

**NF-κB VE OKSİDATİF STRESİN İNHİBİSYONU İLE  
PERİFERAL NÖROPATİNİN İYİLEŞTİRİLMESİ VE  
KANSER KEMOTERAPİ SONUÇLARININ  
GELİŞTİRİLMESİ**

**Melis DEBRELİ COŞKUN**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NF-κB VE OKSİDATİF STRESİN İNHİBİSYONU İLE PERİFERAL  
NÖROPATİNİN İYİLEŞTİRİLMESİ VE KANSER KEMOTERAPİ  
SONUÇLARININ GELİŞTİRİLMESİ**

**Melis DEBRELİ COŞKUN**

Prof. Dr. SERAP ÇELİKLER KASIMOĞULLARI  
(Danışman)

Prof. Dr. Shaker A. MOUSA  
(İkinci Danışman)  
(Pharmaceutical Research Institute at  
Albany College of Pharmacy  
and Health Sciences)

DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2017

**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ ONAYI

Melis DEBRELİ COŞKUN tarafından hazırlanan “NF-κB VE OKSİDATİF STRESİN İNHİBİSYONU İLE PERİFERAL NÖROPATİNİN İYİLEŞTİRİLMESİ VE KANSER KEMOTERAPİ SONUÇLARININ GELİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI

**İkinci Danışman** : Prof. Dr. Shaker A. MOUSA (Pharmaceutical Research Institute at Albany College of Pharmacy and Health Sciences)

**Başkan** : Prof.Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI  
Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof.Dr. Mehmet CANSEV  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof.Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ  
Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof.Dr. Hatice Mehtap KUTLU  
Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi,  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Üye** : Prof.Dr. Azmi YERLİKAYA  
Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İmza

İmza

İmza

İmza

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali BAYRAM

Enstitü Müdürü

.../.../... (Tarih)

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**14/08/2017**

**İmza**

**Melis DEBRELİ COŞKUN**

## ÖZET

Doktora Tezi

### NF-κB VE OKSİDATİF STRESİN İNHİBİSYONU İLE PERİFERAL NÖROPATİNİN İYİLEŞTİRİLMESİ VE KANSER KEMOTERAPİ SONUÇLARININ GELİŞTİRİLMESİ

Melis DEBRELİ COŞKUN

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI

**İkinci Danışman:** Prof. Dr. Shaker A. MOUSA (Pharmaceutical Research Institute at Albany College of Pharmacy and Health Sciences)

Pankreas kanseri geleneksel tedavisinde meydana gelen ilaç direnci ve periferik nöropati sebebiyle sağ kalım süresini ve yaşam kalitesini düşürmektedir. Pankreas kanseri tedavisinde daha etkin, direnç geliştirmeyen ve nöropati oluşturmayacak yeni kemoterapötik ve kemopreventiflerin bulunması önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında kemoterapötik ilaçların indüklediği NF-κB/ROS aktivitesi inhibe edilerek, nöropatik ağrı gelişimini azaltmak ve kanser kemoterapi sonuçlarını iyileştirmek amacıyla NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG bileşiklerinin etkilerinin klinik öncesi yöntemlerle (*in vitro* ve *in vivo*) değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Kemoterapötik ilaçların (sisplatin ve gemsitabin) ve LPS'in indüklediği NF-κB/ROS aktivitesi üzerine, αvβ3 integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199) ve antioksidanların (EGCG ve OT-404) anti-inflamatuar etkileri HeLa ve THP1 hücrelerinde lusiferaz yöntemi ile araştırıldı. NDAT, XT199, EGCG ve OT-404'ün tek başına ve sisplatin ile kombine halde pankreas kanseri üzerine antitümör etkileri, ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde, *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS) ve histopatolojik değerlendirme ile araştırıldı. NDAT, XT199, EGCG ve OT-404'ün tek başına ve sisplatin ile kombine halde anti-inflamatuar etkileri, nöropatik ağrı patogeneğinde yer alan NF-κB ile ilişkili sitokinlerin (IL-1β, IL-6, IL-10, IL-17, TNF-α ve IFN-γ) ortotopik pankreas tümürlü farelerin plazma örneklerinden Bio-Plex sitokin yöntemi ile analiz edilmesi sonucu belirlendi. NDAT, XT199, EGCG ve OT-404'ün kemoterapinin-indüklediği periferik nöropati (CIPN) üzerindeki nöroprotektif etkilerini belirlemek adına farelerin arka ayaklarının davranışsal duruş değerlendirmesi yapıldı.

Bu tez çalışmasında, NDAT ve XT199'un pankreas kanseri tedavisinde NF-κB sinyal yolağı inhibitörü olarak, antitümör ve anti-inflamatuar etkili potansiyel kemoterapötik ajanlar; OT-404'ün ise kemoprotektif bir ajan olabileceği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca bu bileşiklerin geleneksel kemoterapi ile gelişen ilaç direncinin üstesinden geldiği ve CIPN'yi azalttığı da belirlenmiştir. Sonuç olarak bu tez, pankreas kanseri tedavisinde ilaç direncini yıkan, periferik nöropatiyi iyileştiren yeni tedavi seçeneği sunan orijinal bir çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** Pankreas kanseri, NF-κB, kemoterapi, αvβ3 integrin reseptör antagonisti, antioksidan, periferik nöropati

**2017, xiv + 276 sayfa**

## ABSTRACT

PhD Thesis

### ALLEVIATION OF PERIPHERAL NEUROPATHY AND IMPROVED CANCER CHEMOTHERAPY OUTCOME BY INHIBITION OF NF- $\kappa$ B AND OXIDATIVE STRESS

Melis DEBRELİ COŞKUN

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

**Supervisor:** Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI

**Second Supervisor:** Prof. Dr. Shaker A. MOUSA (Pharmaceutical Research Institute at Albany College of Pharmacy and Health Sciences)

Pancreatic cancer decreases the survival time and the quality of life because of the drug resistance and peripheral neuropathy which occur during the conventional treatment. It is important to find novel, more effective chemotherapeutic and chemopreventive agents which do not lead to drug resistance or neuropathy in the treatment of pancreatic cancer. The aim of this thesis is to evaluate the effect of the compounds NDAT, XT199, OT-404 and EGCG using preclinical methods (*in vitro* and *in vivo*) in order to reduce the development of neuropathic pain and to improve the cancer chemotherapy outcomes by inhibiting the NF- $\kappa$ B/ROS activity induced by chemotherapeutic drugs.

The anti-inflammatory effects of the  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin receptor antagonists (NDAT and XT199) and antioxidants (EGCG and OT-404) on the NF- $\kappa$ B/ROS activity induced by the chemotherapeutic drugs (cisplatin and gemcitabine) and LPS was studied using the luciferase assay in HeLa and THP1 cells. The antitumor action of NDAT, XT199, EGCG and OT-404, alone and in combination with cisplatin, on the pancreatic cancer was studied in the orthotopic pancreatic cancer mouse tumor model, using *in vivo* imaging system (IVIS) and histopathology assessment. The anti-inflammatory effects of the NDAT, XT199, EGCG and OT-404, alone and in combination with cisplatin, were evaluated by the analysis of NF- $\kappa$ B-related cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ ) involved in the neuropathic pain pathogenesis, from plasma samples of mice bearing orthotopic pancreatic tumors using Bio-Plex cytokine assay. To determine the neuroprotective effects of NDAT, XT199, EGCG and OT-404 on the chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN), the behavioral hind limb posture of mice was evaluated.

