerinde kuersetin'in ve DSLT'nin nöronal büyümeden sorumlu olan GAP-43 ve Synapsin I gen ekspresyonlarında artışa sebep olduğu bulunmuştur.

Farklılaştırılmış ve farklılaştırılmamış PC12 hücre hatlarında oluşturulan KİPN modeline uygulanan kuersetin ve düşük seviyeli lazer kombine tedavinin KİPN tedavisinde etkili olmadığı saptanmıştır.

Çalışmanın sınırlılıklarından biri sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati de *in vitro* çalışma olmasıdır. Bir diğer sınırlılık ise sisplatin ile indüklenmiş periferik *in vitro* modelinde kuersetinin ve düşük seviyeli lazerin hücrelerdeki oksitativ stres üzerine etkisini çalışılmamış olmasıdır. Ayrıca çalışma da sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropati modeli oluşturulan gruplara uygulanan kombine tedavinin (que+DSLTL) hangi sinyal yollarını inhibe ettiği ve neden antagonist etki göstererek etkin bir tedavi olmadığını açıklayamamış olması bir başka sınırlılıktır.

Bu çalışmada sisplatin ile indüklenmiş periferik nöropatinin ve tedavi için uygulanan kuersetin, düşük seviyeli lazer tedavisi ve kombine tedavinin PC12 hücreleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak periferik nöropati tedavisinin geliştirilmesi gelecek çalışmaların konusu olabilecektir. Ayrıca gelecek araştırmalarda *in vitro* ortamda gerçekleşen bu çalışmanın deney hayvanları ve/veya insanlarda uygulanmasıyla klinikte hastalar üzerine etkisi incelenebilecektir.

KAYNAKLAR

- Aboud, E., Ahmed, O. M., Mohamed, T., Hamdy, H., Moustafa, H. (2015). Efficacy of quercetin treatment and low level laser therapy on wound healing in normal and diabetic rats. *Int. J. Sci. Res.(IJSR)*, 5(11), 45-52.
- Ahmed, O. M., Mohamed, T., Moustafa, H., Hamdy, H., Ahmed, R. R., Aboud, E. (2018). Quercetin and low level laser therapy promote wound healing process in diabetic rats via structural reorganization and modulatory effects on inflammation and oxidative stress. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 101, 58–73. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.040>
- Albers, J. W., Chaudhry, V., Cavaletti, G., Donehower, R. C. (2014). Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *The Cochrane database of systematic reviews*, (3), <https://doi.org/10.1002/14651858>.
- Alcântara, C. C., Gigo-Benato, D., Salvini, T. F., Oliveira, A. L., Anders, J. J., Russo, T. L. (2013). Effect of low-level laser therapy (LLLT) on acute neural recovery and inflammation-related gene expression after crush injury in rat sciatic nerve. *Lasers in surgery and medicine*, 45(4), 246–252. <https://doi.org/10.1002/lsm.22129>
- Almeida-Lopes, L., Rigau, J., Zângaro, R. A., Guidugli-Neto, J., Jaeger, M. M. (2001). Comparison of the low-level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence. *Lasers in surgery and medicine*, 29(2), 179–184. <https://doi.org/10.1002/lsm.1107>
- Aloe, L., Manni, L., Properzi, F., De Santis, S., Fiore, M. (2000). Evidence that nerve growth factor promotes the recovery of peripheral neuropathy induced in mice by cisplatin: behavioral, structural and biochemical analysis. *Autonomic neuroscience : basic & clinical*, 86(1-2), 84–93. [https://doi.org/10.1016/S1566-0702\(00\)00247-2](https://doi.org/10.1016/S1566-0702(00)00247-2)
- Arastu-Kapur, S. Anderl, J. L., Kraus, M., Parlati, F., Shenk, K. D., Lee, S. J., ...Kirk, C. J. (2011). Nonproteasomal targets of the proteasome inhibitors bortezomib and carfilzomib: a link to clinical adverse events. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 17(9), 2734–2743. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1950>

- Areti, A., Yerra, V. G., Naidu, V., Kumar, A. (2014). Oxidative stress and nerve damage: role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox biology*, 2, 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.01.006>
- Azevedo, M. I., Pereira, A. F., Nogueira, R. B., Rolim, F. E., Brito, G. A., Wong, D. V., ... Vale, M. L. (2013). The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Molecular pain*, 9, 53. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-9-53>
- Bachman J. (2013). Reverse-transcription PCR (RT-PCR). *Methods in enzymology*, 530, 67–74. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420037-1.00002-6>
- Balayssac, D., Ferrier, J., Descoeur, J., Ling, B., Pezet, D., Eschalier, A., Authier, N. (2011). Chemotherapy-induced peripheral neuropathies: from clinical relevance to preclinical evidence. *Expert opinion on drug safety*, 10(3), 407–417. <https://doi.org/10.1517/14740338.2011.543417>
- Bal-Price, A., Pistollato, F., Sachana, M., Bopp, S. K., Munn, S., Worth, A. (2018). Strategies to improve the regulatory assessment of developmental neurotoxicity (DNT) using *in vitro* methods. *Toxicology and applied pharmacology*, 354, 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.02.008>
- Bao, D., Wang, J., Pang, X., Liu, H. (2017). Protective Effect of Quercetin against Oxidative Stress-Induced Cytotoxicity in Rat Pheochromocytoma (PC-12) Cells. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 22(7), 1122. <https://doi.org/10.3390/molecules22071122>
- Barrell, K., ve Smith, A. G. (2019). Peripheral Neuropathy. *The Medical clinics of North America*, 103(2), 383–397. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.006>
- Basu, A., ve Krishnamurthy, S. (2010). Cellular responses to Cisplatin-induced DNA damage. *Journal of nucleic acids*, 2010, 201367. <https://doi.org/10.4061/2010/201367>
- Behling, E. B., Sendão, M. C., Francescato, H. D., Antunes, L. M., Costa, R. S., Bianchi, M. (2006). Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacological reports: PR*, 58(4), 526–532.

- Bellingham, G. A., ve Peng, P. W. (2010). Duloxetine: a review of its pharmacology and use in chronic pain management. *Regional anesthesia and pain medicine*, 35(3), 294–303. <https://doi.org/10.1097/AAP.0b013e3181df264>
- Benbow, J. H., DeGray, B., Ehrlich, B. E. (2011). Protection of neuronal calcium sensor 1 protein in cells treated with paclitaxel. *The Journal of biological chemistry*, 286(40), 34575–34582. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.265751>
- Benbow, J. H., Mann, T., Keeler, C., Fan, C., Hodsdon, M. E., Lolis, E., DeGray, B., Ehrlich, B. E. (2012). Inhibition of paclitaxel-induced decreases in calcium signaling. *The Journal of biological chemistry*, 287(45), 37907–37916. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.385070>
- Berglundh, T., Lindhe, J., Marinello, C., Ericsson, I., Liljenberg, B. (1992). Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clinical oral implants research*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.1992.030101.x>
- Bernhardson, B. M., Tishelman, C., Rutqvist, L. E. (2007). Chemosensory changes experienced by patients undergoing cancer chemotherapy: a qualitative interview study. *Journal of pain and symptom management*, 34(4), 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman>.
- Bet, P. M., Hugtenburg, J. G., Penninx, B. W., Hoogendijk, W. J. (2013). Side effects of antidepressants during long-term use in a naturalistic setting. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 23(11), 1443–1451. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro>.
- Bhadri N, Sanji T, Guggilla H.M., Razdan R. (2013). Amelioration of behavioural, biochemical, and neurophysiological deficits by combination of monosodium glutamate with resveratrol/alpha-lipoic acid/coenzyme Q10 in rat model of cisplatin-induced peripheral neuropathy. *Sci World J.* 30:565813.
- Boeckel, G. R., ve Ehrlich, B. E. (2018). NCS-1 is a regulator of calcium signaling in health and disease. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1865(11 Pt B), 1660–1667. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.05.005>

