

UTERUS DOKUSU ÜZERİNE DOKSORUBİSİN VE AGOMELATİN'İN ETKİLERİ: HİSTOPATOLOJİK BİR ÇALIŞMA

THE EFFECTS OF DOXORUBICIN AND AGOMELATIN ON UTERUS TISSUE: A HISTOPATHOLOGICAL STUDY

Büşra CANDAN¹, Malik Ejder GÜLPAK², Perihan SEZGİNER³

¹ Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Ana Bilim Dalı, Antalya, TÜRKİYE

² Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi Antalya, TÜRKİYE

³ Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Sağlık Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Antalya, TÜRKİYE

Cite this article as: Candan B, Gülpak ME, Sezginer P. The Effects of Doxorubicin and Agomelatin on Uterus Tissue: A Histopathological Study. Med J SDU 2024; 31(1): 13-20.

Öz

Amaç

Antrasiklin bir antibiyotik olan doksorubisin (DOX) çeşitli kanser tiplerinin tedavilerinde kullanılan bir ilaçtır. Apoptozis, inflamasyon, serbest radikal oluşumu ve mitokondriyal DNA hasarı sonucunda akciğer, böbrek, kalp, karaciğer, beyin ve over gibi organlarda hasara neden olur. Agomelatin (AGO) güçlü bir antioksidan olan melatoninin agonistidir. AGO'nun; kalp, beyin, böbrek, karaciğer ve over dokularında anti-inflamatuvar ve antioksidan etkinliği çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, DOX'un uterus dokusunda neden olduğu toksisite üzerine AGO'nun koruyucu etkisini belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma her grupta 8 dişi sıçan olacak şekilde toplamda 32 sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney grupları; Kontrol, DOX, DOX+AGO₂₀ ve DOX+AGO₄₀ şeklinde 4 gruptan oluşturuldu. Kontrol grubunda yer alan sıçanlara 12 gün boyunca günde tek doz 1 ml serum fizyolojik (SF) oral gavajla ve sadece 12. gün intraperitoneal olarak verildi. DOX grubundaki hay-

vanlara 12 gün boyunca her gün oral gavaj yöntemiyle 1 ml SF ve 12.günde intraperitoneal (i.p.) olarak tek doz 40 mg/kg DOX verildi. DOX+AGO₂₀ grubundaki hayvanlara 12 gün boyunca her gün oral gavaj yöntemiyle 20 mg/kg AGO ve 12.gün i.p. olarak 40 mg/kg DOX verildi. DOX+AGO₄₀ grubunda yer alan hayvanlara da 12 gün boyunca her gün oral gavaj tekniğiyle 40 mg/kg AGO ve 12.günde 40 mg/kg i.p. olarak DOX verildi.

Bulgular

Yapılan histopatolojik işlemler ve incelemeler sonucunda DOX grubuna ait uterus dokularında oluşan hasarlanmaya karşı, DOX+ AGO₂₀ ve DOX+AGO₄₀ kombine uygulanan gruplarda hasarın azaldığı görülmüştür. İmmün boyamalar (E-kadherin ve eNOS) sonucunda da DOX grubunda boyanma şiddetinin fazla, DOX+ AGO₂₀ ve DOX+AGO₄₀ kombine gruplarda ise daha az olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç

Sonuç olarak DOX'un uterus dokusunda oluşturduğu hasara karşı AGO'nun koruyucu etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

Sorumlu yazar ve iletişim adresi / Corresponding author and contact address: B.C. / busra.candan@alanya.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 14.04.2023 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 12.01.2024

ORCID IDs of the authors: B.C: 0000-0002-5138-5583; M.E.G: 0000-0003-2870-6470;

P.S: 0000-0002-1846-5530

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, Doksorubisin, Histopatoloji, Uterus

Abstract

Objective

Doxorubicin (DOX), an anthracycline antibiotic, is a drug used in the treatment of various types of cancer. It causes damage to organs such as lung, kidney, heart, liver, brain and ovary as a result of apoptosis, inflammation, free radical formation, mitochondrial DNA damage. Agomelatine (AGO) is an agonist of the powerful antioxidant melatonin. Anti-inflammatory and antioxidant activity of AGO in heart, brain, kidney, liver and ovary tissues has been demonstrated by various studies. In this study, we aimed to determine the protective effect of AGO on the toxicity of doxorubicin in the uterine tissue.

Material and Method

This study was carried out on 32 rats, 8 female rats in each group. Experimental groups: Control was formed from 4 groups as DOX, DOX+AGO₂₀ and DOX+AGO₄₀. The rats in the control group were given 1 ml of saline (SF) once a day by oral gavage for 12 days and intraperitoneally only on the 12th day. The animals in the DOX group were given 1 ml of saline by oral gavage

every day for 12 days and a single dose of 40 mg/kg DOX intraperitoneally (i.p.) on the 12th day. Animals in the DOX+AGO₂₀ group were given 20 mg/kg AGO by oral gavage method every day for 12 days. On the 12th day, i.p. 40 mg/kg DOX was given. Animals in the DOX+AGO₄₀ group were given 40 mg/kg AGO by oral gavage method every day for 12 days. On the 12th day, i.p. 40 mg/kg DOX was given.