Using *in vitro* and *in vivo* studies, this thesis demonstrates that in the treatment of pancreatic cancer, NDAT and XT199 can be NF- $\kappa$ B signalling pathway inhibitors and the potential chemotherapeutic agents with antitumor and anti-inflammatory effects; OT-404 can be a chemoprotective agent. It was also determined that these compounds overcome the drug resistance and reduce CIPN which develop during the conventional chemotherapy. In conclusion, this thesis is an original study offering a novel treatment option which overcomes the drug resistance and ameliorates peripheral neuropathy in the treatment of pancreatic cancer.

**Key words:** Pancreatic cancer, NF- $\kappa$ B, chemotherapy,  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin receptor antagonists, antioxidant, peripheral neuropathy

**2017, xiv + 276 pages.**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, tez çalışmalarım esnasında bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, beni yönlendiren ve güler yüzünü eksik etmeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Serap ÇELİKLER KASIMOĞULLARI'na,

Tez konunun belirlenmesinden, araştırmam sonuçlanıncaya kadar her aşamada bilgi birikimi ve tecrübesi başta olmak üzere, laboratuvarının kapılarını sonuna kadar açarak maddi ve manevi tüm imkanlarını benimle paylaşmaktan çekinmeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Shaker A. MOUSA'ya,

Tez çalışmalarım esnasında yeni fikir ve önerileri ile beni araştırmaya sevk eden, bilim insanının nasıl düşünmesi gerektiğini öğretirken araştırmalarıma değer katan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Paul J. DAVIS'e,

Tez deneylerimde bana öğrettiği yöntemlerle çalışmalarım katkısı olan, tezimin İngilizce okunması dahil olmak üzere değerli fikirleri ile beni aydınlatan, güler yüzü ile çalışma ortamını güzelleştiren saygıdeğer hocam Vandhana M-CHARI'ye, ve yine aynı şekilde laboratuvar çalışmalarım sırasında yardım ve önerileri ile tezime katkıda bulunan Sudha THANGIRALA'ya,

Doktora tez çalışmalarımı gerçekleştirdiğim 'Pharmaceutical Research Institute at Albany College of Pharmacy and Health Sciences' çalışanlarından bana her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen Laura STELLATO, Gloria LIN, Judith MEYERS, Marianne R. WILLIAMS, Dianna VINCENT, Kelly A. KEATING, Dhruva, J. BHARALI, Mehdi RAJABI ve Weikun LI'ye,

Doktora tez projesi çalışmasında öneri ve yorumları ile birlikte, değerli bilgi ve tecrübesi başta olmak üzere değerli zamanını benimle paylaşmaktan çekinmeyen değerli hocam Prof. Dr. Mehmet CANSEV'e,

Yüksek Lisans tezimde çok emeği olan ve doktora süresince de gelişmelerimi takip eden, değerli fikir ve önerilerini her zaman dikkate aldığım değerli hocam Prof. Dr. Hatice Mehtap KUTLU'ya,

Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü değerli hocalarına ve Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına, Tez çalışmalarımı yurt dışında yapabilmem için maddi destek sağlayan, Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'nca yürütülmekte olan 2214/A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı kapsamında (1059B141401097 nolu başvuru) TÜBİTAK'a,

Hayatımın her anında hiçbir fedakarlıktan kaçınmayarak her zaman yanımda olan, beni her konuda destekleyen, bugünlere gelmemde büyük emeği olan canım anneme ve babama,

Yoğun eğitim dönemimde sabırla beni bekleyen, hayatımın her anında yanımda olan ve bana yaşattığı tüm güzellikler için sevgili eşim Ercan COŞKUN'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

**Melis DEBRELİ COŞKUN**  
**Ağustos 2017**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....	5
2.1. Pankreas Kanseri .....	5
2.1.1. Pankreas kanseri tedavisinde gemsitabinin rolü .....	5
2.1.2. Pankreas kanseri tedavisinde sisplatinin rolü.....	7
2.1.2.1. Sisplatin tedavisinin yan etkileri .....	10
2.1.3. Pankreas kanserinde ilaç direnci .....	12
2.1.4. Kanser tedavisinde integrinlerin rolü .....	13
2.1.4.1. $\alpha v\beta 3$ integrin reseptör antagonistleri NDAT ve XT199 .....	20
2.1.5. Kanser tedavisinde antioksidanların rolü .....	23
2.1.5.1. OT-404 (antioksidan) .....	25
2.1.5.2. EGCG (antioksidan).....	27
2.1.6. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ).....	29
2.2. Periferik Sinir Sistemi .....	31
2.2.1. Periferik nöropati .....	32
2.2.2. Periferik sinir sisteminin savunmasızlığı ve hassasiyeti .....	40
2.3. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati (CIPN).....	45
2.3.1. CIPN patolojisi ve patogenezi.....	54
2.3.2. Platin ilaçların önerilen nörotoksisite mekanizması .....	59
2.3.2.1. Sisplatin ile indüklenen nöropatinin patogenezi (insidans, şiddet, semptomlar ve risk faktörleri).....	69
2.3.3. Gemsitabin ve periferik nöropati .....	72
2.3.4. İntegrinler ve CIPN .....	74
2.4. NF- $\kappa$ B, İnflamasyon ve CIPN.....	75
2.4.1. NF- $\kappa$ B'nin nörolojik hasardaki rolü .....	83
2.4.2. Gemsitabin ve NF- $\kappa$ B ilişkisi.....	85
2.4.3. NF- $\kappa$ B inhibitörü (QNZ EVP4593) .....	90
2.4.4. Periferik nöropatiyle ilgili sitokinler.....	91
2.4.5. Periferik sinir hasarında inflamatuvar sitokinlerin rolü .....	95
2.4.5.1. IL-1 .....	97
2.4.5.2. IL-6.....	102
2.4.5.3. IL-10.....	107
2.4.5.4. TNF- $\alpha$ .....	111
2.4.5.5. IFN- $\gamma$ .....	116
2.4.5.6. IL-17.....	118
2.4.6. CIPN'nin önlenmesi ve tedavisi .....	121
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	127
3.1. Materyal .....	127