- 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. *Scientific reports*, 4, 6370. <https://doi.org/10.1038/srep06370>
- Boehmerle, W., Zhang, K., Sivula, M., Heidrich, F. M., Lee, Y., Jordt, S. E., Ehrlich, B. E. (2007). Chronic exposure to paclitaxel diminishes phosphoinositide signaling by calpain-mediated neuronal calcium sensor-1 degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(26), 11103–11108. <https://doi.org/10.1073/pnas.0701546104>
- Bolomsky, A., Schreder, M., Meißner, T., Hose, D., Ludwig, H., Pfeifer, S., Zojer, N. (2014). Immunomodulatory drugs thalidomide and lenalidomide affect osteoblast differentiation of human bone marrow stromal cells in vitro. *Experimental hematology*, 42(7), 516–525. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2014.03.005>
- Bolten P., Young S., Dyson M. (1995) The direct effect of 860 nm light on cell proliferation and on succinic dehydrogenase activity of human fibroblasts in vitro. *Laser Ther* 7:55–60
- Browning, R. J., Reardon, P., Parhizkar, M., Pedley, R. B., Edirisinghe, M., Knowles, J. C., Stride, E. (2017). Drug Delivery Strategies for Platinum-Based Chemotherapy. *ACS nano*, 11(9), 8560–8578. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b04092>
- Broyl, A., Corthals, S. L., Jongen, J. L., van der Holt, B., Kuiper, R., de Knecht, Y., ... Sonneveld, P. (2010). Mechanisms of peripheral neuropathy associated with bortezomib and vincristine in patients with newly diagnosed multiple myeloma: a prospective analysis of data from the HOVON-65/GMMG-HD4 trial. *The Lancet. Oncology*, 11(11), 1057–1065. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70206-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70206-0)
- Buchaim, R. L., Andreo, J. C., Barraviera, B., Ferreira Junior, R. S., Buchaim, D. V., ... de Castro Rodrigues, A. (2015). Effect of low-level laser therapy (LLLT) on peripheral nerve regeneration using fibrin glue derived from snake venom. *Injury*, 46(4), 655–660. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2015.01.031>
- Cammisuli, S., Cavazzi, E., Baldissarro, E., Leandri, M. (2016). Rehabilitation of balance disturbances due to chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a pilot study. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 52(4), 479–488.

- Canta, A., Pozzi, E., Carozzi, V. A. (2015). Mitochondrial Dysfunction in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy (CIPN). *Toxics*, 3(2), 198–223. <https://doi.org/10.3390/toxics3020198>
- Carozzi, V. A., Canta, A., Chiorazzi, A. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? *Neuroscience letters*, 596, 90–107. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.014>
- Cavaletti, G., Cavalletti, E., Oggioni, N., Sottani, C., ..., Tredici, G. (2000). Distribution of paclitaxel within the nervous system of the rat after repeated intravenous administration. *Neurotoxicology*, 21(3), 389–393.
- Cavaletti, G., Ceresa, C., Nicolini, G., Marmioli, P. (2014). Neuronal drug transporters in platinum drugs-induced peripheral neurotoxicity. *Anticancer research*, 34(1), 483–486.
- Cece, R., Petruccioli, M. G., Pizzini, G., Cavaletti, G., Tredici, G. (1995). Ultrastructural aspects of DRG satellite cell involvement in experimental cisplatin neuronopathy. *Journal of submicroscopic cytology and pathology*, 27(4), 417–425.
- Chen, M. M., Yin, Z. Q., Zhang, L. Y., & Liao, H. (2015). Quercetin promotes neurite growth through enhancing intracellular cAMP level and GAP-43 expression. *Chinese journal of natural medicines*, 13(9), 667–672. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30064-9](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30064-9)
- Conlan, M. J., Rapley, J. W., Cobb, C. M. (1996). Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation. A review. *Journal of clinical periodontology*, 23(5), 492–496. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1996.tb00580.x>
- Conte, E., Bresciani, E., Rizzi, L., Cappellari, O., De Luca, A., Torsello, A., Liantonio, A. (2020). Cisplatin-Induced Skeletal Muscle Dysfunction: Mechanisms and Counteracting Therapeutic Strategies. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1242. <https://doi.org/10.3390/ijms21041242>
- Costa, L. G., Garrick, J. M., Roquè, P. J., Pellacani, C. (2016). Mechanisms of Neuroprotection by Quercetin: Counteracting Oxidative Stress and More. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2986796. <https://doi.org/10.1155/2016/2986796>

- Costa, L. G., Tait, L., de Laat, R., Dao, K., Giordano, G., Pellacani, ..., Furlong, C. E. (2013). Modulation of paraoxonase 2 (PON2) in mouse brain by the polyphenol quercetin: a mechanism of neuroprotection? *Neurochemical research*, 38(9), 1809–1818. <https://doi.org/10.1007/s11064-013-1085-1>
- Dajas F. (2012). Life or death: neuroprotective and anticancer effects of quercetin. *Journal of ethnopharmacology*, 143(2), 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.07.005>
- Das, K. P., Freudenrich, T. M., Mundy, W. R. (2004). Assessment of PC12 cell differentiation and neurite growth: a comparison of morphological and neurochemical measures. *Neurotoxicology and teratology*, 26(3), 397–406. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.02.006>
- de Freitas, L. F., ve Hamblin, M. R. (2016). Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. *IEEE journal of selected topics in quantum electronics: a publication of the IEEE Lasers and Electro-optics Society*, 22(3), 7000417. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2016.2561201>
- Dhawan, S., Andrews, R., Kumar, L., Wadhwa, S., Shukla, G. (2020). A Randomized Controlled Trial to Assess the Effectiveness of Muscle Strengthening and Balancing Exercises on Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathic Pain and Quality of Life Among Cancer Patients. *Cancer nursing*, 43(4), 269–280. <https://doi.org/10.1097/NCC>.
- Dhawan, S., Kapil, R., Singh, B. (2011). Formulation development and systematic optimization of solid lipid nanoparticles of quercetin for improved brain delivery. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 63(3), 342–351. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01225.x>
- Diezi, M., Buclin, T., Kuntzer, T. (2013). Toxic and drug-induced peripheral neuropathies: updates on causes, mechanisms and management. *Current opinion in neurology*, 26(5), 481–488. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328364eb07>
- Dorsey, S. G., Kleckner, I. R., Barton, D., Mustian, K., O'Mara, A., St Germain, D., Cavaletti, G., ..., Janelins, M. C. (2019). The National Cancer Institute Clinical Trials Planning Meeting for Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Journal of the National Cancer Institute*, 111(6), 531–537. <https://doi.org/10.1093/jnci/djz011>

- Durand, J. P., Deplanque, G., Montheil, V., Gornet, J. M., Scotte, F., Mir, O., Cessot, A.,..., Goldwasser, F. (2012). Efficacy of venlafaxine for the prevention and relief of oxaliplatin-induced acute neurotoxicity: results of EFFOX, a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 23(1), 200–205. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr045>
- Duval, M., ve Daniel, S. J. (2012). Meta-analysis of the efficacy of amifostine in the prevention of cisplatin ototoxicity. *Journal of otolaryngology- head & neck surgery = Le Journal d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale*, 41(5), 309–315.
- Ezzi, M. S., Othieno-Abinya, N. A., Amayo, E., Oyiro, P., McLigeyo, A., ..., Shoba, B. (2019). Prevalence and Predictors of Cisplatin-Induced Peripheral Neuropathy at the Kenyatta National Hospital. *Journal of global oncology*, 5, 1–6. <https://doi.org/10.1200/JGO.19.00097>
- Farhana, A., ve Lappin, S. L. (2021). Biochemistry, Lactate Dehydrogenase. *In StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Favero, G., Moretti, E., Bonomini, F., Reiter, R. J., Rodella, L. F., Rezzani, R. (2018). Promising Antineoplastic Actions of Melatonin. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1086. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01086>
- Ferreira, R. S., Dos Santos, N. A., Martins, N. M., Fernandes, L. S., Dos Santos, A. C. (2016). Non-cytotoxic Concentration of Cisplatin Decreases Neuroplasticity-Related Proteins and Neurite Outgrowth Without Affecting the Expression of NGF in PC12 Cells. *Neurochemical research*, 41(11), 2993–3003. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2019-5>
- Friedrich M. J. (2004). Scientists probe roles of mitochondria in neurological disease and injury. *JAMA*, 291(6), 679–681. <https://doi.org/10.1001/jama.291.6.679>
- Fukuda, Y., Li, Y., Segal, R. A. (2017). A Mechanistic Understanding of Axon Degeneration in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Frontiers in neuroscience*, 11, 481. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00481>