Results

As a result of the histopathological procedures and examinations, it was observed that the damage to the uterine tissues of the DOX group was reduced in the groups that were administered DOX+ AGO₂₀ and DOX+AGO₄₀ combined. As a result of immunostaining (E-cadherin and eNOS), it was determined that the staining intensity was higher in the DOX group and less in the DOX+ AGO₂₀ and DOX+AGO₄₀ combined groups.

Conclusion

As a result, we think that AGO has a protective effect against the damage caused by DOX in the uterine tissue.

Keywords: Agomelatine, Doxorubicin, Histopathology, Uterus

Giriş

Bir antrasiklin antibiyotik ajan olan doksorubisin (DOX) farklı kanser tedavilerinde kullanılır. DOX non-neoplastik dokular üzerinde de toksik etkilere ve organ hasarına sebep olabilir (1). İnflamasyon, apoptozis, mitokondriyal DNA hasarı, kalsiyum metabolizmasının bozulması, serbest radikallerin oluşumu sonucunda kalp, beyin, karaciğer, akciğer, böbrek ve over gibi organlarda hasar meydana gelir (2-4). DOX' un birçok neoplastik hastalığın tedavisinde hayati rol oynamasından dolayı yapılan çalışmalar toksik etkisinin ortadan kaldırılmasına veya azaltılmasına yöneliktir (5). Bu amaçla da çeşitli adjuvan ilaçlar kullanılmıştır (6-8). DOX; NF-κB aktivasyonu, mitokondriyal membran permeabilite geçişi ile oksidatif stres oluşumunu ve sitokrom c salımı sonucunda apoptozu indüklemektedir. Bu süreç antioksidan niteliğinde bir ilacın kombine tedavisiyle azaltılabilir (9-15). Melatonin (MEL), epifiz bezinin salgı ürünüdür ve antioksidan görevi görür. Yapılan çalışmalarda melatoninin, DOX ile indüklenen reaktif oksijen türlerinin üretimini inhibe ettiği ve oksidatif stresi azalttığı tespit edilmiştir (16). Yenilikçi bir antidepresan olan Agomelatin (AGO); melatonerjik

M1 ve M2 reseptör agonisti ve serotonerjik (5-HT_{2C}) reseptör antagonistidir. AGO melatoninin M1 ve M2 reseptörlerine yüksek affinite gösterir ve MEL'in antioksidan özelliğini taklit eder. Oksidatif stres oluşturularak yapılan bazı deneysel çalışmalarda AGO'nun MEL ile aynı şekilde antioksidan işlevi gördüğü bulunmuştur (16-18). AGO'nun; kalp, beyin, karaciğer, böbrek ve over dokularında anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkinliği çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir (4,19,20).

Bu çalışmada; anti-inflamatuar ve anti-oksidan özelliği olan AGO'nun, dişi sıçanların uterus dokusunda DOX ile oluşturulan hasar üzerine koruyucu etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Wistar cinsi 250-350 gr ağırlığında toplam 32 adet dişi sıçan kullanıldı. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi Üretim Biriminde üretilen sıçanlar deney süresince standart Ad libitum beslenme rejimi uygulanarak, 22-24 °C sıcaklık ve %55 nem olan oda

şartlarında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde Euro type-4 kafesler içinde barındırıldı. Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında etik kurallara uygun şekilde gerçekleştirildi. Çalışmamız Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (HADYEK Onay no: 06.01.2022-01-08) ve tüm çalışma boyunca etik kurallara uyulmuştur.

Deney Planı

Dişi ratlardan oluşan toplam 32 deney hayvanı her grupta eşit hayvan (n=8) olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol, DOX, DOX+AGO₂₀ ve DOX+AGO₄₀

I. Kontrol grubuna 12 gün boyunca oral gavaj ile ve 12.günde i.p. olarak SF verilmiştir.

II. DOX grubuna 5 ml SF içinde 40 mg/kg DOX çözdürüldü. 0. günden 12. güne kadar oral gavaj yöntemiyle SF ve 12.gün tek doz 40 mg/kg DOX i.p. olarak verildi (21).

III. DOX+AGO₂₀ grubundaki dişi ratlara 1 ml SF içinde 20 mg/kg AGO çözdürüldü ve 0. günden 12. güne kadar oral gavaj yöntemiyle verildi. Ek olarak 12. gün 40 mg/kg i.p. olarak DOX uygulandı (21,22).

IV. DOX+AGO₄₀ grubundaki deney hayvanlarına 1 ml SF içinde 40 mg/kg AGO çözdürüldü ve 0. günden 12. güne kadar oral gavaj yöntemiyle verildi. Ek olarak 12. gün 40 mg/kg i.p. olarak DOX uygulandı (21,23).