3.1.1. Bileşikler ve reaktifler.....	127
3.1.2. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması.....	127
3.2. Yöntem.....	128
3.2.1. <i>In vitro</i> çalışmalar .....	128
3.2.1.1. Hücre hatları ve hücre kültürü.....	128
3.2.1.1.1. HeLa NF- $\kappa$ B lusiferaz raportör stabil hücre hattı ve hücre kültürü .....	128
3.2.1.1.2. THP1-Lucia <sup>TM</sup> NF- $\kappa$ B hücre hattı ve hücre kültürü.....	130
3.2.1.2. Lusiferaz yöntemi .....	131
3.2.1.2.1. HeLa hücreleri için lusiferaz yöntemi.....	131
3.2.1.2.2. THP1 hücreleri için lusiferaz yöntemi .....	133
3.2.2. <i>In vivo</i> çalışmalar .....	135
3.2.2.1. Ortotopik pankreas tümörü implantasyonu için kanser hücre hattı ve kültür koşulları.....	135
3.2.2.2. Hayvan türü .....	136
3.2.2.3. Pankreas tümörünün ortotopik implantasyonu ve tedaviler.....	136
3.2.2.4. <i>In vivo</i> görüntüleme sistemi (IVIS) kullanılarak tümör büyümesi tayini .....	138
3.2.2.5. Akut ağrı yanıtının değerlendirilmesi: arka ve ön ayakların durumu.....	138
3.2.2.6. Sitokin yöntemi .....	138
3.2.2.7. Tümör histopatolojisi .....	141
3.2.2.8. İstatistiksel analiz.....	141
4. BULGULAR.....	142
4.1. <i>In vitro</i> Bulgular.....	142
4.1.1. Lusiferaz yöntemi bulguları .....	142
4.1.1.1. Sisplatin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemesi.....	142
4.1.1.2. Gemsitabin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemesi.....	143
4.1.1.3. QNZ EVP4593'ün, NF- $\kappa$ B inhibitörü, HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	144
4.1.1.4. EGCG'nin (antioksidan) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması.....	145
4.1.1.5. OT-404'ün (NF- $\kappa$ B/ROS inhibitörü) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	146
4.1.1.6. XT199'un (integrin $\alpha$ $\beta$ 3 antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	147
4.1.1.7. DAT'ın (integrin $\alpha$ $\beta$ 3 antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	148
4.1.1.8. NDAT'ın (integrin $\alpha$ $\beta$ 3 antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	150
4.1.1.9. QNZ EVP4593'ün, NF- $\kappa$ B inhibitörü, HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	152
4.1.1.10. EGCG'nin (antioksidan), HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması.....	152

4.1.1.11. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	153
4.1.1.12. XT199'un (integrin αβ3 antagonisti) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	154
4.1.1.13. DAT'ın (integrin αβ3 antagonisti) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	156
4.1.1.14. NDAT'ın (integrin αβ3 antagonisti) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	157
4.1.1.15. LPS'in, THP1 hücrelerinde konsantrasyona- ve zamana- bağımlı olarak NF-κB aktivasyonunu indüklemesi .....	158
4.1.1.16. QNZ EVP4593'ün, NF-κB inhibitörü, THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	159
4.1.1.17. EGCG'nin (antioksidan), THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması	160
4.1.1.18. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	161
4.1.1.19. XT199'un (integrin αβ3 antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	162
4.1.1.20. DAT'ın (integrin αβ3 antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması .....	164
4.1.1.21. NDAT'ın (integrin αβ3 antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	165
4.1.1.22. Hidrojen peroksitin (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), THP1 hücrelerinde konsantrasyona-bağımlı olarak NF-κB aktivasyonunu indüklemesi.....	166
4.1.1.23. EGCG'nin (antioksidan) THP1 hücrelerinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	167
4.1.1.24. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) THP1 hücrelerinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi.....	168
4.2. <i>In vivo</i> Bulgular.....	171
4.2.1. Test bileşiklerinin ortotopik pankreatik tümör büyümesine, tümör biyoluminesans sinyal yoğunluğuna ve tümör hücre ölümüne etkileri.....	171
4.2.1.1. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine NDAT'ın katkısı .....	171
4.2.1.2. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine XT199'un katkısı .....	174
4.2.1.3. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine OT-404'ün katkısı.....	177
4.2.1.4. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine EGCG'nin etkisi .....	180
4.2.2. Test bileşiklerinin farelerin vücut ağırlığına etkisi .....	183
4.2.3. Histopatolojik analiz: NDAT ve XT199'un sisplatin ile kombinasyon uygulamasının etkileri.....	184
4.2.4. Sitokin yöntemi bulguları.....	187
4.2.4.1. Sitokinlerin standart eğrileri.....	187

4.2.4.2. "Kontrol (PBS), NDAT, NDAT + Sisplatin, OT-404, OT-404 + Sisplatin, XT199, XT199 + Sisplatin, EGCG ve EGCG + Sisplatin" ile tedavi edilen farelerde plazma sitokin seviyelerinin analizi .....	189
4.2.4.2.1. Sisplatin'in TNF- $\alpha$ seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	189
4.2.4.2.2. Sisplatin'in IL-1 $\beta$ seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	190
4.2.4.2.3. Sisplatin'in IL-6 seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	191
4.2.4.2.4. Sisplatin'in IL-10 seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	192
4.2.4.2.5. Sisplatin'in IL-17 seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	193
4.2.4.2.6. Sisplatin'in IFN- $\gamma$ seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi .....	194
4.2.5. Davranışsal değerlendirme: NF- $\kappa$ B inhibisyonunun sisplatinin indüklediği nöropati üzerine koruyucu etkisi .....	196
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	198
KAYNAKLAR .....	217
ÖZGEÇMİŞ .....	273

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler Açıklama

$\mu\text{M}$	Mikromolar
$\alpha$	Alpha
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gamma

### Kısaltmalar Açıklama

CAM	Chorioallantoic Membrane
CDDP	Sisplatin, cis-diamin-dikloro-platin (II)
CIPN	Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy
CTR	Bakır Taşıyıcıları
DRG	Dorsal Root Ganglion
ECM	Ekstrasellüler Matriks
EMT	Epitelyal Mezenkimal Dönüşüm
FAK	Fokal Adhezyon Kinaz
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
GSH	Glutatyon
$\text{H}_2\text{O}_2$	Hidrojen Peroksit
HMG	High Mobility Group Protein
ICAM	Hücre İçi Adezyon Molekülü
I $\kappa$ B	İnhibitör Kappa B
I $\kappa$ K	İnhibitör Kappa B Kinaz

IL	Interleukin
JNK	c-Jun Amino-Terminal Kinaz
KBB	Kan Beyin Bariyeri
KSB	Kan Sinir Bariyeri
LPS	Lipopolisakkarit
MMP-2	Matriks Metalloproteinaz-2
MRP	Multidrug Resistance Protein
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
mtDNA	Mitokondriyal DNA
nDNA	Nükleer DNA
NF-kB	Nükleer Faktör Kappa B
NDAT	Nanotetrac, nanodiamino-tetrac
OCT	Organik Katyon Taşıyıcıları
OCTN	Organik Katyon/Karnitin Taşıyıcıları
PLGA	Poli (laktik- <i>co</i> -glikolik asit)
PN	Periferik Nöropati
PNS	Periferik Sinir Sistemi
RHD	Rel Homology Domain
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
Src	Proto-Onkogen Tirozin Kinaz
siRNA	Küçük İnterferaz RNA
Tetrac	Tetraiyodotiroasetik asit
TRPV4	Geçici Potansiyel Reseptör Vanilloid 4
VCAM	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa

Şekil 2.1. Gemsitabin (2',2'-difloro-2'-deoksisitidin) kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.2. Platin bazlı ilaçların kimyasal yapısı .....	8
Şekil 2.3. Sisplatin ile indüklenen sitotoksosite .....	9
Şekil 2.4. Platin bileşiklerinin tümör hücrelerindeki etkileri ve potansiyel etki mekanizmaları .....	10
Şekil 2.5. Pankreas kanserinde ilaç direnci yolları .....	13
Şekil 2.6. İntegrin aktivasyonu .....	14
Şekil 2.7. İntegrinlerin aktin hücre iskeletinin kurulumu ve sinyal yolu aktivasyonunda rolü .....	15
Şekil 2.8. İntegrin heterodimer ailesinin sınıflandırılması .....	16
Şekil 2.9. İntegrin $\alpha\beta3$ inhibisyon yolları .....	18
Şekil 2.10. NDAT'in (Nanotetrac) kimyasal yapısı .....	21
Şekil 2.11. XT199'un kimyasal yapısı .....	22
Şekil 2.12. ROS'un kanser gelişimindeki rolü.....	24
Şekil 2.13. EGCG'nin kimyasal yapısı.....	28
Şekil 2.14. EGCG'nin NF- $\kappa$ B sinyal yoluna etkisi.....	29
Şekil 2.15. ROS aracılı NF- $\kappa$ B sinyal yolu aktivasyonu .....	30
Şekil 2.16. a) Sinir sistemi b) Sinir impuls iletim yolunda nöronlara genel bakış.....	31
Şekil 2.17. a) Omurilik ve spinal sinirlerin yapısı b) Nöronun yapısı.....	33
Şekil 2.18. a) Dorsal ve ventral köklerden spinal sinir oluşumu ile omuriliğin enine kesiti b) Sinir impulslarının MSS'ye ve MSS'den iletimi .....	33
Şekil 2.19. a) Sağlıklı periferik sinir hücresi b) Sağlıksız periferik sinir hücresi .....	37
Şekil 2.20. Periferik sinir hasarının tipleri a) Normal sinir hücresi b) Wallerian dejenerasyonu c) Segmental demiyelinasyon d) Aksonal dejenerasyon .....	38
Şekil 2.21. Nörotoksosite orijini: Nöronopati veya aksonopati.....	39
Şekil 2.22. Küçük ve büyük lifleri içeren PSS.....	43
Şekil 2.23. Periferik sinir sisteminde kemoterapi ile indüklenen nörotoksosite için öngörülen hedefler.....	57
Şekil 2.24. Sinir hücrelerinde akut ve kronik platin nörotoksitesisi mekanizması.....	60
Şekil 2.25. PSS'de tahmini kemoterapötik toksisite bölgeleri .....	62
Şekil 2.26. PSS üzerinde kemoterapötik ilaçlar (sisplatin) ile indüklenen nörotoksosite mekanizmaları .....	63
Şekil 2.27. a) Sisplatin ile indüklenen nörotoksosite mekanizmalarının özeti: somatosensory yol üzerinde b) Sisplatin ile indüklenen nörotoksosite mekanizmalarının özeti: mitokondriler üzerindeki temel etkiler .....	67
Şekil 2.28. Memeli NF- $\kappa$ B ve I $\kappa$ B ailesi üyeler .....	76
Şekil 2.29. NF- $\kappa$ B uyarıcıları ve NF- $\kappa$ B bağımlı hedef genler .....	77
Şekil 2.30. Klasik (kanonik) ve alternatif (nonkanonik) NF- $\kappa$ B yolları .....	82
Şekil 2.31. NF- $\kappa$ B'nin nörolojik hasardaki rolü.....	84
Şekil 2.32. QNZ EVP4593 (6-amino-4-(4-fenoksifenetil-amino)kinazolin) kimyasal yapısı .....	90
Şekil 2.33. CIPN patogenezindeki sitokin ağı için önerilen bir diyagram.....	92
Şekil 2.34. Periferik sinir hasarı mevcut bağıışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve inflamatuvar hücrelerin sinir hücresine alınması .....	94

Şekil 2.35. Pankreas tümörü mikro ortamındaki sitokinlerin hücrel kaynakları .....	96
Şekil 2.36. IL-1 sinyal iletim yolu .....	99
Şekil 2.37. IL-6 klasik ve trans-sinyal iletim yolu.....	104
Şekil 2.38. IL-10 sinyal iletim yolu .....	108
Şekil 2.39. TNF sinyal iletim yolu.....	112
Şekil 2.40. IFN- $\gamma$ sinyal iletim yolu.....	117
Şekil 2.41. IL-17 sinyal iletim yolu .....	119
Şekil 3.1. HeLa lusiferaz raportör sistem .....	129
Şekil 3.2. Ateş böceği lusiferaz tarafından katalize edilen biyoluminesans reaksiyonu .....	131
Şekil 3.3. HeLa hücreleri için standart lusiferaz yöntemi.....	133
Şekil 3.4. THP1 hücreleri için standart lusiferaz yöntemi.....	134
Şekil 3.5. <i>In vivo</i> deney planı.....	137
Şekil 3.6. Bio-Plex sandviç immünolojik test yöntemi .....	139
Şekil 3.7. Sitokin standartlarının seri dilüsyon ile hazırlanması.....	140
Şekil 4.1. Sisplatin konsantrasyonlarının (1 $\mu$ M, 3 $\mu$ M, 5 $\mu$ M ve 10 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkileri .....	142
Şekil 4.2. Gemcitabin konsantrasyonlarının (1 $\mu$ M, 3 $\mu$ M, 5 $\mu$ M ve 10 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkileri .....	143
Şekil 4.3. QNZ EVP4593'ün HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	144
Şekil 4.4. EGCG'nin HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	145
Şekil 4.5. OT-404'ün HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	146
Şekil 4.6. XT199'un (1 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	147
Şekil 4.7. XT199'un (3 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	148
Şekil 4.8. DAT'ın (1 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	149
Şekil 4.9. DAT'ın (3 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	149
Şekil 4.10. DAT'ın (3 $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatinin 1-10 $\mu$ M konsantrasyonları ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	150
Şekil 4.11. NDAT'ın HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	151
Şekil 4.12. NDAT'ın HeLa hücrelerinde sisplatinin 1-10 $\mu$ M konsantrasyonları ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	151
Şekil 4.13. QNZ EVP4593'ün HeLa hücrelerinde gemcitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	152
Şekil 4.14. EGCG'nin HeLa hücrelerinde gemcitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	153
Şekil 4.15. OT-404'ün HeLa hücrelerinde gemcitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi .....	154

<b>Şekil 4.16.</b> XT199'un (1 µM) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	155
<b>Şekil 4.17.</b> XT199'un (3 µM) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	155
<b>Şekil 4.18.</b> DAT'ın (1 µM) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	156
<b>Şekil 4.19.</b> DAT'ın (3 µM) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	157
<b>Şekil 4.20.</b> NDAT'ın HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	158
<b>Şekil 4.21.</b> LPS konsantrasyonlarının ve tedavi sürelerinin THP1 hücrelerinde NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri .....	159
<b>Şekil 4.22.</b> QNZ EVP4593'ün THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	160
<b>Şekil 4.23.</b> EGCG'nin THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	161
<b>Şekil 4.24.</b> OT-404'ün THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	162
<b>Şekil 4.25.</b> XT199'un (1 µM) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	163
<b>Şekil 4.26.</b> XT199'un (3 µM) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	163
<b>Şekil 4.27.</b> DAT'ın (1 µM) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	164
<b>Şekil 4.28.</b> DAT'ın (3 µM) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	165
<b>Şekil 4.29.</b> NDAT'ın THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	166
<b>Şekil 4.30.</b> Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) konsantrasyonlarının THP1 hücrelerinde NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri .....	167
<b>Şekil 4.31.</b> EGCG'nin THP1 hücrelerinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	168
<b>Şekil 4.32.</b> OT-404'ün THP1 hücrelerinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi .....	169
<b>Şekil 4.33.</b> NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör luminesans görüntüleri üzerine etkileri .....	172
<b>Şekil 4.34.</b> NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri .....	173
<b>Şekil 4.35.</b> XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör luminesans görüntüleri üzerine etkileri .....	175
<b>Şekil 4.36.</b> XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyal yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri .....	176
<b>Şekil 4.37.</b> OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör luminesans görüntüleri üzerine etkileri .....	178
<b>Şekil 4.38.</b> OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyal yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri.....	179
<b>Şekil 4.39.</b> EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör luminesans görüntüleri üzerine etkileri .....	181