- Fumagalli, G., Monza, L., Cavaletti, G., Rigolio, R., Meregalli, C. (2021). Neuroinflammatory Process Involved in Different Preclinical Models of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Frontiers in immunology*, 11, 626687. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.626687>
- Gadgil, S., Ergün, M., van den Heuvel, S. A., van der Wal, S. E., Scheffer, G. J., Hooijmans, C. R. (2019). A systematic summary and comparison of animal models for chemotherapy induced (peripheral) neuropathy (CIPN). *PloS one*, 14(8), e0221787. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221787>
- Galley, H. F., McCormick, B., Wilson, K. L., Lowes, D. A., Colvin, L., & Torsney, C. (2017). Melatonin limits paclitaxel-induced mitochondrial dysfunction *in vitro* and protects against paclitaxel-induced neuropathic pain in the rat. *Journal of pineal research*, 63(4), e12444. <https://doi.org/10.1111/jpi.12444>
- Gao, W., Zan, Y., Wang, Z. J., Hu, X. Y., Huang, F. (2016). Quercetin ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain by stabilizing mast cells, and subsequently blocking PKC ϵ -dependent activation of TRPV1. *Acta pharmacologica Sinica*, 37(9), 1166–1177. <https://doi.org/10.1038/aps.2016.58>
- Gewandter, J. S., Mohile, S. G., Heckler, C. E., Ryan, J. L., Kirshner, J. J., ..., Morrow, G. R. (2014). A phase III randomized, placebo-controlled study of topical amitriptyline and ketamine for chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN): a University of Rochester CCOP study of 462 cancer survivors. *Supportive care in cancer: official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 22(7), 1807–1814. <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2158-7>
- Ginani, F., Soares, D. M., Barreto, M. P., Barboza, C. A. (2015). Effect of low-level laser therapy on mesenchymal stem cell proliferation: a systematic review. *Lasers in medical science*, 30(8), 2189–2194. <https://doi.org/10.1007/s10103-015-1730-9>
- Gollapudi, S., McCormick, M. J., Gupta, S. (2003). Changes in mitochondrial membrane potential and mitochondrial mass occur independent of the activation of caspase-8 and caspase-3 during CD95-mediated apoptosis in peripheral blood T cells. *International journal of oncology*, 22(3), 597–600.
- Gornstein, E. L. ve Schwarz, T. L. (2017). Neurotoxic mechanisms of paclitaxel are local to the distal axon and independent of transport defects. *Experimental neurology*, 288, 153–166. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.11.015>

- Gurney, J. G., Bass, J. K., Onar-Thomas, A., Huang, J., Chintagumpala, M., Bouffet, E., ..., Gajjar, A. (2014). Evaluation of amifostine for protection against cisplatin-induced serious hearing loss in children treated for average-risk or high-risk medulloblastoma. *Neuro-oncology*, 16(6), 848–855. <https://doi.org/10.1093/neuonc/not241>
- Hausheer, F. H., Schilsky, R. L., Bain, S., Berghorn, E. J., Lieberman, F. (2006). Diagnosis, management, and evaluation of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Seminars in oncology*, 33(1), 15–49. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2005.12.010>
- Hawkins, D., ve Abrahamse, H. (2005). Biological effects of helium-neon laser irradiation on normal and wounded human skin fibroblasts. *Photomedicine and laser surgery*, 23(3), 251–259. <https://doi.org/10.1089/pho.2005.23.251>
- Heo, H. J., & Lee, C. Y. (2004). Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress-induced neurodegeneration. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(25), 7514–7517. <https://doi.org/10.1021/jf049243r>
- Hershman, D. L., Lacchetti, C., Dworkin, R. H., Lavoie Smith, E. M., Bleeker, J., Cavaletti, G., Chauhan, C., ..., Loprinzi, C. L. (2014). Prevention and management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in survivors of adult cancers: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32(18), 1941–1967. <https://doi.org/10.1200/JCO.2013.54.0914>
- 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. *Molecular pharmacology*, 70(4), 1390–1394. <https://doi.org/10.1124/mol.106.022624>
- Hrnjak M., Kuljic-Kapulica N., Budisin A., Giser A. (1995) Stimulatory effect of low-power density He-Ne laser radiation on human fibroblasts in vitro. *Vojnosanit Pregl* 52:539–546
- Hsieh, Y. L., Chou, L. W., Chang, P. L., Yang, C. C., Kao, M. J., Hong, C. Z. (2012). Low-level laser therapy alleviates neuropathic pain and promotes function recovery in rats with chronic constriction injury: possible involvements in hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α). *The Journal of comparative neurology*, 520(13), 2903–2916. <https://doi.org/10.1002/cne.23072>

- Hsieh, Y. L., Chou, L. W., Hong, S. F., Chang, F. C., Tseng, S. W., ..., Chiu, W. F. (2016). Laser acupuncture attenuates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in patients with gastrointestinal cancer: a pilot prospective cohort study. *Acupuncture in medicine: journal of the British Medical Acupuncture Society*, 34(5), 398–405. <https://doi.org/10.1136/acupmed-2016-011112>
- Hu, L. Y., Mi, W. L., Wu, G. C., Wang, Y. Q., ..., Mao-Ying, Q. L. (2019). Prevention and Treatment for Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: Therapies Based on CIPN Mechanisms. *Current Neuropharmacology*, 17(2), 184–196. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170915143217>
- Hu, T., Lu, X. Y., Shi, J. J., Liu, X. Q., Chen, Q. B., ..., Zhang, S. J. (2020). Quercetin protects against diabetic encephalopathy via SIRT1/NLRP3 pathway in db/db mice. *Journal of cellular and molecular medicine*, 24(6), 3449–3459. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15026>
- Hu, W. P., Wang, J. J., Yu, C. L., Lan, C. C., Chen, G. S., Yu, H. S. (2007). Helium-neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. *The Journal of investigative dermatology*, 127(8), 2048–2057. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700826>
- Huang, E. J., ve Reichardt, L. F. (2003). Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annual review of biochemistry*, 72, 609–642. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629>
- Huang, H., Liao, D., Dong, Y., Pu, R. (2020). Effect of quercetin supplementation on plasma lipid profiles, blood pressure, and glucose levels: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition reviews*, 78(8), 615–626. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuz071>
- Huang, N. L., Chiang, S. H., Hsueh, C. H., Liang, Y. J., Chen, Y. J., Lai, L. P. (2009). Metformin inhibits TNF-alpha-induced IkappaB kinase phosphorylation, IkappaB-alpha degradation and IL-6 production in endothelial cells through PI3K-dependent AMPK phosphorylation. *International journal of cardiology*, 134(2), 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2008.04.010>
- Huang, Y. Y., Chen, A. C., Carroll, J. D., Hamblin, M. R. (2009). Biphasic dose response in low level light therapy. *Dose-response : a publication of International Hormesis Society*, 7(4), 358–383. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-027.Hamblin>