Deney sonunda anestezi (%10 Ketamin HCl 90 mg/kg ve %2 Ksilazin HCl 10 mg/kg) uygulanarak tüm sıçanlar sakrifiye edildi.

Ratlardan alınan uterus dokuları %10 formaldehit içeren sıvı içinde fikse edilip, histolojik takip yöntemleri uygulanmasının ardından parafinde bloklandı. Elde edilen bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak

Hematoksilen-Eozin (H-E) ve E-kadherin (Genetex Cat: GTX60188 USA) ve eNOS (BIOSS Cat: bs-0163R) antikorları kullanılarak immün boyama gerçekleştirildi. Hazırlanan örnekler ZEISS AX10 fotomikroskop (Almanya) kullanılarak incelendi ve değerlendirme, hasar derecesi 0 ile 3+ arasında skorlanarak yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Deneyden elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programında gerçekleştirildi. Ölçüm değerleri homojen dağılım göstermediği için non-parametrik testlerle çalışıldı. Gruplar arası farkın anlamlılığını değerlendirmede ANOVA Varyans analiz testi kullanıldı. Anlamlılık sınırı p<0,05 olarak kabul edildi.

Bulgular

Histolojik olarak H-E boyamaları yapıldıktan sonra değerlendirme ve yorumlama işlemleri yapıldı. İmmünohistokimyasal boyama tekniği yapıldıktan sonra preparatların değerlendirme ve yorumlama işlemleri yapıldı. Son olarak Refaiy ve arkadaşlarının yapmış oldukları skorlama tekniği kullanılarak istatistiksel analizlere uygun hale getirildi (24) (Tablo 1).

Histokimyasal Analiz Sonuçları

Kontrol ve DOX+AGO₄₀ grubuna ait uterus dokularının incelenmesi sonucu her iki grupta da normal histopatolojik bulgular gözlenmiştir. Ancak DOX uygulanan grubun uterus dokularının incelenmesi sonucunda endometriyal bezlerde dejenerasyon, damarlarda konjesyon ile hemoraji ve lökosit göçü gözlenmiştir (Resim 1). DOX+AGO₂₀ verilen grupta ise DOX verilen gruba göre histopatolojik bulgularda azalma gözlemlenmiştir (Tablo 2, Grafik 1).

İmmünohistokimya Analiz Sonuçları

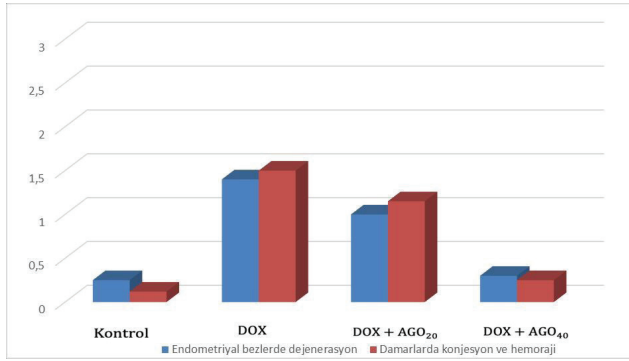
Kontrol ve DOX+AGO₄₀ grubuna ait uterus dokularının immün boyamaları incelenmiş ve negatif olduğu tespit edilmiştir. DOX uygulanan grupta ise E-kadherin

Tablo 1

Histolojik ve İmmünohistokimyasal değerlendirmelerin skor tablosu

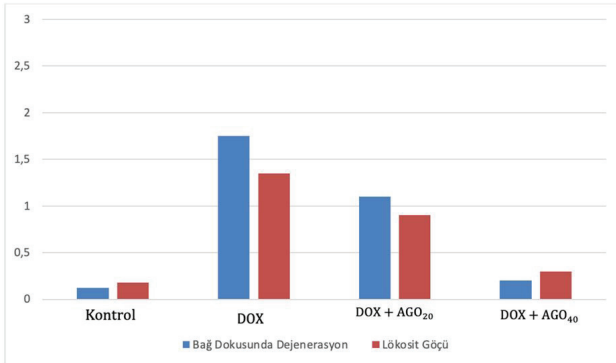
Sembol	Değerler	Histopatolojik skorlar	İmmünohistokimyasal skorlar
(-) puan	Negatif puan	Bulgu yok	Boyanma yok
(+) puan	1 Pozitif puan	Az sayıda bulgu var	Az boyanma var
(++) puan	2 Pozitif puan	Normal sayıda bulgu var	Normal boyanma var
(+++)	3 Pozitif puan	Çok sayıda bulgu var	Çok boyanma var

ve eNOS immün boyamalarının pozitif olduğu görülmüştür. DOX+AGO₂₀ uygulanan grubun uterus dokuları incelendiğinde E-kaderin ve eNOS immün boyamaları olduğu ancak bu boyanmaların DOX verilen gruba göre azaldığı görülmüştür (Resim 2). Gruplar arasındaki E-kaderin (Tablo 3 ve Grafik 2) ve eNOS (Tablo 3 ve Grafik 2) immün boyamalarının istatistiksel verileri de bu sonuçları desteklemektedir (p<0,05). Ayrıca immünohistokimyasal yöntemle boyanan uterus doku kesitlerindeki E-kaderin ve eNOS yoğunluklarının belirlenmesinde, Refaiy ve arkadaşlarının yapmış oldukları skorlama tekniği kullanılmıştır (24).