<b>Şekil 4.40.</b> EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyali yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri .....	182
<b>Şekil 4.41.</b> Sisplatin ile tedavi edilen farelerde NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG ile ön-tedavi uygulamasının vücut ağırlığına etkisi .....	183
<b>Şekil 4.42.</b> NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG'nin tek başına veya sisplatin ile kombinasyon tedavisinin SUI2-luc pankreas tümör nekrozu üzerinde etkisi .....	185
<b>Şekil 4.43.</b> NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG'nin tek başına veya sisplatin ile kombinasyon tedavisinin SUI2-luc pankreas tümör nekrozu üzerinde etkisinin histopatolojik analiz sonuçları.....	186
<b>Şekil 4.44.</b> TNF- $\alpha$ standart eğri grafiği .....	187
<b>Şekil 4.45.</b> IL-1 $\beta$ standart eğri grafiği .....	187
<b>Şekil 4.46.</b> IL-6 standart eğri grafiği.....	188
<b>Şekil 4.47.</b> IL-10 standart eğri grafiği.....	188
<b>Şekil 4.48.</b> IL-17 standart eğri grafiği.....	188
<b>Şekil 4.49.</b> IFN- $\gamma$ standart eğri grafiği .....	189
<b>Şekil 4.50.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama TNF- $\alpha$ plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	190
<b>Şekil 4.51.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama IL-1 $\beta$ plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	191
<b>Şekil 4.52.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama IL-6 plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	192
<b>Şekil 4.53.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama IL-10 plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	193
<b>Şekil 4.54.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama IL-17 plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	194
<b>Şekil 4.55.</b> Farklı tedavi grupları için ortalama IFN- $\gamma$ plazma konsantrasyonu değişiklikleri.....	195
<b>Şekil 4.56.</b> Sisplatin ile veya sisplatin olmadan 21 günlük tedavide arka ayakların durumu .....	196

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa

Çizelge 2.1. Periferik nöropatinin semptom ve bulguları çoğunlukla hasar görmüş olan periferik nöronlara (otonom, duyuşal veya motor) bağılıdır .....	35
Çizelge 2.2. Periferik nöropati ile ilişikili terimler .....	36
Çizelge 2.3. Nöropatilerin patolojik sınıflandırması .....	38
Çizelge 2.4. Kanseri hastalarda periferik nöropatinin ayırıcı tanısı .....	43
Çizelge 2.5. Periferik nöropatiye neden olabilen faktörler .....	44
Çizelge 2.6. CIPN'ye neden olan kemoterapötik ajanlar .....	46
Çizelge 2.7. Nöropati tipine göre CIPN.....	48
Çizelge 2.8. Kemoterapötik ajanlar ile ilişikili CIPN'nin klinik bulgu ve semptomları..	50
Çizelge 2.9. NF-κB aktivasyonu ile ilişikili inflamatuvar hastalıklar.....	79
Çizelge 2.10. Tümör progresyonunun artışı ile ilgili NF-κB hedef genleri.....	80
Çizelge 2.11. CIPN tedavisi açısından değerlendirilen seçili farmasötik ajanlar .....	123
Çizelge 2.12. CIPN'nin önlenmesi açısından test edilen farmakolojik ajanlar .....	125
Çizelge 3.1. Test bileşiklerinin <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> çalışmalarda kullanım planı.....	128
Çizelge 3.2. İmmün yetmezliği olan, dişi NCr-Foxn1 tüysüz homozigot farelerin tedavi planı .....	137
Çizelge 3.3. Plazma sitokin analizi için hayvanların dağılımı.....	140
Çizelge 4.1. Test bileşiklerinin, HeLa hücrelerinde sisplatin ve/veya gemisitabin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri .....	170
Çizelge 4.2. Test bileşiklerinin, THP1 hücrelerinde LPS ve/veya H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri.....	170
Çizelge 4.3. NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri.....	172
Çizelge 4.4. XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri.....	175
Çizelge 4.5. OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri.....	177
Çizelge 4.6. EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri.....	180
Çizelge 4.7. Sisplatin ile kombine uygulanan test bileşiklerinin (NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG), nöropati ile ilişikili sitokin seviyeleri üzerine etkisi .....	195

## 1. GİRİŞ

Pankreas kanseri, hastaların <math>\leq 5\%</math>inde 5 yıllık sağkalım süresi ile tüm önemli kanser türleri içerisinde en kötü prognoza sahip, en agresif, ilaca-dirençli ve öldürücü kanser türlerinden biridir (Siegel ve ark. 2013). Pankreas kanseri tedavisi; cerrahi, kemoterapi, radyasyon ve hedefe yönelik terapi ile gerçekleştirilmektedir (Anonim 2016a).

İlerlemiş ve/veya metastatik pankreas kanserinde ilk tedavi seçeneği anti-metabolit gemsitabindir. Gemsitabin (2',2'-difloro-2'-deoksisitidin), Ara-C ile yapısal olarak ilişkili olan bir nükleosid analogudur (Casper ve ark. 1994, Carmichael ve ark. 1996, Moore 1996, Burris ve ark. 1997). Pankreas kanseri tedavisinde tek başına gemsitabin çok fazla etkili bulunmamasından dolayı diğer kemoterapötik ilaçlar ile kombinasyon çalışmaları, tümör yanıtını arttırmak ve aynı zamanda toksisitesini azaltmak için tasarlanmıştır (Warsame ve Grothey 2012, Schlafani ve ark. 2015). Son yıllarda, ilerlemiş ve/veya metastatik pankreas kanseri tedavisinde, gemsitabin ve sisplatinin kombine kullanımı klinik ve klinik öncesi araştırmalarda artış göstermiştir (Colucci ve ark. 2002, 2010, Philip 2002, Viret ve ark. 2004, Heinemann ve ark. 2000, 2006, 2008, Huang ve ark. 2016, Ouyang ve ark. 2016).

Sisplatin, cis-diamin-dikloro-platin (II), platin bazlı ajanların ilk üyesidir. Sisplatin, birçok farklı malignite (akciğer, kolorektal, yumurtalık, meme, baş-boyun, serviks, mesane, testis) tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup (Bhagra ve Rao 2007, McWhinney ve ark. 2009), ileri-evre pankreas kanseri tedavisinde de etkili bir ilaçtır (Wils ve ark. 1993). Sisplatinin pankreas kanseri hücrelerinde hücre ölümünün veya apoptozun güçlü bir uyarıcısı olduğu bilinmektedir (Li ve ark. 2005, Chen ve ark. 2013). Sisplatin kanser tedavisinde en yaygın kullanılan etkili bir kanser ilacı olmasına rağmen, doz sınırlayıcı ciddi nörotoksik yan etkilerinden dolayı terapötik kullanımı sınırlıdır (Mollman ve ark. 1988, Mollman 1990, Cavaletti ve ark. 1992, Gregg 1992). Sisplatinin temel yan etkileri nefrotoksisite, şiddetli bulantı, kusma, periferik nörotoksisite, ototoksisite ve miyelosupresyondur (kemik iliği depresyonu) (Thompson ve ark. 1984, McWhinney ve ark. 2009).