- Huang, Y. Y., Sharma, S. K., Carroll, J., Hamblin, M. R. (2011). Biphasic dose response in low level light therapy - an update. *Dose-response : a publication of International Hormesis Society*, 9(4), 602–618. <https://doi.org/10.2203/dose-response.11-009.Hamblin>
- Huang, Z. Z., Li, D., Liu, C. C., Cui, Y., Zhu, H. Q., Zhang, W. W.,..., Xin, W. J. (2014). CX3CL1-mediated macrophage activation contributed to paclitaxel-induced DRG neuronal apoptosis and painful peripheral neuropathy. *Brain, behavior, and immunity*, 40, 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.014>
- Huo, X. J., Zhou, W., Price, T. J., Cleeland, C., Heijnen, C. J. (2014). The anti-diabetic drug metformin protects against chemotherapy-induced peripheral neuropathy in a mouse model. *PloS one*, 9(6), e100701. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100701>
- Ibrahim, E. Y., ve Busaidy, N. L. (2017). Treatment and surveillance of advanced, metastatic iodine-resistant differentiated thyroid cancer. *Current opinion in oncology*, 29(2), 151–158. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000349>
- Inal, M., Altinişik, M., Bilgin, M. D. (2002). The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Cell biochemistry and function*, 20(4), 291–296. <https://doi.org/10.1002/cbf.953>
- Ishisaka, A., Ichikawa, S., Sakakibara, H., Piskula, M. K., Nakamura, T., Kato, Y., Ito, M., ..., Terao, J. (2011). Accumulation of orally administered quercetin in brain tissue and its antioxidative effects in rats. *Free radical biology & medicine*, 51(7), 1329–1336. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.06.017>
- Iżycki, D., Niezgoda, A., Kaźmierczak, M., Nowak-Markwitz, E. (2016). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy- epidemiology and pathogenesis. *Ginekologia polska*, 87(4), 293–299. <https://doi.org/10.17772/gp/61750>
- Jaggi, A. S., ve Singh, N. (2012). Mechanisms in cancer-chemotherapeutic drugs-induced peripheral neuropathy. *Toxicology*, 291(1-3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.10.019>
- Jakubowicz-Gil, J., Paduch, R., Piersiak, T., Głowniak, K., Gawron, A., Kandefer-Szerszeń, M. (2005). The effect of quercetin on pro-apoptotic activity of cisplatin in HeLa cells. *Biochemical pharmacology*, 69(9), 1343–1350. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.01.022>

- Jamieson, S. M., Liu, J., Hsu, T., Baguley, B. C., McKeage, M. J. (2003). Paclitaxel induces nucleolar enlargement in dorsal root ganglion neurons in vivo reducing oxaliplatin toxicity. *British journal of cancer*, 88(12), 1942–1947. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601012>
- Jongen, J. L., Broijl, A., Sonneveld, P. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathies in hematological malignancies. *Journal of neuro-oncology*, 121(2), 229–237. <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1632-x>
- Jung, Y., ve Lippard, S. J. (2007). Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. *Chemical reviews*, 107(5), 1387–1407. <https://doi.org/10.1021/cr068207j>
- Kanat, O., Ertas, H., Caner, B. (2017). Platinum-induced neurotoxicity: A review of possible mechanisms. *World journal of clinical oncology*, 8(4), 329–335. <https://doi.org/10.5306/wjco.v8.i4.329>
- Karlsson, J. O., Kurz, T., Flechsig, S., Näsström, J., Andersson, R. G. (2012). Superior therapeutic index of calmagofodipir in comparison to mangafodipir as a chemotherapy adjunct. *Translational oncology*, 5(6), 492–502. <https://doi.org/10.1593/tlo.12238>
- Karu T. (1989). Photobiology of low-power laser effects. *Health physics*, 56(5), 691–704. <https://doi.org/10.1097/00004032-198905000-00015>
- Karu T. (1999). Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 49(1), 1–17. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(98\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(98)00219-X)
- Karu T. I. (2008). Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochemistry and photobiology*, 84(5), 1091–1099. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00394.x>
- Karu T.I., (1998) Primary and secondary mechanisms of the action of monochromatic visible and near infrared radiation on cells. *In: The science of low-power laser therapy*. Gordon and Breach Science, Amsterdam
- Karu, T., Pyatibrat, L., Kalendo, G. (1995). Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 27(3), 219–223. [https://doi.org/10.1016/1011-1344\(94\)07078-3](https://doi.org/10.1016/1011-1344(94)07078-3)

- Kassem, L. A., Yassin, N. A. (2010). Role of erythropoietin in prevention of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 13(12), 577–587. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.577.587>
- Kawakami, K., Chiba, T., Katagiri, N., Saduka, M., Abe, K., Utsunomiya, I., ..., Taguchi, K. (2012). Paclitaxel increases high voltage-dependent calcium channel current in dorsal root ganglion neurons of the rat. *Journal of pharmacological sciences*, 120(3), 187–195. <https://doi.org/10.1254/jphs.12123fp>
- Kemp, G., Rose, P., Lurain, J., Berman, M., Manetta, A., Roullet, B., Homesley, H., ..., Glick, J. (1996). Amifostine pretreatment for protection against cyclophosphamide-induced and cisplatin-induced toxicities: results of a randomized control trial in patients with advanced ovarian cancer. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 14(7), 2101–2112. <https://doi.org/10.1200/JCO.1996.14.7.2101>
- Kitajima, S., Ozaki, H., & Karaki, H. (1994). Role of different subtypes of P2 purinoceptor on cytosolic Ca²⁺ levels in rat aortic smooth muscle. *European journal of pharmacology*, 266(3), 263–267. [https://doi.org/10.1016/0922-4106\(94\)90135-x](https://doi.org/10.1016/0922-4106(94)90135-x)
- Klein, R., Brown, D., & Turnley, A. M. (2007). Phenoxodiol protects against Cisplatin induced neurite toxicity in a PC-12 cell model. *BMC neuroscience*, 8, 61. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-8-61>
- Knowlton, W. M., Palkar, R., Lippoldt, E. K., McCoy, D. D., Baluch, F., ..., McKemy, D. D. (2013). A sensory-labeled line for cold: TRPM8-expressing sensory neurons define the cellular basis for cold, cold pain, and cooling-mediated analgesia. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(7), 2837–2848. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1943-12.2013>
- Koskinen, M. J., Kautio, A. L., Haanpää, M. L., Haapasalo, H. K., Kellokumpu-Lehtinen, P. L., ..., Hietaharju, A. J. (2011). Intraepidermal nerve fibre density in cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *Anticancer research*, 31(12), 4413–4416.
- Kotla, V., Goel, S., Nischal, S., Heuck, C., Vivek, K., ..., Verma, A. (2009). Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *Journal of hematology & oncology*, 2, 36. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-2-36>

- Kovalevich, J., ve Langford, D. (2013). Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1078, 9–21. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-640-5_2
- Kraus, B., Wolff, H., Heilmann, J., Elstner, E. F. (2007). Influence of Hypericum perforatum extract and its single compounds on amyloid-beta mediated toxicity in microglial cells. *Life sciences*, 81(11), 884–894. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.07.020>
- Kreisler, M., Christoffers, A. B., Al-Haj, H., Willershausen, B., d'Hoedt, B. (2002). Low level 809-nm diode laser-induced *in vitro* stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts. *Lasers in surgery and medicine*, 30(5), 365–369. <https://doi.org/10.1002/lsm.10060>
- Kumar, A., Sehgal, N., Kumar, P., Padi, S. S., Naidu, P. S. (2008). Protective effect of quercetin against ICV colchicine-induced cognitive dysfunctions and oxidative damage in rats. *Phytotherapy research : PTR*, 22(12), 1563–1569. <https://doi.org/10.1002/ptr.2454>
- Lauria, G., ve Devigili, G. (2007). Skin biopsy as a diagnostic tool in peripheral neuropathy. Nature clinical practice. *Neurology*, 3(10), 546–557. <https://doi.org/10.1038/ncpneuro0630>
- Lavi, R., Shainberg, A., Friedmann, H., Shneyvays, V., Rickover, O., Eichler, M., ..., Lubart, R. (2003). Low energy visible light induces reactive oxygen species generation and stimulates an increase of intracellular calcium concentration in cardiac cells. *The Journal of biological chemistry*, 278(42), 40917–40922. <https://doi.org/10.1074/jbc.M303034200>
- Li, F., Jin, H., Xiao, J., Yin, X., Liu, X., ..., Huang, Q. (2018). The simultaneous loading of catechin and quercetin on chitosan-based nanoparticles as effective antioxidant and antibacterial agent. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 111, 351–360. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.038>
- Lim, W., Kim, J., Kim, S., Karna, S., Won, J., Jeon, S. M., ..., Kim, O. (2013). Modulation of lipopolysaccharide-induced NF- κ B signaling pathway by 635 nm irradiation via heat shock protein 27 in human gingival fibroblast cells. *Photochemistry and photobiology*, 89(1), 199–207. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2012.01225.x>