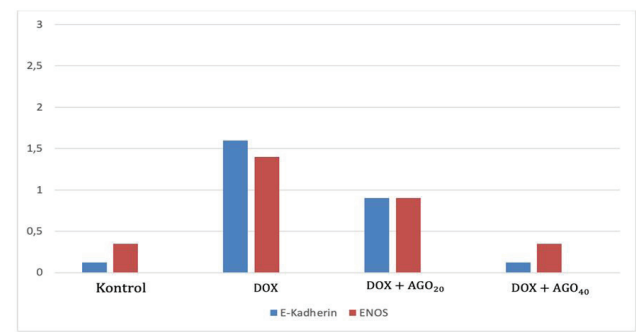
Grafik 1:

Uterus dokusunda gruplara göre endometriyal bezlerdeki dejenerasyon ve damarlardaki konjesyon ile hemoraji parametrelerinin istatistiksel olarak değerlendirme sonuçları.



Masson Analiz Sonuçları

Kontrol ve DOX+AGO₄₀ gruplarına ait uterus dokularının masson boyamalarının incelenmesi neticesinde herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmamıştır. DOX verilen grubun preparatları incelendiğinde ise endometriyum tabakasında bulunan bağ dokusunda dejenerasyonlar ve lökosit göçünün olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4, Grafik 3). DOX+AGO₂₀ uygulanan grubun dokuları incelendiğinde ise DOX grubuna göre özellikle bağ dokusunda oluşan dejenerasyonlarda azalma olduğu gözlemlenmiştir. Lökosit göçünde anlamlı bir azalma görülmemiştir (Resim 3).



Grafik 2:

Uterus dokusunda gruplara göre E-kaderin ve eNOS immün boyanma derecelerinin istatistiksel olarak değerlendirme sonucu.

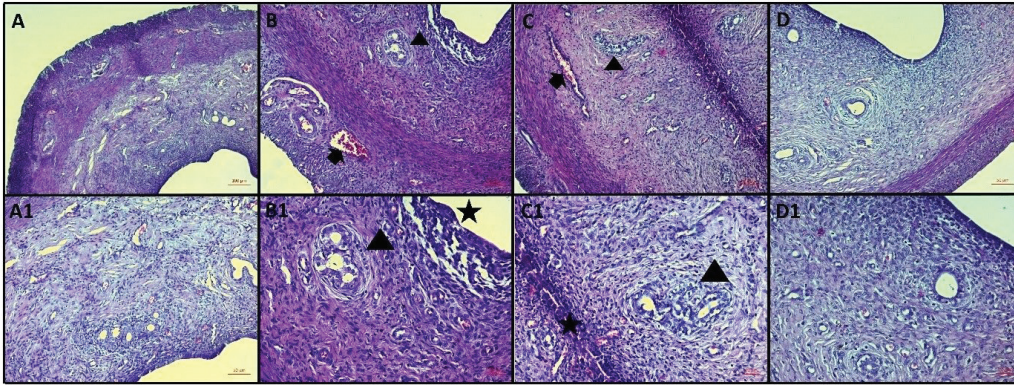
Grafik 3:

Uterus dokusundaki masson boyama sonuçlarına göre gruplardaki bağ dokusunda dejenerasyon ve lökosit göçü parametrelerinin istatistiksel olarak değerlendirme sonucu.

