



TIBBİ DENEYSEL UYGULAMA VE  
ARAŞTIRMA MERKEZİ  
Medical Experimental Application and  
Research Center

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY  
LABORATUVAR HAYVANLARI BİLİMİ VE UYGULAMALARI DERGİSİ  
JOURNAL OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND PRACTICES

## Oksaliplatin ve Naringin'in Dalak Dokusu Üzerine Etkilerinin Rat Modelinde Değerlendirilmesi

Cihan GÜR<sup>1a✉</sup>, Fatih Mehmet KANDEMİR<sup>2a</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE
2. Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-6775-7858<sup>1a</sup>, 0000-0002-8490-2479<sup>2a</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
30.05.2022	04.07.2022	28.09.2022

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
**Gur C, Kandemir FM:** Oksaliplatin ve Naringin'in Dalak Dokusu Üzerine Etkilerinin Rat Modelinde Değerlendirilmesi. Lab Hayv Bil & Uyg Derg, 2(2): 72-80, 2022.

**Öz:** Oksaliplatin (OPL), kolorektal kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin bazlı kemoterapötik ajandır. Naringin (NRG) ise çeşitli biyolojik ve farmakolojik özelliklere sahip olan antioksidan bir bileşiktir. Sunulan çalışmada OPL ve NRG uygulamalarının ratların dalak dokusu üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde oral olarak 50 veya 100 mg/kg vücut ağırlığı NRG verildikten 30 dakika sonra 4 mg/kg vücut ağırlığı OPL periton içine enjekte edildi. Daha sonra dalak dokusunda malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyeleri ile nükleer faktör-eritroid faktör 2-ilişkili faktör 2 (Nrf2), hem oksijenaz-1 (HO-1), nükleer faktör kappa B (NF-κB), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α), B hücreli lenfoma 2-ilişkili X proteini (Bax) ve Kaspaz-3 mRNA transkript seviyeleri analiz edilmiştir. Elde edilen veriler OPL tedavisi sonrası artan MDA seviyelerini NRG'nin azalttığını göstermiştir. Ayrıca OPL uygulaması ile azalan GSH, Nrf2 ve HO-1 seviyelerinin NRG tedavisi sonrası artış gösterdiği belirlendi. Ayrıca OPL ile tetiklenen NF-κB, TNF-α, Bax ve Kaspaz-3 ekspresyonlarının NRG tarafından aşağı yönlü düzenlendiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, OPL'nin dalak dokusunda oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozu tetiklediği buna karşın NRG'nin OPL ile tetiklenen bu olayları tersine çevirdiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, Dalak, Naringin, Oksaliplatin, Oksidatif Stres.

## Evaluation of The Effects of Oxaliplatin and Naringin on Spleen Tissue in a Rat Model

**Abstract:** Oxaliplatin (OPL) is a platinum-based chemotherapeutic agent widely used in the treatment of colorectal cancer. Naringin (NRG) is an antioxidant compound with various biological and pharmacological properties. In the present study, the effects of OPL and NRG administrations on spleen tissue of rats were evaluated. On the 1st and 2nd days of the study and on the 5th and 6th days of the study, 30 minutes after oral administration of 50 or 100 mg/kg body weight NRG, 4 mg/kg body weight OPL was injected intraperitoneally. Then, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels and nuclear factor-erythroid factor 2-related factor-2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1), nuclear factor kappa-B (NF-κB), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), B-cell lymphoma 2-associated X protein (Bax), and Caspase-3 mRNA transcript levels were analyzed in spleen tissue. The data obtained showed that NRG reduced the increased MDA levels after OPL treatment. It was also determined that GSH, Nrf2 and HO-1 levels, which decreased with OPL administration, increased after NRG treatment. Moreover, OPL-induced NF-κB, TNF-α, Bax and Caspase-3 expressions were downregulated by NRG. Taken together, it was concluded that OPL triggered oxidative stress, inflammation and apoptosis in spleen tissue whereas NRG reversed these OPL-induced events.

**Keywords:** Apoptosis, Naringin, Oxaliplatin, Oxidative Stress, Spleen.

✉ Cihan GÜR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
e-posta: cihan.gur@atauni.edu.tr