- Lin, Y. T., ve Chen, J. C. (2018). Dorsal Root Ganglia Isolation and Primary Culture to Study Neurotransmitter Release. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (140), 57569. <https://doi.org/10.3791/57569>
- Liu, B., Fan, L., Balakrishna, S., Sui, A., Morris, J. B., Jordt, S. E. (2013). TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain. *Pain*, 154(10), 2169–2177. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.06.043>
- Llorens, J., Li, A. A., Ceccatelli, S., Suñol, C. (2012). Strategies and tools for preventing neurotoxicity: to test, to predict and how to do it. *Neurotoxicology*, 33(4), 796–804. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2012.01.019>
- Lodewijckx, J., Robijns, J., Bensadoun, R. J., Mebis, J. (2020). Photobiomodulation Therapy for the Management of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy: An Overview. *Photobiomodulation, photomedicine, and laser surgery*, 38(6), 348–354. <https://doi.org/10.1089/photob.2019.4771>
- Loevschall, H., ve Arenholt-Bindslev, D. (1994). Effect of low level diode laser irradiation of human oral mucosa fibroblasts in vitro. *Lasers in surgery and medicine*, 14(4), 347–354. <https://doi.org/10.1002/lsm.1900140407>
- London, Z., ve Albers, J. W. (2007). Toxic neuropathies associated with pharmaceutical and industrial agents. *Neurologic clinics*, 25(1), 257–276. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2006.10.001>
- Lorusso, D., Ferrandina, G., Greggi, S., Gadducci, A., Pignata, S., Tateo, S., Biamonte, R., Manzione, ..., Scambia, G. (2003). Phase III multicenter randomized trial of amifostine as cytoprotectant in first-line chemotherapy in ovarian cancer patients. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 14(7), 1086–1093. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdg301>
- Lu, J., Zheng, Y. L., Luo, L., Wu, D. M., Sun, D. X., Feng, Y. J. (2006). Quercetin reverses D-galactose induced neurotoxicity in mouse brain. *Behavioural brain research*, 171(2), 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.03.043>
- Lubart R., Wollman Y., Friedmann H., Rochkind S., Laulicht I. (1992) Effects of visible and near-infrared lasers on cell cultures. *J Photochem Photobiol B* 12:305–310

- Luger, E. J., Rochkind, S., Wollman, Y., Kogan, G., Dekel, S. (1998). Effect of low-power laser irradiation on the mechanical properties of bone fracture healing in rats. *Lasers in surgery and medicine*, 22(2), 97–102. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9101\(1998\)22:2<97::aid-lsm5>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1998)22:2<97::aid-lsm5>3.0.co;2-r)
- Ma, Y. S., Yao, C. N., Liu, H. C., Yu, F. S., Lin, ..., Chung, J. G. (2018). Quercetin induced apoptosis of human oral cancer SAS cells through mitochondria and endoplasmic reticulum mediated signaling pathways. *Oncology letters*, 15(6), 9663–9672. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8584>
- Magalingam, K. B., Radhakrishnan, A., Ramdas, P., Haleagrahara, N. (2015). Quercetin glycosides induced neuroprotection by changes in the gene expression in a cellular model of Parkinson's disease. *Journal of molecular neuroscience: MN*, 55(3), 609–617. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0400-x>
- Mahn, F., Hüllemann, P., Wasner, G., Baron, R., Binder, A. (2014). Topical high-concentration menthol: reproducibility of a human surrogate pain model. *European journal of pain (London, England)*, 18(9), 1248–1258. <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2014.484.x>
- Manasanch, E. E., ve Orłowski, R. Z. (2017). Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Nature reviews. Clinical oncology*, 14(7), 417–433. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.206>
- Marques, M. M., Pereira, A. N., Fujihara, N. A., Nogueira, F. N., Eduardo, C. P. (2004). Effect of low-power laser irradiation on protein synthesis and ultrastructure of human gingival fibroblasts. *Lasers in surgery and medicine*, 34(3), 260–265. <https://doi.org/10.1002/lsm.20008>
- Martino, E., Casamassima, G., Castiglione, S., Cellupica, E., ..., Collina, S. (2018). Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 28(17), 2816–2826. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.06.044>
- Masuda, H., Tanaka, T., Takahama, U. (1994). Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. *Biochemical and biophysical research communications*, 203(2), 1175–1180. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2306>

- Matsumura, Y., Yokoyama, Y., Hirakawa, H., Shigeto, T., Futagami, M., Mizunuma, H. (2014). The prophylactic effects of a traditional Japanese medicine, goshajinkigan, on paclitaxel-induced peripheral neuropathy and its mechanism of action. *Molecular pain*, 10, 61. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-10-61>
- McWhinney, S. R., Goldberg, R. M., McLeod, H. L. (2009). Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Molecular cancer therapeutics*, 8(1), 10–16. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0840>
- Medalha, C. C., Di Gangi, G. C., Barbosa, C. B., Fernandes, M., ..., Renno, A. C. (2012). Low-level laser therapy improves repair following complete resection of the sciatic nerve in rats. *Lasers in medical science*, 27(3), 629–635. <https://doi.org/10.1007/s10103-011-1008-9>
- Milanezi, F. G., Meireles, L. M., de Christo Scherer, M. M., de Oliveira, J. P., da Silva, A. R., ..., Scherer, R. (2019). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of gold nanoparticles capped with quercetin. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ: the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 27(7), 968–974. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2019.07.005>
- Miltenburg, N. C., ve Boogerd, W. (2014). Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. *Cancer treatment reviews*, 40(7), 872–882. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2014.04.004>
- Mirza, F. J., ve Zahid, S. (2018). The Role of Synapsins in Neurological Disorders. *Neuroscience bulletin*, 34(2), 349–358. <https://doi.org/10.1007/s12264-017-0201-7>
- Moore, P., Ridgway, T. D., Higbee, R. G., Howard, E. W., Lucroy, M. D. (2005). Effect of wavelength on low-intensity laser irradiation-stimulated cell proliferation in vitro. *Lasers in surgery and medicine*, 36(1), 8–12. <https://doi.org/10.1002/lsm.20117>
- Musstaf, R. A., Jenkins, D., Jha, A. N. (2019). Assessing the impact of low level laser therapy (LLLT) on biological systems: a review. *International journal of radiation biology*, 95(2), 120–143. <https://doi.org/10.1080/09553002.2019.1524944>
- Namikawa, K., Asakura, M., Minami, T., Okazaki, Y., Kadota, E., Hashimoto, S. (2000). Toxicity of cisplatin to the central nervous system of male rabbits. *Biological trace element research*, 74(3), 223–235. <https://doi.org/10.1385/BTER:74:3:223>