Günümüzde kanser tedavisi için kullanılan ilaç ve yöntemlerin yüksek maliyetli olmasının yanı sıra bu ilaçların hücrel toksisiteye ve birçok yan etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca kullanıma giren birçok kanser ilacına rağmen halen kanser tedavisinde tam bir başarı elde edilememiştir. Bu nedenle toksisitesi ve hiçbir yan etkisi olmayan yeni kemoterapi ilaçlarının üretilmesi ve yeni tedavilerin geliştirilmesi her geçen gün önemini arttırmaktadır.

İntegrinler, kanserin başlamasında ve/veya ilerlemesinde özellikle tümör hücresi sağkalımı, proliferasyonu, invazyonu, anjiogenezi ve metastazı gibi birçok hücrel süreçte rol oynamaktadır (Kumar 2003, Liu ve ark. 2008, Lu ve ark. 2008). Dolayısıyla, integrinleri hedef alan ajanlar, etkili antikanser terapötikler olma potansiyeline sahiptir (Nemeth ve ark. 2007). Integrin  $\alpha\beta3$ 'ün tümör anjiyogenezindeki önemli rolü, tümör anjiyogenezini inhibe eden veya tümör tedavisinin etkinliğini arttıran antagonistler tarafından integrin sinyalinin bloke edilebilmesi için yeni tedavi ajanlarının geliştirilmesine yol açmıştır (Brooks ve ark. 1994a, Kumar 2003, Liu ve ark. 2008). Integrin  $\alpha\beta3$  sinyal yolunun, düşük moleküler ağırlıklı inhibitörler, küçük moleküller, siklik arginin-glisin-aspartik (RGD) peptidler, peptidomimetikler veya monoklonal antikolar gibi  $\alpha\beta3$  integrin antagonistleri tarafından inhibe edilmesi, kanser tedavisinde ciddi bir potansiyele sahiptir.  $\alpha\beta3$  integrin antagonistlerinin *in vivo* modellerde antitümör ve anti-anjiyogenik etkilere sahip olmasının belirlenmesi ile klinikte antikanser terapötikler olarak sentezlenmekte ve etkileri araştırılmaktadır (Kerr ve ark. 2002, Mousa 2002). Kanser hücrelerinde kemoterapötik uygulama sonucunda artmış oksidatif stres insan hücrelerinin birçok bileşenine (protein, lipid ve DNA gibi) zarar verir ve karsinogenezde rol alır. Antioksidan özelliğe sahip ajanların oksidatif stresi önleyerek, pankreas kanseri riskini azalttığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Shankar ve ark. 2008, 2013, Han ve ark. 2013, Bimonte ve ark. 2015).

Kanser kemoterapisinin indüklediği periferel nöropati (CIPN), kemoterapötik ajanların yaygın yan etkilerinden biridir ve kanser hastalarının klinik sonuçlarını etkileyen bu ajanların pek çoğu için önemli bir sorundur (Wolf ve ark. 2008). CIPN son derece ağrılı olduğundan kronik rahatsızlığa ve hastaların genel yaşam aktivitelerinde önemli kayba neden olabilir, dolayısıyla hastaların yaşam kalitesini düşürebilir. Bu durum kemoterapi dozunda azalmalara, tedavi süresinde gecikmelere veya anti-tümör kemoterapinin

kesilmesine yol açabilir (Bhagra ve Roa 2007, Visovsky ve ark. 2007, Wolf ve ark. 2008, Velasco ve Bruna 2010, Canta ve ark. 2015). Dolayısıyla, kanser hastaları CIPN gelişimi nedeniyle kemoterapide tam veya optimal tedavi planlarını tamamlayamamaktadır (Windebank ve Grisold 2008). Bu durum da ideal yaklaşımlardan biri kemoterapi ajanlarının tümöre karşı etkinliğinin azaltılması değil, nöropati semptomlarının önlenmesi veya minimize edilmesidir. CIPN belirtileri, kalıcı veya geri dönüşümlü olabilir ve hangi nöronun (otonomik, motor veya duyuşsal) etkilendiğine bağlı olarak farklılık gösterir (Armstrong ve Grisdale 2006, Raffa ve Pergolizzi 2012). Platin ajanların, periferik sinir sistemine zarar vererek çoğunlukla dorsal kök ganglionda (DRG), duyuşsal sinir hücreleri hasarına yol açarak CIPN'ye neden olduğu düşünülmektedir (Gregg ve ark. 1992, Meijer ve ark. 1999, McKeage ve ark. 2001, Park ve ark. 2013). Kemoterapötik ajanların CIPN'ye neden olduğu mekanizma tam olarak anlaşılammıştır. Multidisipliner çalışmalar NF- $\kappa$ B'nin kronik nöropatik ağrı patogeneğinde önemli bir süreç olabileceğini göstermiş ve kemoterapötik ajanların tetiklediği NF- $\kappa$ B aktivasyonu CIPN ile ilişkilendirilmiştir (Sun ve ark. 2006, Popiolek-Barczyk ve ark. 2014). NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu, kemoterapötik uygulama sonucunda inflamatuvar yolağın stimülasyonu yoluyla ya da kanser hücrelerinde kemoterapötik uygulama sonucunda artmış oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilir. Sisplatinin kanser hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemesi (Kim ve ark. 2006, Chung ve ark. 2008), kanser hücrelerinde ilaç direcinin gelişmesi ile ilişkilidir, bu durum sisplatin ve NF- $\kappa$ B inhibitörlerini içeren kombinasyon terapisinin kullanımındaki önemi göstermektedir. Bu nedenle toksisite olmaksızın NF- $\kappa$ B inaktivasyonunu hedeflemek, kanser hücrelerini kemoterapötik ajanlara duyarlılaştırmada rol oynayabilir (Chuang ve ark. 2002, Yeh ve ark. 2002, Li ve ark. 2005, Venkatraman ve ark. 2005, Kim ve ark. 2006).

Bu tez çalışması, şuan ki tedavi seçenekleri, hedef tedavinin değerlendirilmesi, yeni ajanlar ve kemoterapi direcinin iyileştirilmesi için potensiyel seçenekler ve bu seçeneklerin periferik nöropati üzerine etkilerinin değerlendirilmesi üzerine odaklanmıştır. Bu önemli sorunun araştırılmasında kullanılabilecek yollardan biri, kemoterapötik ilaçların indüklediği NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe ederek, nöropatik ağrı gelişimini azaltmak ve kanser kemoterapi sonuçlarını iyileştirmek amacıyla kullanılan bileşiklerin etkisinin klinik öncesi yöntemlerle (*in vitro* ve *in vivo*) değerlendirilmesidir.