## GİRİŞ

Oksaliplatin (OPL), kolorektal kanserin neoadjuvan ve adjuvan tedavisi için yaygın olarak lökovorin ve florourasil (FOLFOX) ile birlikte uygulanan 3. nesil platin bazlı bir kemoterapötik ajandır (Lees ve ark., 2020). OPL'nin yapısında bulunan taşıyıcı ligand, DNA sentezinin etkili bir şekilde engellenmesini sağlamakta ve böylece oldukça sitotoksik olan DNA eklentileri oluşturmaktadır (Celik ve ark., 2020). Öte yandan bu platin bazlı bileşiğin ciddi yan etkilere sahip olduğu bilinmektedir. OPL'nin en sık görülen ve hastaların yaşam kalitesini önemli derecede etkileyen olayı nörotoksitesidir. Bu etki ilacın doz sınırlamasına da neden olan periferik nöropati olarak kendini gösterir (el Chediak ve ark., 2018). OPL ayrıca artan inflamatuvar aktivite ile hepatik hasar gelişimine de neden olmaktadır (Schwingel ve ark., 2014). OPL bazlı neoadjuvan kemoterapi rejimlerini izleyen klinik ve patolojik analizler, hepatik sinüzoidal yaralanma, portal hipertansiyon, splenomegali ve trombositopenidir. Birkaç çalışma, dalak boyutundaki artışın derecesinin trombosit sayısındaki azalma ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğunu vurgulamıştır. Bu nedenle, dalak sekestrasyonu, OPL ile indüklenen trombositopeninin önerilen mekanizmalarından biridir (el Chediak ve ark., 2018).

Artan çalışmalar OPL'nin hem sinir sistemi hem de diğer dokularda reaktif oksijen türlerini arttırarak oksidatif strese neden olduğunu ve bunun OPL'nin toksisite mekanizmasının temelini oluşturabileceği vurgulanmıştır (Celik ve ark., 2020; Lu ve ark., 2020). Bu nedenle OPL kaynaklı toksisiteye karşı doğal olarak meydana gelen antioksidan bileşiklerin faydalı olabileceği düşünülmüştür.

Naringin (NRG) (4',5,7-trihidroksiflavanon 7-rhamnoglucoside), greylift ve çeşitli narenciye bitkilerinin önemli bir antioksidanı ve aktif flavanon glikozitidir (Kandemir ve ark., 2017). NRG oral yoldan verildiğinde  $\beta$ -glukosidaz ve  $\alpha$ -ramnosidaz gibi enzimler tarafından hidrolize edilerek bileşiğin ana metaboliti ve emilebilir formu olan naringenin elde edilir (Caglayan ve ark., 2018). Hidrolizden sonra

naringenin karaciğer tarafından hızla glukuronid ara ürünlerine metabolize edilir (Alam ve ark., 2014). NRG'nin antiülser, antioksidan, anti-inflamatuvar, antiapoptotik ve antihiperlipidemik etkileri olduğu bildirilmiştir (Kandemir ve ark., 2017).

Sunulan çalışmada OPL'nin ratların dalak dokusunda oksidatif stres, inflamatuvar ve apoptotik yolaklar üzerine etkileri ve OPL'nin bu etkilerine karşı NRG'nin koruyucu özellikleri araştırılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Kimyasallar

Oksaliplatin, DEVA Holding A.Ş.'den (İstanbul, Türkiye) oksalpin (100 mg/20 ml enjekte edilebilir solüsyon) halinde satın alınmıştır. NRG ve diğer tüm kimyasallar Sigma Chemical Co'dan temin edilmiştir.

### Çalışmada Kullanılan Hayvanlar ve Barındırılma Koşulları

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (Erzurum, Türkiye) temin edilen 35 adet erkek Sprague Dawley ratlar kullanıldı. Ratlar  $24 \pm 1$  °C sıcaklığa,  $45 \pm 5$  neme ve 12 saat karanlık/aydınlık döngüsüne sahip ortamda barındırıldılar ve ad-libitum su ve standart laboratuvar yemi ile beslendiler. Çalışmanın etik kurul izni Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından verildi (Onay No: 2021-3/96).

### Deney Grupları

Hayvanlar her grupta 7 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. OPL ve NRG dozları önceki çalışmalar referans alınarak belirlendi (Caglayan ve ark., 2018; Celik ve ark., 2020). Gruplar;

**1. Kontrol grubu:** Bu ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde periton içine %5'lik glikoz çözeltisi verildi.

**2. NRG grubu:** Bu ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde oral olarak 100 mg/kg vücut ağırlığı NRG verildi.

**3. OPL grubu:** OPL %5'lik dextroz çözeltisi içerisinde çözdürüldükten sonra ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde periton içine 4 mg/kg vücut ağırlığı enjekte edildi (toplam kümülatif doz 16 mg / kg / vücut ağırlığı).

**4. OPL + NRG 50 Grubu:** Bu ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde oral olarak 50 mg/kg vücut ağırlığı NRG verildikten 30 dakika sonra %5'lik dextroz çözeltisi içerisinde 4 mg/kg vücut ağırlığı OPL periton içine enjekte edildi.

**5. OPL + NRG 100 Grubu:** Bu ratlara çalışmanın 1. ve 2. günleri ile 5. ve 6. günlerinde oral olarak 100 mg/kg vücut ağırlığı NRG verildikten 30 dakika sonra %5'lik dextroz çözeltisi içerisinde 4 mg/kg vücut ağırlığı OPL periton içine enjekte edildi.

Son OPL uygulamasından 24 saat sonra (7. gün) ratlar hafif sevofloran anestezisi altında dekapite edilerek dalak dokuları alındı. Dalak dokuları biyokimyasal ve moleküler analizler yapıncaya kadar -80 °C'de saklandı.