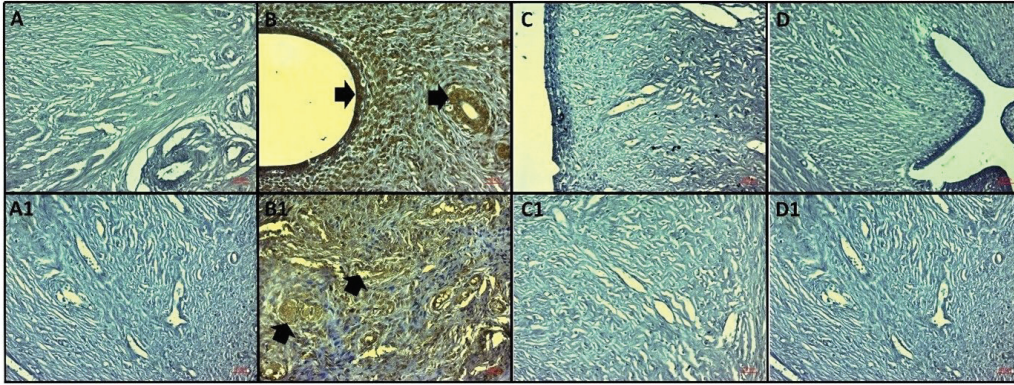
Tablo 2

Histopatolojik Değerlendirme Tablosu

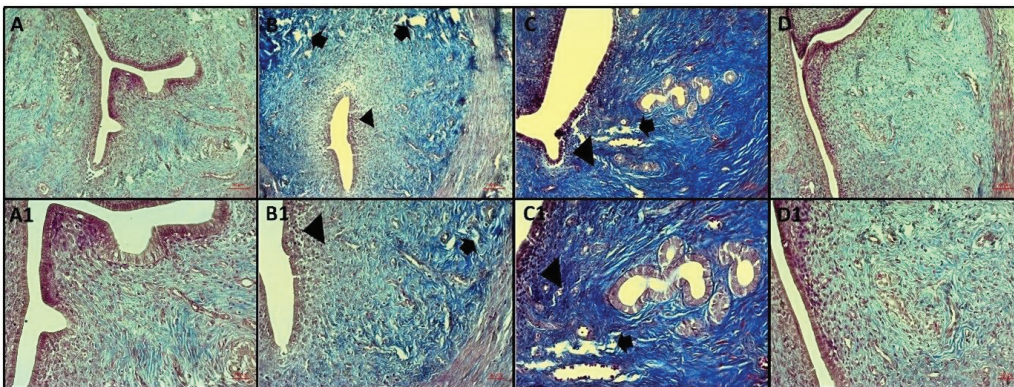
Sembol	Değerler	Histopatolojik skorlar	İmmünohistokimyasal skorlar
(-) puan	Negatif puan	Bulgu yok	Boyanma yok
(+) puan	1 Pozitif puan	Az sayıda bulgu var	Az boyanma var
(++) puan	2 Pozitif puan	Normal sayıda bulgu var	Normal boyanma var
(+++)	3 Pozitif puan	Çok sayıda bulgu var	Çok boyanma var

**Resim 1:**

Kontrol (A ve A1) grubuna ait uterus dokuları normal görünümündedir. DOX (B ve B1) grubunda siyah oklarla damarlardaki konjesyon ve hemoraji, ok başlarıyla endometriyal bezlerdeki dejenerasyon ve yıldız işaretleriyle de epitel hücrelerindeki hasarlanmalar gösterilmiştir. DOX+AGO₂₀ (C ve C1) grubunda ok başlarıyla endometriyal bezlerdeki dejenerasyon ve yıldız işaretleriyle epitel hücrelerindeki hasarlanmalar vardır. DOX+AGO₄₀ grubunda ise herhangi bir histopatolojik bulgu görünmemektedir (D ve D1). (A, B, C ve D X10) ve (A1, B1, C1 ve D1 X20).

**Resim 2:**

Kontrol (A ve A1), DOX+AGO₂₀ (C ve C1) ve DOX+AGO₄₀ (D ve D1) gruplarında E-kaderin (A, B, C ve D) ve eNOS (A1, B1, C1 ve D1) immün reaksiyon görülmedi. DOX (B ve B1) grubunda ise E-kaderin ve eNOS immün pozitif reaksiyon (siyah oklar) görüldü. X20.

**Resim 3:**

Kontrol (A, A1) ve DOX+AGO₄₀ (D, D1) grubuna ait görüntülerde histopatolojik bulguya rastlanmadı. DOX (B ve B1) ve DOX+AGO₂₀ (C ve C1) gruplarında ise bağ dokusunda dejenerasyon (siyah ok) ve lökosit göçü (siyah ok başı) görüldü (A, B, C ve D X10) (A1, B1, C1 ve D1 X20).

Tablo 3

İmmünohistokimyasal Değerlendirme Tablosu

Primer antikorlar / Gruplar	Kontrol	DOX	DOX+AGO ₂₀	DOX+AGO ₄₀
E-kaderin	-	++	+	-
ENOS	-	++	+	-

Tartışma

Kanser, dünyada morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir. Antrasiklinler, özellikle DOX uzun zamandır kanser tedavisinde kullanılmaktadır. DOX meme, mide, akciğer, mesane, over, tiroid, yumuşak doku sarkomu, multipl miyelom ve Hodgkin lenfoma kanserlerini tedavi etmek için yaygın olarak kullanılır (25).

DOX, hedef hücrelerin çekirdek ve mitokondrilerinde DNA hasarına ve oksidatif strese neden olur. Bu durum dismutaz artışı ile birlikte glutatyon peroksidaz aracılığıyla hidrojen peroksit miktarında artışa yol açar. Bunun sonucunda da hücrede serbest oksijen radikallerin oluşması DNA hasarına neden olur (4,26). DOX, DNA'daki replikasyonu ve transkripsiyonu önler. Yapılan bir çalışma da DOX'un insan primordial foliküllerindeki hem oositlere hem de granüloza hücrelerine zarar verdiği gösterilmiştir (27,28).