Dolayısıyla tez çalışmasında,

1. Kemoterapi ajanlarının (sisplatin ve gemsitabin) indüklediği NF- $\kappa$ B/ROS aktivitesi üzerine,  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199), antioksidanlar (EGCG ve OT-404) ve NF- $\kappa$ B inhibitörü (QNZ EVP4593) anti-inflamatuar etkileri HeLa hücrelerinde lusiferaz yöntemi ile araştırıldı.
2. LPS (Lipopolisakkarit)'in indüklediği NF- $\kappa$ B/ROS aktivitesi üzerine  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199), antioksidanlar (EGCG ve OT-404) ve NF- $\kappa$ B inhibitörü (QNZ EVP4593) anti-inflamatuar etkileri, THP1 hücrelerinde lusiferaz yöntemi ile araştırıldı.
3.  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199) ve antioksidanların (EGCG ve OT-404), tek başına ve sisplatin ile kombine halde pankreas kanseri üzerine anti-tümör etkileri, ortotopik pankreas tümör fare modelinde, *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS) ve histopatolojik değerlendirme ile araştırıldı.
4.  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistleri ve antioksidanların tek başına ve sisplatin ile kombine halde anti-inflamatuar etkileri, nöropatik ağrı patogenezinde yer alan NF- $\kappa$ B ile ilişkili sitokin ekspresyon seviyelerinin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$ ), ortotopik pankreas tümörlü farelerin plazma örneklerinden, Bio-Plex sitokin yöntemi ile analiz edilmesi sonucu belirlendi.
5.  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199) ve antioksidanların (EGCG ve OT-404), sisplatinin-indüklediği nöropati üzerindeki nöroprotektif etkileri belirlemek adına farelerin arka-ayaklarının davranışsal duruş değerlendirmesi yapıldı.

Bu çalışma,  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin reseptör antagonistlerinin ve antioksidanların, NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe ederek pankreas tümörlerinde sisplatine karşı oluşan ilaç direncini ve sisplatinin-indüklediği periferik nöropatiyi azaltarak pankreas kanseri tedavisine yeni bir tedavi stratejisi sağlaması amacıyla yapılmış original bir çalışmadır.

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

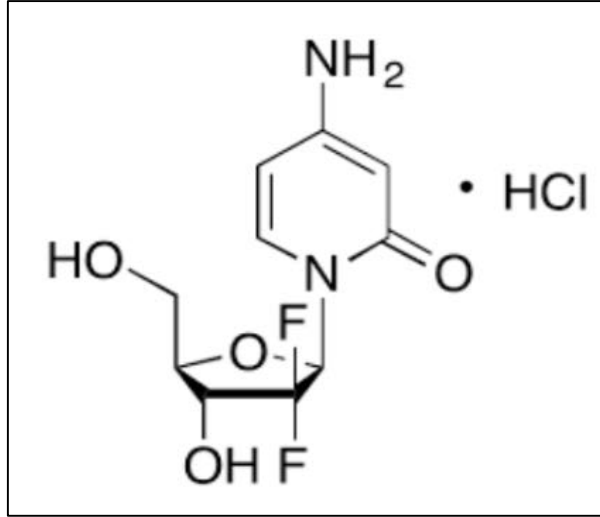
### **2.1. Pankreas Kanseri**

Kanser, hücrelerin normal yaşam döngüsünü kontrol altında tutan gen dengesinin bozulması sonucu hücrelerin kontrolsüz yaşam döngüsüne geçmesi ve vücut homeostazisine zarar verir hale gelmesi olarak tanımlanabilmektedir (Rieger 2004). Kanser hem dünyada hem de ülkemizde sebebi bilinen ölümler sıralamasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm sebebi olması açısından önemli bir sağlık problemidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ, WHO) tarafından 2012 yılında dünya çapında, yılda yaklaşık 14 milyon yeni kanser vakası ortaya çıktığı ve bu rakamın önümüzdeki 20 yıl içerisinde yılda 22 milyona yükselmesi beklendiği rapor edilmiştir. Aynı dönemde, kanser ölümlerinin yılda yaklaşık 8,2 milyondan yılda 13 milyona yükselmesi tahmin edilmektedir (Anonim 2014a). Dünya nüfusunun artışı ve yaşlanması düşük ve orta gelir grubu ülkelerdeki ile insidans oranlarının temelinde yatan sürekli artış küresel kanser yükünde artışlara katkı yapmaktadır. Kanser %90 çevresel (diabet, yüksek tansiyon, tütün, alkol, obezite, enfeksiyon, radyasyon, UV gibi), %10 genetik faktörlere bağlı oluşmaktadır (Boyle ve Levin 2008).

Pankreas kanseri, ABD'de kansere bağlı ölümlere dördüncü sırada yol açan bir kanser türüdür ve dünya çapında yılda yaklaşık 227,000 ölüme neden olmaktadır (Raimondi ve ark. 2009). Pankreas kanserinin yıllık insidansı, 2013 yılı için ABD'de 38,460 olarak tahmin edilen yıllık ölüm oranına neredeyse eş değerdir (Siegel ve ark. 2013). Pankreas kanserinin erken evrelerinde genellikle hiçbir belirti görülmez. Pankreas adenokarsinoma hastalarda büyük çoğunlukla, metastatik veya bölgesel olarak ilerlemiş 4. evrede ortaya çıkmaktadır.

#### **2.1.1. Pankreas kanseri tedavisinde gempitabinin rolü**

İlerlemiş ve/veya metastatik pankreas kanserinde ilk tedavi seçeneği antimetabolit gempitabindir. Gempitabin (2',2'-difloro-2'-deoksisitidin, dFdC), Ara-C ile yapısal olarak ilişkili olan bir nükleosid analogudur (Casper ve ark. 1994, Carmichael ve ark. 1996, Moore 1996, Burris ve ark. 1997) (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1.** Gempitabin (2',2'-difloro-2'-deoksisitidin) kimyasal yapısı

Gempitabinin etki mekanizması: Bir pirimidin antimetaboliti olan gempitabin (dFdC), hücre içinde nükleozid kinazlar yoluyla gempitabin difosfat (dFdCDP) ve gempitabin trifosfat (dFdCTP) nükleozidlere metabolize olur. Gempitabinin sitotoksik etkisi dFdCDP ve dFdCTP'ye bağlı iki ayrı mekanizma ile DNA sentezinin inhibisyonuna bağlıdır. İlk olarak, dFdCDP DNA sentezi için deoksinükleosid trifosfat (dCTP) oluşumunda sorumlu enzim ribonükleotid redüktazı inhibe eder. İkinci olarak da, dFdCTP DNA'da yer almak için dCTP ile yarışmaya girer (Carmichael ve ark. 1996). Aynı yolla, az miktarda gempitabin RNA içinde de yer alabilir. Böylece, dCTP'nin hücre içi konsantrasyonundaki azalma dFdCTP'nin DNA yapısına girmesini kolaylaştırır. DNA polimeraz epsilon gempitabini uzaklaştırılmaz ve oluşan DNA zincirini onaramaz. Gempitabin trifosfat (dFdCTP), DNA yapısına girdikten sonra, DNA replikasyonu sonlanmadan, DNA zincirinde bir nükleotidlik artış olur. Bu ilaveden sonra, esasen DNA sentezinde tam inhibisyon olur (maskelenmiş zincir sonlandırması). DNA'nın yapısına girdikten sonra, gempitabin apoptozis olarak bilinen programlı hücre ölümünü başlatır (Carmichael ve ark. 1996). Gempitabin, *in vitro* çalışmalarda hücre döngüsünü G1/S evresinde durdurur (Warsame ve Grothey 2012).