#### Dalak Dokusunda Malondialdehit Analizi

Sıvı nitrojen içerisinde toz hale getirilen dalak dokuları %1,15'lik KCl tamponu ile 1:10 (w/v) oranında seyreltilerek homojenizatörde (Tissue Lyser II, Qiagen, Almanya) homojenize edildi. Homojenatlar +4 °C'de 1000 g'de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra süpernatantlarda malondialdehit (MDA) seviyelerinin analizi için Placer ve ark. (1966)'nın geliştirdiği metot kullanıldı. Sonuçlar nmol/g doku olarak değerlendirildi.

#### Dalak Dokusunda GSH Analizi

MDA analizlerinde hazırlanışı anlatılan homojenatlar +4 °C'de 9000 g'de 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra elde edilen süpernatantlar kullanılarak Sedlak ve ark. (1968)'in metodu ile dalak dokusunda glutatyon (GSH) seviyeleri analiz edildi. Sonuçlar nmol/g doku olarak sunuldu.

#### Dalak Dokusunda RT-PCR Analizleri

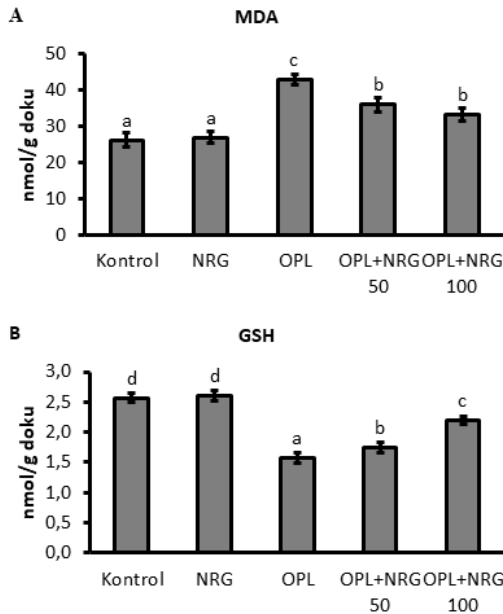
Toz hale getirilen dalak dokularından hibrizol (HibriGen) reaktifi kullanılarak ve üreticinin talimatları uygulanarak total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Total RNA'ların konsantrasyonları NanoDrop (Epoch Microplate Spectrofotometer, ABD) cihazı kullanılarak ölçüldü. Daha sonra total RNA'lardan iScript™ cDNA Synthesis Kit'i (BIO-RAD, ABD) kullanılarak cDNA'lar elde edildi. Son aşamada ise elde edilen cDNA'lar, nükleer faktör-eritroid faktör 2-ilişkili faktör 2 (Nrf-2) (F: TTTGTAGATGACCATGAGTCGC, R: TCCTGCCAACTTGCTCCAT), hem oksijenaz-1 (HO-1) (F: ATGTCGCCAGGATTTGTCCGA, R: ATGGTACAAGGAGGCCATCA), nükleer faktör kappa B (NF-κB) (F: AGTCCCGCCCCTTCTAAAAC, R: CAATGGCCTCTGTGTAGCCC), tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) (F: CTCGAGTGACAAGCCCGTAG, R: ATCTGCTGGTACCACCAGTT), B hücreli lenfoma 2-ilişkili X proteini (Bax) (F: TTTTCATCCAGGATCGAGCAG, R: AATCATCCTCTGCAGCTCCA) ve Kazpaz-3 (F: ACTGGAATGTCAGCTCGCAA, R: GCAGTAGTCGCCTCTGAAGA) primerleri ve iTaQ Universal SYBR Green Supermix (BIORAD, ABD) ile mix hazırlandıktan sonra ROTOR-GENE Q (Qiagen, Almanya) cihazında mRNA transcript seviyeleri analiz edildi. Analizlerde internal kontrol olarak β-aktin (F: CAGCCTTCTTCTGGGTATG, R: AGCTCAGTAACAGTCCGCCT) kullanıldı. Her bir örnek üç tekrarlı olarak çalışıldı ve ekspresyon seviyeleri Livak ve ark. (2001) tarafından geliştirilen 2-ΔΔCT metodu ile hesaplandı.

#### İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm gruplara ait veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak sunuldu. Verilerin normal dağılım gösterdiği belirlendikten sonra gruplar arası farklılıkların tespiti için tek yönlü ANOVA ve Tukey's post hoc testleri kullanıldı.