- Nazir, H. F., AlFutaisi, A., Zacharia, M., Elshinawy, M., Mevada, S. T., Alrawas, A., ..., Wali, Y. (2017). Vincristine-induced neuropathy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia in Oman: Frequent autonomic and more severe cranial nerve involvement. *Pediatric blood & cancer*, 64(12), 10.1002/pbc.26677. <https://doi.org/10.1002/pbc.26677>
- Negrini, S., D'Alessandro, R., Meldolesi, J. (2013). NGF signaling in PC12 cells: the cooperation of p75(NTR) with TrkA is needed for the activation of both mTORC2 and the PI3K signalling cascade. *Biology open*, 2(8), 855–866. <https://doi.org/10.1242/bio.20135116>
- Ohshiro T., ve Calderhead R.G. (1988) Low-level laser therapy: a practical introduction. *Wiley, New York*, pp 17, 28–30, 33, 34
- Ossola, B., Kääriäinen, T. M., Männistö, P. T. (2009). The multiple faces of quercetin in neuroprotection. *Expert opinion on drug safety*, 8(4), 397–409. <https://doi.org/10.1517/14740330903026944>
- Pachman, D. R., Qin, R., Seisler, D. K., Smith, E. M., Beutler, A. S., Ta, L. E., ..., Loprinzi, C. L. (2015). Clinical Course of Oxaliplatin-Induced Neuropathy: Results From the Randomized Phase III Trial N08CB (Alliance). *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(30), 3416–3422. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.8533>
- Park, I. H., Kim, M. K., Kim, S. U. (2008). Ursodeoxycholic acid prevents apoptosis of mouse sensory neurons induced by cisplatin by reducing P53 accumulation. *Biochemical and biophysical research communications*, 377(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.06.014>
- Park, S. B., Krishnan, A. V., Lin, C. S., Goldstein, D., Friedlander, M., Kiernan, M. C. (2008). Mechanisms underlying chemotherapy-induced neurotoxicity and the potential for neuroprotective strategies. *Current medicinal chemistry*, 15(29), 3081–3094. <https://doi.org/10.2174/092986708786848569>
- Pei, X. Y., Dai, Y., Grant, S. (2004). Synergistic induction of oxidative injury and apoptosis in human multiple myeloma cells by the proteasome inhibitor bortezomib and histone deacetylase inhibitors. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 10(11), 3839–3852. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-03-0561>

- Peng, P., Xi, Q., Xia, S., Zhuang, L., Gui, Q., ..., Yu, S. (2012). Pregabalin attenuates docetaxel-induced neuropathy in rats. *Journal of Huazhong University of Science and Technology. Medical sciences = Hua zhong ke ji da xue xue bao. Yi xue Ying De wen ban = Huazhong keji daxue xuebao. Yixue Yingdewen ban*, 32(4), 586–590. <https://doi.org/10.1007/s11596-012-1001-y>
- Piccolo, J., ve Kolesar, J. M. (2014). Prevention and treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *American journal of health-system pharmacy: AJHP: official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 71(1), 19–25. <https://doi.org/10.2146/ajhp130126>
- Pinheiro, A. L., Carneiro, N. S., Vieira, A. L., Brugnera, A., ..., Silva, P. S. (2002). Effects of low-level laser therapy on malignant cells: *in vitro* study. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 20(1), 23–26. <https://doi.org/10.1089/104454702753474977>
- 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. *Neurobiology of disease*, 41(3), 661–668. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.11.017>
- Pogrel, M. A. Chen, J. W., Zhang, K. (1997). Effects of low-energy gallium-aluminum-arsenide laser irradiation on cultured fibroblasts and keratinocytes. *Lasers in surgery and medicine*, 20(4), 426–432. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9101\(1997\)20:4<426::aid-lsm8>3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9101(1997)20:4<426::aid-lsm8>3.0.co;2-s)
- Ponce, A., Castillo, A., Hinojosa, L., Martinez-Rendon, J., Cereijido, M. (2018). The expression of endogenous voltage-gated potassium channels in HEK293 cells is affected by culture conditions. *Physiological reports*, 6(8), e13663. <https://doi.org/10.14814/phy2.13663>
- Postma, T. J., Aaronson, N. K., Heimans, J. J., Muller, M. J., Hildebrand, J. G., Delattre, J. Y., ..., Huddart, R. (2005). The development of an EORTC quality of life questionnaire to assess chemotherapy-induced peripheral neuropathy: the QLQ-CIPN20. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*, 41(8), 1135–1139. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.02.012>
- Pourreau-Schneider, N., Ahmed, A., Soudry, M., Jacquemier, J., Kopp, F., ..., Martin, P. M. (1990). Helium-neon laser treatment transforms fibroblasts into myofibroblasts. *The American journal of pathology*, 137(1), 171–178.

- Pradeep, S., Huang, J., Mora, E. M., Nick, A. M., Cho, M. S., Wu, S. Y., Noh, K., ... Sood, A. K. (2015). Erythropoietin Stimulates Tumor Growth via EphB4. *Cancer cell*, 28(5), 610–622. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.008>
- Prior, R., Van Helleputte, L., Benoy, V., Van Den Bosch, L. (2017). Defective axonal transport: A common pathological mechanism in inherited and acquired peripheral neuropathies. *Neurobiology of disease*, 105, 300–320. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.02.009>
- Pu, F., Mishima, K., Irie, K., Motohashi, K., Tanaka, Y., Orito, K., Egawa, T., ..., Fujiwara, M. (2007). Neuroprotective effects of quercetin and rutin on spatial memory impairment in an 8-arm radial maze task and neuronal death induced by repeated cerebral ischemia in rats. *Journal of pharmacological sciences*, 104(4), 329–334. <https://doi.org/10.1254/jphs.fp0070247>
- Quattrini, C., Jeziorska, M., Boulton, A. J., Malik, R. A. (2008). Reduced vascular endothelial growth factor expression and intra-epidermal nerve fiber loss in human diabetic neuropathy. *Diabetes care*, 31(1), 140–145. <https://doi.org/10.2337/dc07-1556>
- Rodriguez, E., Pei, G., Kim, S. T., German, A., Robinson, P. (2021). Substance P Antagonism as a Novel Therapeutic Option to Enhance Efficacy of Cisplatin in Triple Negative Breast Cancer and Protect PC12 Cells against Cisplatin-Induced Oxidative Stress and Apoptosis. *Cancers*, 13(15), 3871. <https://doi.org/10.3390/cancers13153871>
- Rosso, M., Buchaim, D. V., Kawano, N., Furlanette, G., ..., Buchaim, R. L. (2018). Photobiomodulation Therapy (PBMT) in Peripheral Nerve Regeneration: A Systematic Review. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 5(2), 44. <https://doi.org/10.3390/bioengineering5020044>
- Rowinsky, E. K., ve Donehower, R. C. (1995). Paclitaxel (taxol). *The New England journal of medicine*, 332(15), 1004–1014. <https://doi.org/10.1056/NEJM199504133321507>
- Salvemini, D., Little, J. W., Doyle, T., Neumann, W. L. (2011). Roles of reactive oxygen and nitrogen species in pain. *Free radical biology & medicine*, 51(5), 951–966. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.026>

- Santos, N. A., Catão, C. S., Martins, N. M., Curti, C., Bianchi, M. L., Santos, A. C. (2007). Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Archives of toxicology*, 81(7), 495–504. <https://doi.org/10.1007/s00204-006-0173-2>
- Sasaki, N., Toda, T., Kaneko, T., Baba, N., Matsuo, M. (2003). Protective effects of flavonoids on the cytotoxicity of linoleic acid hydroperoxide toward rat pheochromocytoma PC12 cells. *Chemico-biological interactions*, 145(1), 101–116. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(02\)00248-x](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(02)00248-x)
- Sawicka, E., Długosz, A., Rembacz, K. P., Guzik, A. (2013). The effects of coenzyme Q10 and baicalin in cisplatin-induced lipid peroxidation and nitrosative stress. *Acta poloniae pharmaceutica*, 70(6), 977–985.
- Schäfers, M., ve Sorkin, L. (2008). Effect of cytokines on neuronal excitability. *Neuroscience letters*, 437(3), 188–193. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.052>
- Schaffer, S., ve Halliwell, B. (2012). Do polyphenols enter the brain and does it matter? Some theoretical and practical considerations. *Genes & nutrition*, 7(2), 99–109. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0255-5>
- Schindl, A., Schindl, M., Pernerstorfer-Schön, H., Schindl, L. (2000). Low-intensity laser therapy: a review. *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*, 48(5), 312–326.
- Schmid, I., Krall, W. J., Uittenbogaart, C. H., Braun, J., Giorgi, J. V. (1992). Dead cell discrimination with 7-amino-actinomycin D in combination with dual color immunofluorescence in single laser flow cytometry. *Cytometry*, 13(2), 204–208. <https://doi.org/10.1002/cyto.990130216>
- Schneede P., Jelkmann W., Schramm U., Fricke H., Steinmetz M., Hofstetter A., (1988) Effects of the helium-neon laser on rat kidney epithelial cells in culture. *Lasers Med Sci* 3:249–257
- Schültke, E., Kendall, E., Kamencic, H., Ghong, Z., Griebel, R. W., Juurlink, B. H. (2003). Quercetin promotes functional recovery following acute spinal cord injury. *Journal of neurotrauma*, 20(6), 583–591. <https://doi.org/10.1089/089771503767168500>