AGO anti-inflamatuvar ve antioksidan özelliklere sahip güçlü bir melatonin reseptör agonistidir (29). AGO'nun, MEL ile aynı şekilde antioksidan görevi gördüğü gösterilmiştir (16). Jia ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada AGO'nun antioksidan özelliği sayesinde beyin dokusunu ve overleri iskemi reperfüzyon hasarından koruduğunu göstermişlerdir (30). İnsanlarda melatonin reseptörleri miyometriyumda da tespit edilmiştir. Ercan ve ark. yaptıkları bir çalışma da AGO'nun doğrudan ya da oksitosinin indüklediği miyometriyum kasılmalarını doza bağımlı olarak inhibe ettiğini tespit etmişlerdir (31).

DOX, folikülogenezi ve oogenezi bozarak ovulasyon ve uterus döngüsünün bozulmasına neden olur. Buna ek olarak DOX, endoplazmik retikulum stresiyle birlikte kalsiyum sinyal mekanizmasını bozarak mitokondriyal disfonksiyona da neden olur. DOX ile yapılan tedavi sonrasında overin primordial foliküllerinde azalma, oositlerin beslenmesinde bozulma ve hasarlı granüloza hücresi oluşumuna sebep olduğu tespit edilmiştir. Yapılan histolojik çalışmalarda DOX ile tedavi edilen fareler incelenmiş ve ilerleyen sürede

vasküler hiyalinizasyona ve overlerin korteksinde bulunan damarların duvarında kalınlaşmaya neden olduğu görülmüştür. Ayrıca ilacın artan dozlarına bağlı olarak oksidatif stres oluşmakta ve bu durum foliküler atreziye neden olmaktadır. Başka bir çalışma da ise DOX uygulamasına bağlı olarak uterin çapta azalma, miyometrial kalınlıkta ve endometrial bez çapında artış, ince endometriyum oluşumu ve endometriyal aracılı kısırlığa neden olduğu bulunmuştur (28, 32, 33, 34). Çalışmamızda endometriyal bezlerde dejenerasyon, endometriumdaki damarlarda konjesyon ve hemoraji, lökosit göçü ve bağ dokusunda dejenerasyona rastlanmıştır. Ancak AGO uygulanan grupta histopatolojik bulgularda azalmalar tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada DOX uygulanmasına bağlı olarak over ve uterus dokularında oksidatif stres ve apoptozun arttığı ve bundan dolayı oosit yıkımı, over rezervinin tükenmesi, hormonal sekresyonun değişmesi ve atrofiye neden olduğu görülmüştür (35). Bizim çalışmamızda da DOX grubunda sıçanların uterus dokularında endometriyal bezlerde dejenerasyon ve damarlarda konjesyon ile hemoraji gibi yapısal değişiklikler görülmüştür. Buna ek olarak yaptığımız masson boyaması ile de bağ dokusunda dejenerasyon ve lamina propriya bölgesinde lökosit göçü tespit edilmiştir. Koruyucu amaçlı verdiğimiz AGO'nun bu histopatolojik bulguları azalttığı görülmüştür.

DOX proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunda önemli artışa neden olarak inflamatuvar bir yanıt oluşumunu tetikler. Fabbri ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada DOX kullanımı sonrası IL-6, IL-8, TNF- α , siklooksijenaz-2 (COX-2), metalloproteinaz-2 ve metalloproteinaz-9'a (MMP2 ve MMP9) gibi inflamatuvar faktörlerin ekspresyonunda artış gözlenmiştir (36). Bizim yaptığımız çalışmada da DOX'in TNF- α ekspresyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. AGO uygulaması ile TNF- α ekspresyonunun azaldığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda DOX kullanımı sonrası ROS üretiminin artmasıyla bağlantılı olarak p53, Bcl-2 ve Bax mRNA ekspresyonunun arttığı ve buna bağlı olarak da granüloza hücrelerinin apoptoza gittiği gösterilmiş-

tir (28). Cengiz ve ark. yaptıkları bir çalışmada DOX verilen sıçanlarda inflamasyon belirteçleri olan IL1- β ve TNF- α immün reaktivitelerinde artış olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da TNF- α ekspresyonunun artmasını takiben aynı zamanda E-kaderin ekspresyonunun da arttığı tespit edildi. Buna bağlı olarak epitel hücrelerinde hasarlanma görüldü.

DOX caspaz-3 gibi apoptotik hücre sayısında artışa neden olarak over hasarına neden olduğu belirtilmiştir (37). Najaf ve ark. yaptıkları bir çalışmada DOX verilen dişi sıçanlarda over ve uterus dokularında TNF- α sitokin ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (35). Uterus dokusunda yapmış olduğumuz TNF- α ve E-kaderin immün boyamaları neticesinde bizde benzer sonuçlara ulaştık. AGO uygulaması sonucunda TNF- α ve E-kaderin ekspresyonlarının azaldığını gözlemledik.