**BULGULAR****OPL ve NRG Verilen Ratların Dalak Dokularında MDA ve GSH Seviyeleri**

Ratlara OPL ve NRG uygulaması sonrası dalak dokularından elde edilen MDA ve GSH seviyeleri Şekil 1'de sunulmuştur. Buna göre OPL tedavisinin dalak dokusunda MDA seviyelerini kontrol grubuna göre önemli derecede arttırdığı belirlendi ( $p<0.05$ ). Öte yandan NRG verilen ratların dalak dokularında MDA seviyelerinin OPL grubuna göre azaldığı ( $p<0.05$ ) fakat gruplar arası anlamlı bir farkın oluşmadığı görüldü. Elde edilen veriler ayrıca OPL'nin dalak dokusunda GSH depolarını da tükettiğini göstermektedir. OPL'ye karşı uygulanan NRG'nin ise antioksidan özellik göstererek GSH depolarını yenilediği tespit edildi. Ayrıca 100 mg/kg uygulanan NRG'nin 50 mg/kg verilen doza göre daha etkili olduğu da elde edilen veriler arasındadır ( $p<0.05$ ).



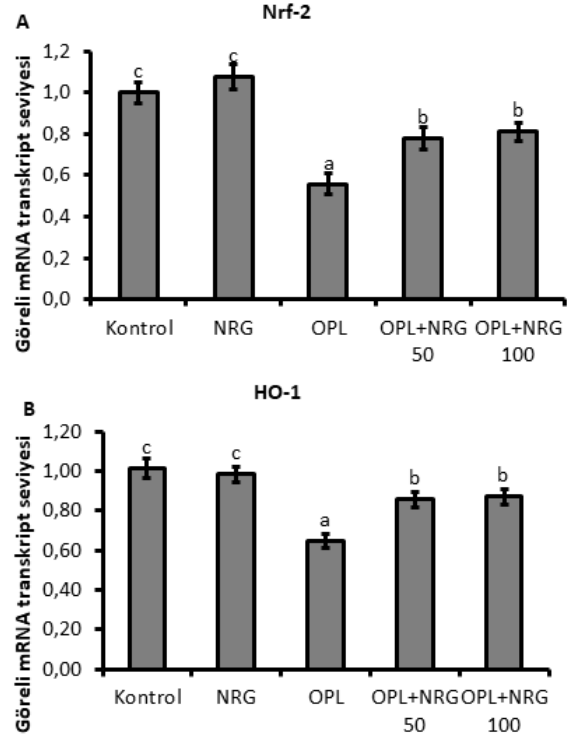
**Şekil 1:** Oksaliplatin ve naringin tedavilerinden sonra dalak dokusunda MDA ve GSH seviyeleri. OPL: Oksaliplatin, NRG: Naringin, MDA: Malondialdehit, GSH: glutasyon. Sütunların üzerinde bulunan harfler gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir ( $p<0.05$ ).

**Figure 1:** MDA and GSH levels in spleen tissue after oxaliplatin and naringin treatments. OPL: Oxaliplatin, NRG: Naringin, MDA: Malondialdehyde, GSH:

glutathione. The letters on the columns show the statistical differences between the groups ( $p<0.05$ ).

**OPL ve NRG Verilen Ratların Dalak Dokularında Nrf-2 ve HO-1 mRNA Transkript Seviyeleri**

Dalak dokusuna ait Nrf-2 ve HO-1 mRNA transkript seviyeleri Şekil 2'de özetlenmiştir. RT-PCR metodu ile alınan sonuçlar OPL'nin hem Nrf-2 hem de HO-1 genlerini baskıladığını göstermektedir. Bununla birlikte NRG tedavisinden sonra Nrf-2 ve HO-1 genlerinin aktive olarak OPL grubuna göre mRNA transkript seviyelerinin artış gösterdiği belirlendi ( $p<0.05$ ). NRG'nin dozları arasında ise anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.

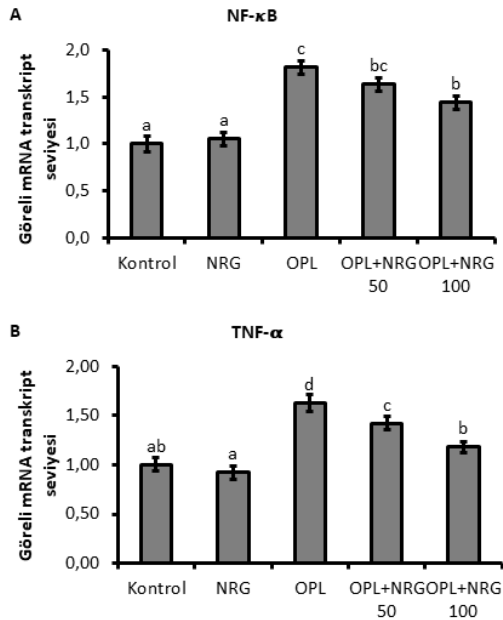


**Şekil 2:** Oksaliplatin ve naringin tedavilerinden sonra dalak dokusunda Nrf2 ve HO-1 mRNA transkript seviyeleri. OPL: Oksaliplatin, NRG: Naringin, Nrf2: nükleer faktör-eritroid faktör 2-ilişkili faktör 2, HO-1: hem oksijenaz-1. Sütunların üzerinde bulunan harfler gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir ( $p<0.05$ ).