- Schwengel, T. E., Klein, C. P., Nicoletti, N. F., Dora, C. L., Hadrich, G., Bica, C. G., ..., Morrone, F. B. (2014). Effects of the compounds resveratrol, rutin, quercetin, and quercetin nanoemulsion on oxaliplatin-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 387(9), 837–848. <https://doi.org/10.1007/s00210-014-0994-0>
- Sedletska, Y., Giraud-Panis, M. J., Malinge, J. M. (2005). Cisplatin is a DNA-damaging antitumour compound triggering multifactorial biochemical responses in cancer cells: importance of apoptotic pathways. *Current medicinal chemistry*, 5(3), 251–265. <https://doi.org/10.2174/1568011053765967>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.09.020>
- Shahid, M., Subhan, F., Ahmad, N., Sewell, R. (2017). The flavonoid 6-methoxyflavone allays cisplatin-induced neuropathic allodynia and hypoalgesia. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 95, 1725–1733. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.108>
- Sharma, S., Raghuvanshi, B. P., Shukla, S. (2014). Toxic effects of lead exposure in rats: involvement of oxidative stress, genotoxic effect, and the beneficial role of N-acetylcysteine supplemented with selenium. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology: official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer*, 33(1), 19–32. <https://doi.org/10.1615/jenvironpatholtoxicoloncol.2014009712>
- Shi, Y., Liang, X. C., Zhang, H., Wu, Q. L., Qu, L., Sun, Q. (2013). Quercetin protects rat dorsal root ganglion neurons against high glucose-induced injury *in vitro* through Nrf-2/HO-1 activation and NF- κ B inhibition. *Acta pharmacologica Sinica*, 34(9), 1140–1148. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.59>
- Silva, J. P., Gomes, A. C., Coutinho, O. P. (2008). Oxidative DNA damage protection and repair by polyphenolic compounds in PC12 cells. *European journal of pharmacology*, 601(1-3), 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.046>

- Smith, E. M., Pang, H., Cirrincione, C., Fleishman, S., Paskett, E. D., Ahles, T., ..., Bressler, L. R. (2013). Effect of duloxetine on pain, function, and quality of life among patients with chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy: a randomized clinical trial. *JAMA*, 309(13), 1359–1367. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.2813>
- Smith, J. V., Luo, Y. (2003). Elevation of oxidative free radicals in Alzheimer's disease models can be attenuated by Ginkgo biloba extract EGb 761. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 5(4), 287–300. <https://doi.org/10.3233/jad-2003-5404>
- Soliman, A., Wahid, A., Wahby, M. M., Bassiouny, A. (2020). Study of the possible synergistic protective effects of Melatonin and Pregabalin in Vincristine induced peripheral neuropathy Wistar Albino rats. *Life sciences*, 244, 117095. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.117095>
- Staff, N. P., Grisold, A., Grisold, W., Windebank, A. J. (2017). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A current review. *Annals of neurology*, 81(6), 772–781. <https://doi.org/10.1002/ana.24951>
- Starobova, H., ve Vetter, I. (2017). Pathophysiology of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Frontiers in molecular neuroscience*, 10, 174. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00174>
- Streckmann, F., Balke, M., Lehmann, H. C., Rustler, V., Koliyamitra, C., Elter, T., Hallek, M., ..., Bloch, W. (2018). The preventive effect of sensorimotor- and vibration exercises on the onset of Oxaliplatin- or vinca-alkaloid induced peripheral neuropathies - STOP. *BMC cancer*, 18(1), 62. <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3866-4>
- Takac, S., ve Stojanović, S. (1998). Dijagnosticki i biostimulativni laseri [Diagnostic and biostimulating lasers]. *Medicinski pregled*, 51(5-6), 245–249.
- Takhtfooladi, M. A., Jahanbakhsh, F., Takhtfooladi, H. A., Yousefi, K., Allahverdi, A. (2015). Effect of low-level laser therapy on functional recovery of the sciatic nerve in rats following crushing lesion. *Lasers in medical science*, 30(3), 1047–1052. <https://doi.org/10.1007/s10103-015-1709-6>

- Todd, R. C., ve Lippard, S. J. (2009). Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. *Metallomics: integrated biometal science*, 1(4), 280–291. <https://doi.org/10.1039/b907567d>
- Vafadar, A., Shabaninejad, Z., Movahedpour, A., Fallahi, F., Taghavipour, M., Ghasemi, Y., ..., Mirzaei, H. (2020). Quercetin and cancer: new insights into its therapeutic effects on ovarian cancer cells. *Cell & bioscience*, 10, 32. <https://doi.org/10.1186/s13578-020-00397-0>
- Van Meerloo, J., Kaspers, G. J., Cloos, J. (2011). Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 731, 237–245. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-080-5_20
- Vencappa, S., Donaldson, L. F., Hulse, R. P. (2015). Cisplatin induced sensory neuropathy is prevented by vascular endothelial growth factor-A. *American journal of translational research*, 7(6), 1032–1044.
- Wang, C. Z., Chen, Y. J., Wang, Y. H., Yeh, M. L., ..., Chen, C. H. (2014). Low-level laser irradiation improves functional recovery and nerve regeneration in sciatic nerve crush rat injury model. *PloS one*, 9(8), e103348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103348>
- Wang, L., Li, B., Si, X., Liu, X., Deng, X., Niu, X., Jin, Y., Wang, D., Wang, J. (2019). Quercetin protects rats from catheter-related *Staphylococcus aureus* infections by inhibiting coagulase activity. *Journal of cellular and molecular medicine*, 23(7), 4808–4818. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14371>
- Wang, W., Shanmugam, M. K., Xiang, P., Yam, T., Kumar, V., Chew, W. S., Chang, J. K., ..., Herr, D. R. (2020). Sphingosine 1-Phosphate Receptor 2 Induces Otoprotective Responses to Cisplatin Treatment. *Cancers*, 12(1), 211. <https://doi.org/10.3390/cancers12010211>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.03.027>

- Wani, T. H., Chakrabarty, A., Shibata, N., Yamazaki, H., Guengerich, F. P., Chowdhury, G. (2017). The Dihydroxy Metabolite of the Teratogen Thalidomide Causes Oxidative DNA Damage. *Chemical research in toxicology*, 30(8), 1622–1628. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.7b00127>
- Waseem, M., Kaushik, P., Tabassum, H., Parvez, S. (2018). Role of Mitochondrial Mechanism in Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Current drug metabolism*, 19(1), 47–54. <https://doi.org/10.2174/1389200219666171207121313>
- Wasner, G., Naleschinski, D., Binder, A., Schattschneider, J., McLachlan, E. M., Baron, R. (2008). The effect of menthol on cold allodynia in patients with neuropathic pain. *Pain medicine (Malden, Mass.)*, 9(3), 354–358. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2007.00290.x>
- Wiatrak, B., Kubis-Kubiak, A., Piwowar, A., Barg, E. (2020). PC12 Cell Line: Cell Types, Coating of Culture Vessels, Differentiation and Other Culture Conditions. *Cells*, 9(4), 958. <https://doi.org/10.3390/cells9040958>
- Wilden, L., ve Karthein, R. (1998). Import of radiation phenomena of electrons and therapeutic low-level laser in regard to the mitochondrial energy transfer. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 16(3), 159–165. <https://doi.org/10.1089/clm.1998.16.159>
- Winters-Stone, K. M., Horak, F., Jacobs, P. G., Trubowitz, P., ..., Faithfull, S. (2017). Falls, Functioning, and Disability Among Women With Persistent Symptoms of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 35(23), 2604–2612. <https://doi.org/10.1200/JCO.2016.71.3552>
- Xing, H., Chen, M., Ling, J., Tan, W., Gu, J. G. (2007). TRPM8 mechanism of cold allodynia after chronic nerve injury. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(50), 13680–13690. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2203-07.2007>
- Xu, X., Zhao, X., Liu, T. C., Pan, H. (2008). Low-intensity laser irradiation improves the mitochondrial dysfunction of C2C12 induced by electrical stimulation. *Photomedicine and laser surgery*, 26(3), 197–202. <https://doi.org/10.1089/pho.2007.2125>