Sonuç

Yaptığımız immün boyamalar neticesinde DOX verdiğimiz sıçanların uterus dokularında E-kaderin ve eNOS ekspresyonlarının artması, DOX' un eNOS sentezini ve sitokin ekspresyonunu uyardığını göstermektedir. Sonuç olarak, DOX oksidatif hasar yoluyla uterus toksisitesine neden olmaktadır. Ancak DOX+AGO₂₀ ve DOX+AGO₄₀ gruplarında AGO'nun antioksidan özelliğinden dolayı koruyucu etkisiyle uterusda ki hasarı azalttığı gözlenmiştir. Bu sonuçlara dayanarak AGO'nun DOX'un neden olduğu uterus hasarında etkin olarak kullanılabilir bir antioksidan olduğunu düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Etik Kurul Onayı

Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alınmıştır (HADYEK Onay no: 06.01.2022-01-08) ve tüm çalışma boyunca hayvan refahına ve etik kurallara uyulmuştur.

Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kâr amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

Yazar Katkıları

BC: Çalışmanın planlanması; Verilerin İşlenmesi; For-

mal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

MEG: Çalışmanın uygulanması; Makalenin düzenlenmesi.

PS: Araştırma; Makalenin Düzenlenmesi.

Kaynaklar

1. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Velmurugan BK, Jacob JA, Karuppusamy I. Toxicity of doxorubicin (Dox) to different experimental organ systems. *Life sciences* 2018; 200:26-30.
2. Chabner BA, Amrein PC, Druker B, Michaelson MD, Mitsiades CS, Goss PE et al. Antineoplastic agents. The pharmacological basis of therapeutics 9/e. 2006:1315-465.
3. Vendramini V, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2010; 8:1-3.
4. Nishi K, Gunasekaran VP, Arunachalam J, Ganeshan M. Doxorubicin-induced female reproductive toxicity: an assessment of ovarian follicular apoptosis, cyclicity and reproductive tissue histology in Wistar rats. *Drug and Chemical Toxicology* 2017; 41(1): 72-8.
5. Ashour AE, Sayed-Ahmed MM, Abd-Allah AR, Korashy HM, Maayah ZH, Alkhalidi H et al. Metformin rescues the myocardium from doxorubicin-induced ener starvation and mitochondrial damage in rats. *Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:434195.
6. De Leonardis V, Neri B, Bacalli S, Cinelli P. Reduction of cardiac toxicity of anthracyclines by l-carnitine: preliminary overview of clinical data. *Int J Clin Pharmacol Res* 1985;5(2):137-42.
7. Morishima I, Matsui H, Mukawa H, Hayashi K, Toki Y, Okumura K et al. Melatonin, a pineal hormone with antioxidant property, protects against adriamycin cardiomyopathy in rats. *Life Sci* 1998;63(7):511-21.
8. Tatlıdede E, Sehirli O, Velioglu-Ogunc A, Çetinel Ş, Yeğen BÇ, Yarat A et al. Resveratrol treatment protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage. *Free Radic Res* 2009;43(3):195-205.
9. Zhou S, Starkov A, Froberg MK, Leino RL, Wallace KB. Cumulative and irreversible cardiac mitochondrial dysfunction induced by doxorubicin. *Cancer Res* 2001;61(2):771-7.
10. Ikeda Y, Aih AK, Akaïke M, Sato T, Ishikawa K, Ise T et al. Androgen receptor coneracts doxorubicin-induced cardiotoxicity in male mice. *Mol Endocrinol* 2010;24(7):1338-48.
11. Ascensao A, Lumini-Oliveira J, Machado NG, Ferreira RM, Gonçalves IO, Moreira AC et al. Acute exercise protects against calcium-induced cardiac mitochondrial permeability transition pore opning in doxorubicin-treated rats. *Clin Sci (Lond)* 2011;120(1):37-49.
12. Montaigne D, Marechal X, Preau S, Baccouch R, Modine T, Fayad G et al. Doxorubicin induces mitochondrial permeability transition and contractile dysfunction in the human myocardium. *Mitochondrion* 2011;11(1):22-6.
13. Kalivendi SV, Konorev EA, Cunningham S, Vanamala SK, Kaji EH, Joseph J et al. Doxorubicin activates nuclear factor of activated t-lymphocytes and fas ligand transcription: role of mitochondrial reactive oxygen species and calcium. *Biochem J* 2005;389(2):527-39.
14. Jang Ym, Kendaiah S, Drew B, Phillips T, Selman C, Julian D et al. Doxorubicin treatment in vivo activates caspase-12 mediated cardiac apoptosis in both male and female rats. *FEBS Lett* 2004;577(3):483-90.
15. Wang S, Kotamraju S, Konorev E, Kalivendi S, Joseph J, Kalyanaraman B. Activation of nuclear factor Kappa B during