**Figure 2:** Nrf2 and HO-1 mRNA transcript levels in spleen tissue after oxaliplatin and naringin treatments. OPL: Oxaliplatin, NRG: Naringin, Nrf2: nuclear factor-erythroid factor 2-related factor-2, HO-1: heme oxygenase-1. The letters on the columns show the statistical differences between the groups ( $p<0.05$ ).

### OPL ve NRG Verilen Ratların Dalak Dokularında NF- $\kappa$ B ve TNF- $\alpha$ mRNA Transkript Seviyeleri

Çalışmada enflamasyonun önemli göstergeleri olan NF- $\kappa$ B ve TNF- $\alpha$ 'nın mRNA transkript seviyeleri analiz edildi. Şekil 3'te verilen sonuçlara göre OPL'nin NF- $\kappa$ B ve TNF- $\alpha$  genlerini yukarı yönlü düzenleyerek enflamasyona neden olabileceği belirlendi. NRG ise bu genlerin mRNA transkript seviyelerini OPL grubuna göre önemli derecede azaltmıştır. NF- $\kappa$ B geni üzerine 50 mg/kg verilen dozun etkili olmadığı, TNF- $\alpha$  üzerine ise yüksek dozun daha etkili olduğu görüldü.

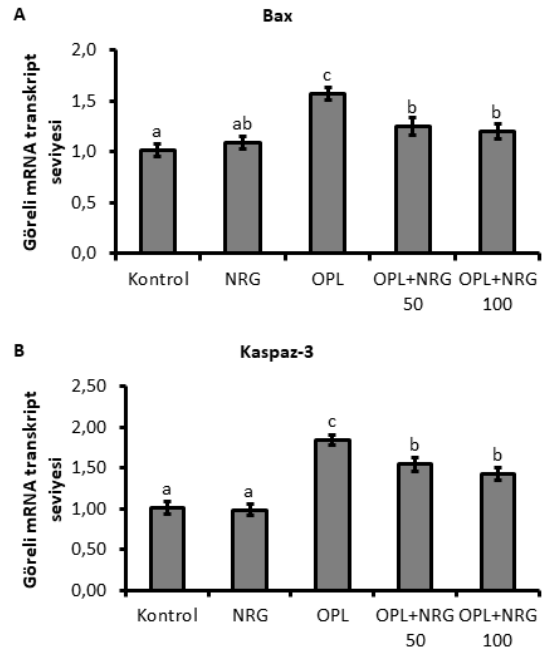


**Şekil 3:** Oksaliplatin ve naringin tedavilerinden sonra dalak dokusunda NF- $\kappa$ B ve TNF- $\alpha$  mRNA transkript seviyeleri. OPL: Oksaliplatin, NRG: Naringin, NF- $\kappa$ B: nükleer faktör kappa B, TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor-alpha. Sütunların üzerinde bulunan harfler gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ )

**Figure 3:** NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$  mRNA transcript levels in spleen tissue after oxaliplatin and naringin treatments. OPL: Oxaliplatin, NRG: Naringin, NF- $\kappa$ B: Nuclear factor kappa-B, TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktörü alfa. The letters on the columns show the statistical differences between the groups ( $p < 0.05$ )

### OPL ve NRG Verilen Ratların Dalak Dokularında Bax ve Kaspaz-3 mRNA Transkript Seviyeleri

Dalak dokusunda apoptotik durumu belirlemek için Bax ve Kaspaz-3 genlerinin mRNA transkript seviyeleri RT-PCR metodu ile analiz edildi. Elde edilen verilere göre OPL dalak dokusunda Bax ve Kaspaz-3 ekspresyonlarını yukarı yönlü düzenleyerek apoptoza neden olmuştur (Şekil 4). NRG tedavisi ise bu genlerin ekspresyonlarını baskılayarak anti-apoptotik etki göstermiştir (Şekil 4). Öte yandan NRG'nin dozları arasında anlamlı bir farkın olmadığı da elde edilen bulgularımızdandır (Şekil 4).



**Şekil 4:** Oksaliplatin ve naringin tedavilerinden sonra dalak dokusunda Bax ve Kaspaz-3 mRNA transkript seviyeleri. OPL: Oksaliplatin, NRG: Naringin, Bax: B hücreli lenfoma 2-ilişkili X proteini. Sütunların üzerinde bulunan harfler gruplar arası istatistiksel farklılıkları göstermektedir ( $p < 0.05$ )

**Figure 4:** Bax and Kaspaz-3 mRNA transcript levels in spleen tissue after oxaliplatin and naringin treatments. OPL: Oxaliplatin, NRG: Naringin, Bax: B-cell lymphoma 2-associated X protein. The letters on the columns show the statistical differences between the groups ( $p < 0.05$ )

### TARTIŞMA ve SONUÇ

OPL kolorektal kanser tedavisinde 5FU, lökovorin, kapesitabin ve/veya irinotekan ile kombine olarak yaygın bir şekilde kullanılan ve progresyonsuz sağkalım ve yanıt oranları açısından

önemli klinik fayda sağlayan kemoterapi rejimidir (Adam ve ark., 2010; de Gramont ve ark., 2000; Yehia ve ark., 2019). Bununla birlikte, OPL tedavisi periferik nöropatinin yanı sıra çeşitli dokularda toksisiteye neden olmaktadır. OPL'nin toksisite mekanizmasının temelinde ise oksidatif stresin yer aldığı öngörülmektedir (di Cesare Mannelli ve ark., 2013; Tabassum ve ark., 2015).