- Yagihashi, S., ve Matsunaga, M. (1979). Ultrastructural pathology of peripheral nerves in patients with diabetic neuropathy. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 129(4), 357–366. <https://doi.org/10.1620/tjem.129.357>
- Yamaoka, K., Vogel, S. M., Seyama, I. (2006). Na⁺ channel pharmacology and molecular mechanisms of gating. *Current pharmaceutical design*, 12(4), 429–442. <https://doi.org/10.2174/138161206775474468>
- Yang, S., Zhou, H., Wang, G., Zhong, X. H., Shen, Q. L., ..., Wan, Z. (2020). Quercetin is protective against short-term dietary advanced glycation end products intake induced cognitive dysfunction in aged ICR mice. *Journal of food biochemistry*, 44(4), e13164. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13164>
- Yin, K., Baillie, G. J., Vetter, I. (2016). Neuronal cell lines as model dorsal root ganglion neurons: A transcriptomic comparison. *Molecular pain*, 12, 1744806916646111. <https://doi.org/10.1177/1744806916646111>
- Yin, Z. S., Zhang, H., Bo, W., Gao, W. (2010). Erythropoietin promotes functional recovery and enhances nerve regeneration after peripheral nerve injury in rats. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 31(3), 509–515. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1820>
- Youn, H., Jeong, J. C., Jeong, Y. S., Kim, E. J., Um, S. J. (2013). Quercetin potentiates apoptosis by inhibiting nuclear factor-kappaB signaling in H460 lung cancer cells. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 36(6), 944–951. <https://doi.org/10.1248/bpb.b12-01004>
- Yri, O. E., Vig, J., Hegstad, E., Hovde, O., Pignon, I., Jynge, P. (2009). Mangafodipir as a cytoprotective adjunct to chemotherapy--a case report. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*, 48(4), 633–635. <https://doi.org/10.1080/02841860802680427>
- Yu, H. S., Chang, K. L., Yu, C. L., Chen, J. W., Chen, G. S. (1996). Low-energy helium-neon laser irradiation stimulates interleukin-1 alpha and interleukin-8 release from cultured human keratinocytes. *The Journal of investigative dermatology*, 107(4), 593–596. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12583090>
- Yu, W., Naim, J. O., Lanzafame, R. J. (1994). The effect of laser irradiation on the release of bFGF from 3T3 fibroblasts. *Photochemistry and photobiology*, 59(2), 167–170. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1994.tb05017.x>

- Yu, W., Naim, J. O., McGowan, M., Ippolito, K., Lanzafame, R. J. (1997). Photomodulation of oxidative metabolism and electron chain enzymes in rat liver mitochondria. *Photochemistry and photobiology*, 66(6), 866–871. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb03239.x>
- Zajączkowska, R., Kocot-Kępska, M., Leppert, W., Wrzosek, A., Mika, J., Wordliczek, J. (2019). Mechanisms of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1451. <https://doi.org/10.3390/ijms20061451>
- Zamble, D. B., ve Lippard, S. J. (1995). Cisplatin and DNA repair in cancer chemotherapy. *Trends in biochemical sciences*, 20(10), 435–439. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(00\)89095-7](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(00)89095-7)
- Zaplatic, E., Bule, M., Shah, S., Uddin, M. S., Niaz, K. (2019). Molecular mechanisms underlying protective role of quercetin in attenuating Alzheimer's disease. *Life sciences*, 224, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.03.055>
- Zemlan, F. P., Kow, L. M., Pfaff, D. W. (1983). Spinal serotonin (5-HT) receptor subtypes and nociception. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 226(2), 477–485.
- Zhang, L., Xing, D., Gao, X., Wu, S. (2009). Low-power laser irradiation promotes cell proliferation by activating PI3K/Akt pathway. *Journal of cellular physiology*, 219(3), 553–562. <https://doi.org/10.1002/jcp.21697>
- Zhang, X., Li, P., Guo, S., Wang, S., Liu, D. (2018). Quantitation of β -carboline and quercetin in alligator weed (*Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.) by LC-MS/MS and evaluation of cardioprotective effects of the methanol extracts. *Drug discoveries & therapeutics*, 12(6), 341–346. <https://doi.org/10.5582/ddt.2018.01070>
- Zhao, Z., Zhang, H. T., Bootzin, E., Millan, M. J., O'Donnell, J. M. (2009). Association of changes in norepinephrine and serotonin transporter expression with the long-term behavioral effects of antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(6), 1467–1481. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.183>
- Zheng, H., Xiao, W. H., Bennett, G. J. (2012). Mitotoxicity and bortezomib-induced chronic painful peripheral neuropathy. *Experimental neurology*, 238(2), 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.08.023>

Zhu, J., Chen, W., Mi, R., Zhou, C., Reed, N., Höke, A. (2013). Ethoxyquin prevents chemotherapy-induced neurotoxicity via Hsp90 modulation. *Annals of neurology*, 74(6), 893–904. <https://doi.org/10.1002/ana.24004>

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Sisplatin ile İndüklenmiş *in vitro* Periferik Nöropati Modelinde Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Tedavisinin Etkilerinin İncelenmesi” başlıklı doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Simge ÜNAY

24/03/2022

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÜNAY, Simge
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Antalya 15.03.1992
E-mail : simgeunay@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce, İspanyolca

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2022
Yüksek Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2018
Lisans	Başkent Üniversitesi	2015

BURSLAR ve ÖDÜLLER

- YÖK 100/2000 Öncelikli Alanlar Doktora Bursu (2018-2022)

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
-----	-----------	-------

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

- Ramonaitea R, Petrolisa R, Unay S, Kiudelis G, Skieceviciene J, Kupcinskas L, Bilgin M D, Krisciukaitis A, Mathematical morphology-based imaging of gastrointestinal cancer cell motility and 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence, Biomed. Eng.-Biomed. Tech. 2019.

2. PROJELER

- Sisplatin ile İndüklenmiş in vitro Periferik Nöropatide Kuersetin ve Düşük Seviyeli Lazer Tedavisinin Etkilerinin İncelenmesi, Desteleyen Kuruluş: 220S547 nolu TÜBİTAK 1002 projesi (Proje yürütücüsü)

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Sunulan Bildiriler

- Virtual Instruments in Biomedicine-2017, 19 Mayıs 2017, Klapedia / LİTVANYA- 5-Aminolevulinic Acid-Mediated Fluorescence In Colon Cancer Cell Line- Sözel Sunumu
- The 5th Photodynamic Day In the framework of the International Day of Light 2021, 18 Mayıs 2021 Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, İstanbul/ TÜRKİYE- 5-Aminolevulinic Acid-Mediated Photodynamic Diagnosis In Colon Cancer- Poster Sunumu

B) Ulusal Kongrelerde Sunulan Bildiriler

- 28-29. Ulusal Biyofizik Kongresi, 6-9 Eylül 2017, İstanbul / TÜRKİYE- AGS, MKN-28 ve HCT116 Hücre Dizinlerinde 5-ALA ile Uyarılmış Foto Dinamik Tanı- Poster Sunumu