- doxorubicin-induced apoptosis in endothelial cells and myocytes is pro-apoptotic: the role of hydrogen peroxide. *Biochem J* 2002;367(3):729-40.
16. Aygun H, Gul SS. Bir sıçan modelinde melatonin ve agomelatinin doksorubisin kaynaklı kardiyotoksosite üzerindeki kardiyoprotektif etkisi: elektrokardiyografik, sintigrafik ve biyokimyasal bir çalışma. *Bratislavske lekarske listy* 2019;120(4):249-55.
 17. Kennedy SH, Rizvi S, Fulton K, Rasmussen J. A Double-blind comparison of sexual functioning, antidepressant efficacy, and tolerability between agomelatine and venlafaxine XR. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 2008;28(3):329-33.
 18. Demirdaş A, Nazıroğlu M, Ünal GÖ. Agomelatine reduces brain, kidney and liver oxidative stress but increases plasma cytokine production in the rats with chronic mild stress-induced depression. *Metabolic brain disease* 2016;31(6):1445-453.
 19. Başol N, Erbaş O, Çavuşoğlu T, Meral A, Ateş U. Beneficial effects of agomelatine in experimental model of sepsis-related acute kidney injury. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2016; 22(2):121-6.
 20. Song Y, Chan CW, Brown GM, Pang SF, Silverman M. Studies of the renal action of melatonin: evidence that the effects are mediated by 37 kda receptors of the mel1a subtype localized primarily to the basolateral membrane of the proximal tubule. *FASEB J* 1997;11(1): 93-100.
 21. Montgomery MD, Chan T, Swigart PM, Myagmar BE, Dash R, Simpson PC. An Alpha-1A adrenergic receptor agonist prevents acute doxorubicin cardiomyopathy in male mice. *Plos One* 2017;12(1): E0168409.
 22. He J, Fang P, Zheng X, Wang C, Liu T, Zhang B et al. Inhibitory effect of celecoxib on agomelatine metabolism in vitro and in vivo. *Drug Des Devel Ther* 2018;9(12):513-19.
 23. Molteni R, Macchi F, Zecchillo C, Dell'agli M, Colombo E, Calabrese F et al. Modulation of the inflammatory response in rats chronically treated with the antidepressant agomelatine. *Eur Neuropsychopharmacol* 2013;23(11):1645-55.
 24. Refaiy A, Muhammad E, ElGanainy E. Semiquantitative smoothenin expression in detection of muscle invasion in transurethral resection and cystectomy specimen in cases of urinary bladder carcinoma. *African Journal of Urology* 2011;17(1):6-10.
 25. Rivankar S. An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *J Cancer Res Ther* 2014;10(4):853-8.
 26. Demirbağ HO. Doksorubisin kaynaklı ovaryum hasarında adipoz kökenli mezenkimal kök hücrelerin PTEN/AKT/FOXO3A yolağı ve follikulogenez üzerine etkilerinin incelenmesi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi. Mersin: Mersin Üniversitesi. 2020.
 27. Roness H, Kashi O, Meirou D. Prevention of chemotherapy-induced ovarian damage. *Fertil Steril* 2016;105(1):20-9.
 28. Zhang T, He WH, Feng LL, Huang HG. Effect of doxorubicin-induced ovarian toxicity on mouse ovarian granulosa cells. *Regul toxicol pharmacol* 2017;86:1-10.
 29. Khalaf HM, Abdalla AM, Ahmed AF, Abdel-Aziz A M. Role of nitric oxide in mediating the cardioprotective effect of agomelatine against isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2020;393(10):1809-23.
 30. Jia P, Liu C, Wu N, Jia D, Sun Y. Agomelatine protects against myocardial ischemia reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening. *American journal of translational research* 2018;10(5):1310-323.
 31. Ercan Z, Kaçar E, Serhatlıoğlu I. Bir antidepresan olan agomelatinin sıçan miyometriyum kontraksiyonları üzerine etkilerinin incelenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi* 2017;31(2): 89-2.
 32. Mohan UP, Pb TP, Kunjiappan S, Arunachalam S. A hypothesis concerning the role of PPAR family on cardiac energetics in Adriamycin-induced cardiomyopathy. *J Appl Toxicol* 2022;42(12):1910-20.
 33. Abdella EM, Ahmed R. Suppression of doxorubicin apoptotic, histopathologic, mutagenic and oxidative stress effects in male mice bone marrow and testis tissues by aqueous rosemary leaves extract. *IJCP* 2009;2(1):35-49.
 34. Gewirtz DA. Emerging concepts: New article category in molecular pharmacology. *Mol Pharmacol* 2020;98(4):350.
 35. Samare-Najaf M, Zal F, Safari S, Koohpeyma F, Jamali N. Stereological and histopathological evaluation of doxorubicin-induced toxicity in female rats' ovary and uterus and palliative effects of quercetin and vitamin E. *Hum Exp Toxicol* 2020;39(12):1710-24.
 36. Fabbri R, Macciocca M, Vicenti R, Caprara G, Piccinni MP, Paradisi R. Epigallocatechin-3-gallate inhibits doxorubicin-induced inflammation on human ovarian tissue. *Biosci Rep* 2019;39(5): BSR20181424.
 37. Cengiz Ö. Doksorubisin ile oluşturulan ovaryum toksisitesi üzerine farklı doz selenyumun etkilerinin değerlendirilmesi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. Kayseri: Erciyes Üniversitesi. 2019.