OPL, hem nükleer DNA hem de mitokondriyal DNA (mtDNA) dahil olmak üzere DNA hasarına neden olan in-vivo hidrata metabolize edilir (Graham ve ark., 2000). Araştırmalar, mtDNA'nın daha savunmasız olduğunu göstermektedir, bu da mitokondriyal membranın lipid peroksidasyonunu ve mitokondrinin depolarizasyonunu ilişkilendirmektedir. Tüm bu etkiler, hücre ölüm yolunun indüklenmesi, reaktif oksijen türlerinin keskin bir şekilde artırılması ve serbest bırakılması, oksidatif stresin bariz aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır. Membran lipidleri, lipid peroksidasyonuna yol açan ROS'a duyarlıdır. MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin lipid peroksidasyonundan türetilir ve lipid peroksidasyon seviyesini ölçmek için bir biyobelirteçtir (Xia ve ark., 2019). GSH oksidatif metabolizma sonucu meydana gelen serbest radikalleri bağlayarak okside forma (GSSG) dönüşmekte ve vücudu oksidatif hasardan korumaktadır. ROS'ların aşırı üretimi antioksidan kapasitenin aşılmasına ve sonuç olarak oksidatif strese neden olmaktadır (Gur ve ark., 2021). Önceki bir çalışmada OPL'nin karaciğerde oksidatif gösterge olan MDA seviyelerini arttırdığı, antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GSH seviyelerini ise önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışma doğal bir antioksidan olan kurkumin tedavisinden sonra OPL ile indüklenen MDA düzeylerinin azaldığı ve SOD, CAT ve GSH düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir (Lu ve ark., 2020). Sunulan çalışmada da benzer olarak OPL'nin muhtemelen reaktif oksijen türlerini arttırarak GSH depolarını tükettiği ve lipid peroksidasyonuna neden olarak MDA seviyelerini arttırdığı görüldü. Bununla birlikte NRG'nin antioksidan özelliğine bağlı olarak

ROS'ların süpürüldüğü, GSH depolarının yenilendiği ve lipid peroksidasyonunun azaldığı tespit edildi.

Nrf2, temel lösin fermuar transkripsiyon faktörleri (NF-E2) aile üyelerinden biridir. Artan ROS'lar Nrf2'yi tetiklemekte ve Nrf2 de SOD, CAT ve HO-1 gibi antioksidan enzimlerin kodlanmasını sağlamaktadır. Oksidatif stresin belirli seviyelerinde bu genin ekspresyonu yukarı yönlü düzenlenirken, aşırı veya uzun süre devam etmesi halinde aşağı yönlü regüle edilmektedir (Gur ve ark., 2021). Sunulan çalışmada OPL'nin dalak dokusunda Nrf2 geni ile bağlantılı olarak HO-1 ekspresyonunu aşağı yönlü düzenlediği bununla birlikte NRG tedavisinden sonra bu genlerin mRNA transkript seviyelerinin önemli derecede artış gösterdiği belirlendi. Benzer olarak önceki bir çalışmada OPL uygulamasının Nrf2 seviyelerinde kontrol grubuna göre azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (Areti ve ark., 2018).

NF-κB, TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi pro-enflamatuar sitokinlerin ve enflamatuar yanıtta rol aldığı bilinen COX-2'nin transkripsiyonunu arttırarak enflamasyon sürecine önemli katkılar sunan bir nükleer transkripsiyon faktörüdür (Gur ve ark., 2021; İleriturk ve ark., 2021). Önceki çalışmalarda OPL'nin pro-enflamatuar sitokin seviyelerini arttırarak enflamasyona neden olduğu bildirilmiştir (Recalde ve ark., 2020; Wang ve ark., 2017). Sunulan çalışmada da benzer olarak OPL uygulaması ile dalak dokusunda NF-κB ekspresyonunun yukarı yönlü düzenlendiği ve muhtemelen buna bağlı olarak TNF-α ekspresyonunun tetiklendiği belirlendi. Oksidatif stres ve enflamasyon arasındaki ilişki göz önüne alındığında (Kucukler ve ark., 2021) NRG'nin oksidatif stresi baskılaması ve dolayısıyla NF-κB yolağının kesintiye uğramasıyla NRG'nin dalakta OPL kaynaklı enflamasyonu engelleyebileceği görüldü.

Apoptoz normal bir hücre ölüm sürecidir (Gür ve ark., 2022; Semis ve ark., 2022; Gür ve ark., 2022). Ancak kontrolsüz bir şekilde meydana geldiğinde dokuların işlevlerinin yitirilmesine neden olmaktadır (Yıldız ve ark., 2022). Kaspaz enzimi ile Bax proteini apoptotik yolda önemli görevler üstlenmektedir ve apoptotik durumun belirlenmesinde yaygın olarak

kullanılan biyobelirteçlerdir (Kandemir ve ark., 2022; Yesildag ve ark., 2022). Çalışmamızda OPL uygulaması ile artan Bax ve Kaspaz-3 ekspresyonları belirlenmiştir. Öte yandan çalışmamızda NRG'nin Bax ve Kaspaz-3 ekspresyonlarını baskılayarak apoptozu hafifletebileceği tespit edilmiştir. Benzer olarak önceki bir çalışmada da OPL tedavisinin azalttığı kaspaz-3 ekspresyonunun resveratrol, rutin, kuersetin ve kuersetin nanoemülsiyonu uygulamasından sonra belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (Schwingel ve ark., 2014).

Sonuç olarak çalışmada OPL'nin dalak dokusunda oksidatif stresi, enflamasyonu ve apoptozu tetikleyerek doku hasarına neden olabileceği bununla birlikte NRG tedavisinin OPL kaynaklı hasarı oksidatif stres, enflamasyon ve apoptozun engellenmesi yoluyla hafifletebileceği belirlenmiştir.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

#### KAYNAKLAR

1. Adam R., Haller DG., Poston G., Raoul JL., Spano JP., Taberero J., Van Cutsem E., 2010. Toward optimized front-line therapeutic strategies in patients with metastatic colorectal cancer an expert review from the International Congress on Anti-Cancer Treatment (ICACT) 2009. *Annals of Oncology*, 21, 1579-1584.
2. Alam MA., Subhan N., Rahman MM., Uddin SJ., Reza HM., Sarker, SD., 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. *Advances in Nutrition*, 5, 404-417.
3. Areti A., Komirishetty P., Kalvala AK., Nellaiappan K., Kumar, A., 2018. Rosmarinic Acid Mitigates Mitochondrial Dysfunction and Spinal Glial Activation in Oxaliplatin-induced Peripheral Neuropathy. *Molecular Neurobiology*, 55, 7463–7475.
4. Caglayan C., Temel Y., Kandemir FM., Yildirim S., Kucukler S., 2018. Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 20968-20984.
5. Celik H., Kucukler S., Ozdemir S., Comakli S., Gur C., Kandemir FM., Yardim A., 2020. Lycopene protects against central and peripheral neuropathy by inhibiting oxaliplatin-induced ATF-6 pathway, apoptosis, inflammation and oxidative stress in brains and sciatic tissues of rats. *Neurotoxicology*, 80, 29-40.
6. de Gramont A., Figer A., Seymour M., Homerin M., Hmissi A., Cassidy J., Boni C., Cortes-Funes H., Cervantes A., Freyer G., Papamichael D., le Bail N., Louvet C., Hendler D., de Braud F., Wilson C., Morvan F., Bonetti A., 2000. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 18, 2938–2947.
7. di Cesare Mannelli L., Zanardelli M., Failli P., Ghelardini C., 2013. Oxaliplatin-induced oxidative stress in nervous system-derived cellular models: Could it correlate with in vivo neuropathy? *Free Radical Biology and Medicine*, 61, 143–150.
8. El Chediak A., Haydar A.A., Hakim A., Abdel Massih S., Hilal L., Mukherji D., Temraz S., Shamseddine A., 2018. Increase in spleen volume as a predictor of oxaliplatin toxicity. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 14, 653.
9. Graham MA., Lockwood GF., Greenslade D., Brienza S., Bayssas M., Gamelin, E., 2000. Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clinical Cancer Research*, 6, 1205-1218.
10. Gur C., Kandemir O., Kandemir FM., 2022a. Investigation of the effects of hesperidin administration on abamectin-induced testicular toxicity in rats through oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and JAK2/STAT3 pathways. *Environmental Toxicology*, 37, 401-

- 412.
11. Gur C., Kandemir FM., Darendelioglu E., Caglayan C., Kucukler S., Kandemir O., Ileriturk M., 2021. Morin protects against acrylamide-induced neurotoxicity in rats: an investigation into different signal pathways. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 49808-49819.
  12. Gür C., Genç A., Kandemir Ö., 2022. Ratlarda Deltametrin'in Neden Olduğu Dalak Toksisitesine Karşı Rutin'in Potansiyel Koruyucu Etkilerinin Oksidatif Stres, Apoptoz ve İnflamasyon Belirteçleri Üzerinden Araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 17, 6-10.
  13. Gür C., Kandemir Ö., Kandemir FM., 2022. Ratlarda diklofenak ile indüklenen kardiyotoksikite üzerine krisinin etkilerinin oksidatif stres, endoplazmik retikulum stresi ve apoptoz belirteçleri ile değerlendirilmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 15, 151-160.
  14. Ileriturk M., Benzer F., Aksu EH., Yildirim S., Kandemir FM., Dogan T., Dortbudak MB., Genc A., 2021. Chrysin protects against testicular toxicity caused by lead acetate in rats with its antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic properties. *Journal of Food Biochemistry*, 45, p.e13593.
  15. Kucukler S., Benzer F., Yildirim S., Gur C., Kandemir FM., Bengu AS., Ayna A., Caglayan C., Dortbudak, MB., 2021. Protective effects of chrysin against oxidative stress and inflammation induced by lead acetate in rat kidneys: a biochemical and histopathological approach. *Biological Trace Element Research*, 199, 1501-1514.
  16. Lees JG., White D., Keating BA., Barkl-Luke ME., Makker PG., Goldstein D., Moalem-Taylor G., 2020. Oxaliplatin-induced haematological toxicity and splenomegaly in mice. *Plos one*, 15, p.e0238164.
  17. Livak KJ., Schmittgen TD., 2001. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods*, 25, 402-408.
  18. Lu Y., Wu S., Xiang B., Li L., Lin Y., 2020. Curcumin Attenuates Oxaliplatin-Induced Liver Injury and Oxidative Stress by Activating the Nrf2 Pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, 14, 73.
  19. Kandemir FM., Ileriturk M., Gur C., 2022. Rutin protects rat liver and kidney from sodium valproate-induced damage by attenuating oxidative stress, ER stress, inflammation, apoptosis and autophagy. *Molecular Biology Reports*, 1-12.
  20. Kandemir FM., Kucukler S., Caglayan C., Gur C., Batil AA., Gülçin İ., 2017. Therapeutic effects of silymarin and naringin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats: Biochemical evaluation of anti-inflammatory, antiapoptotic, and anti-autophagic properties. *Journal of food biochemistry*, 41, p.e12398.
  21. Placer ZA., Cushman LL., Johnson BC., 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical biochemistry*, 16, 359-364.
  22. Recalde MD., Miguel CA., Noya-Riobó MV., Gonzalez SL., Villar MJ., Coronel MF., 2020. Resveratrol exerts anti-oxidant and anti-inflammatory actions and prevents oxaliplatin-induced mechanical and thermal allodynia. *Brain Research*, 1748, p.147079.
  23. Schwingel TE., Klein CP., Nicoletti NF., Dora CL., Hadrich G., Bica CG., Lopes TG., da Silva VD., Morrone FB., 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, 837-848.
  24. Sedlak J., Lindsay RH., 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, 25, 192-205.
  25. Semis HS., Gur C., Ileriturk M., Kandemir FM., Kaynar O., 2022. Evaluation of Therapeutic



- Effects of Quercetin Against Achilles Tendinopathy in Rats via Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, Autophagy, and Metalloproteinases. *American Journal of Sports Medicine*, 50, 486–498.
26. Tabassum H., Waseem M., Parvez S., Qureshi Ml., 2015. Oxaliplatin-induced Oxidative Stress Provokes Toxicity in Isolated Rat Liver Mitochondria. *Archives of Medical Research*, 46, 597–603.
27. Wang YS., Li YY., Cui W., Li LB., Zhang ZC., Tian BP., Zhang GS., 2017. Melatonin attenuates pain hypersensitivity and decreases astrocyte-mediated spinal neuroinflammation in a rat model of oxaliplatin-induced pain. *Inflammation*, 40, 2052-2061.
28. Xia T., Zhang J., Han L., Jin Z., Wang J., Li X., Man S., Liu C., Gao W., 2019. Protective effect of magnolol on oxaliplatin-induced intestinal injury in mice. *Phytotherapy Research*, 33, 1161-1172.
29. Yehia R., Saleh S., El Abhar H., Saad AS., Schaalán, M., 2019. L-Carnosine protects against Oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in colorectal cancer patients: A perspective on targeting Nrf-2 and NF-κB pathways. *Toxicology and applied pharmacology*, 365, 41-50.
30. Yesildag K., Gur C., Ileriturk M., Kandemir FM., 2022. Evaluation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, oxidative DNA damage and metalloproteinases in the lungs of rats treated with cadmium and carvacrol. *Molecular Biology Reports*, 49, 1201–1211.
31. Yıldız MO., Çelik H., Caglayan C., Kandemir FM., Gür C., Bayav İ., Genç A., Kandemir, Ö., 2022. Neuromodulatory effects of hesperidin against sodium fluoride-induced neurotoxicity in rats: Involvement of neuroinflammation, endoplasmic reticulum stress, apoptosis and autophagy. *NeuroToxicology*, 90, 197-204.