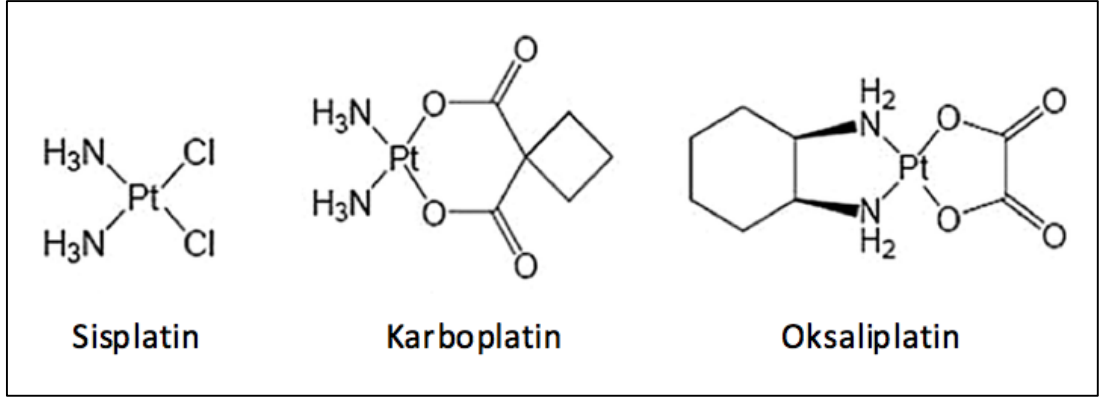
Pankreas kanseri tedavisinde tek başına gempitabin çok fazla etkili bulunmamasından dolayı diğer kemoterapötik ilaçlar ile kombinasyon çalışmaları tedavi etkinliğini arttırmak ve toksisiteyi azaltmak için tasarlanmıştır (Warsame ve Grothey 2012, Schlafani ve ark. 2015).



Son yıllarda yapılan araştırmalarda, FOLFIRINOX (oksaliplatin, irinotekan, 5-florourasil ve lökovorin) (Conroy ve ark. 2011, Warsame ve Grothey 2012), nab-paklitaksel (Von Hoff ve ark. 2013) ve GTX (gemsitabin, dosetaksel, kapesitabin) (Jesus-Acosta ve ark. 2012) tedavi rejimleri ile gemsitabin kombinasyon tedavisinin, tek başına gemsitabin tedavisine göre yüksek toksisite gösterdiği ve/veya genel sağkalımı önemli  l de arttırdığı belirlenmiştir. Tek ajan gemsitabinin ortalama genel sağkalımı, metastatik hastalığı olan hastalarda %10'luk yanıt oranı ile yaklaşık 6 aydır (Burris ve ark. 1997). Yakın zamanda, gemsitabinin FOLFIRINOX tedavi rejimi ile kombinasyonu faz III çalışmalarda incelenmiş ve %31,6'lık yanıt oranı ile 11,1 aylık ortalama genel sağkalım elde edilmiştir (Conroy ve ark. 2011). Jesus-Acosta ve ark. (2012) metastatik ve bölgesel olarak ilerlemiş pankreas kanseri olan hastalarda gemsitabin, dosetaksel ve kapesitabin (GTX) kemoterapisi ile sırasıyla 11,3 ve 25 aylık ortalama sağkalım elde etmişlerdir. Bu tedavi rejimlerinin, başarısı yüksek değildir ve yıllardır genel sağkalımda iyileşme gerçekleşmemiştir (Jesus-Acosta ve ark. 2012). İlerlemiş ve/veya metastatik pankreas kanseri tedavisinde gemsitabin ve sisplatin kombinasyon tedavilerinin kullanımı klinik (faz III) ve klinik öncesi araştırmalarda artış göstermiştir (Colucci ve ark. 2002, 2010, Philip 2002, Heinemann ve ark. 2000, 2006, 2008, Viret ve ark. 2004, Huang ve ark. 2016, Ouyang ve ark. 2016).

### **2.1.2. Pankreas kanseri tedavisinde sisplatinin rolü**

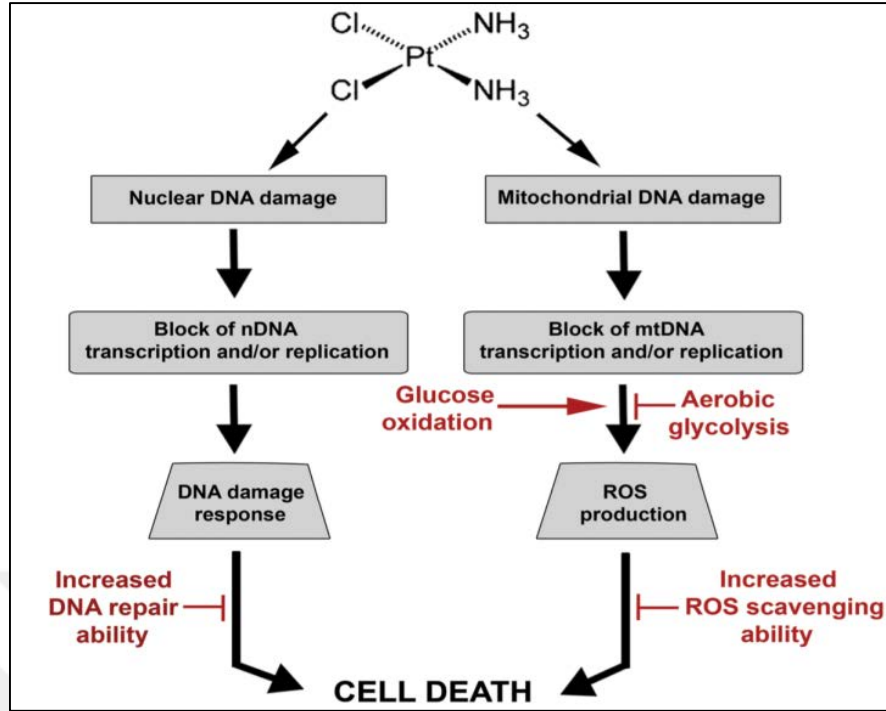
Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin gibi en yaygın kullanılan platin bazlı ajanlar, alkilleyici ajanlardır. Bu ajanların bazı yapısal benzerlikleri olmasına rağmen (Şekil 2.2), terapötik kullanımlarında, farmakokinetik ve advers etki profillerinde belirli farklılıklar vardır (Hartmann ve Lipp 2003, Cavaletti ve Marmiroli 2004). Platin bazlı ajanlar kanser kemoterapisinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve meme, kolorektal, akciğer, testis, yumurtalık, serviks, mesane, pankreas, baş ve boyun kanserleri olan hastalarda geliştirilmiş tedavi oranları ve sağkalım süresi ile ilişkilendirilmiştir (Thompson ve ark. 1984, Bhagra ve Roa 2007, McWhinney ve ark. 2009).



**Şekil 2.2.** Platin bazlı ilaçların kimyasal yapısı

Sisplatin olarak bilinen cis-diamin-dikloro-platin (II) (CDDP), platin bazlı ajanların ilk üyesidir; 1960'lı yıllarda sitotoksik özellikler taşıdığı keşfedilmiştir ve 1970'li yılların sonunda, birçok farklı malignitelerde kullanılmasına karşın, germ hücresi kanserlerinin sistemik tedavisindeki rolü ile önemli bir yer edinmiştir. Platin ajanların sitotoksik etkileri 50 yıldan uzun süreden beri bilinmektedir. Sisplatin bir antitümör ajan olarak akciğer, yumurtalık, mesane, serviks, testis, özofagus, endometriyum, pankreas, baş ve boyun kanserleri dahil çeşitli solid tümörlerin tedavisindeki etkinliği için tek başına veya başka kemoterapötik ilaçlar ile kombine edilerek yaygın olarak kullanılmıştır (Rosenberg 1985, Mollman ve ark. 1988, Cavaletti ve ark. 1992, Windebank ve Grisold 2008, McWhinney ve ark. 2009).

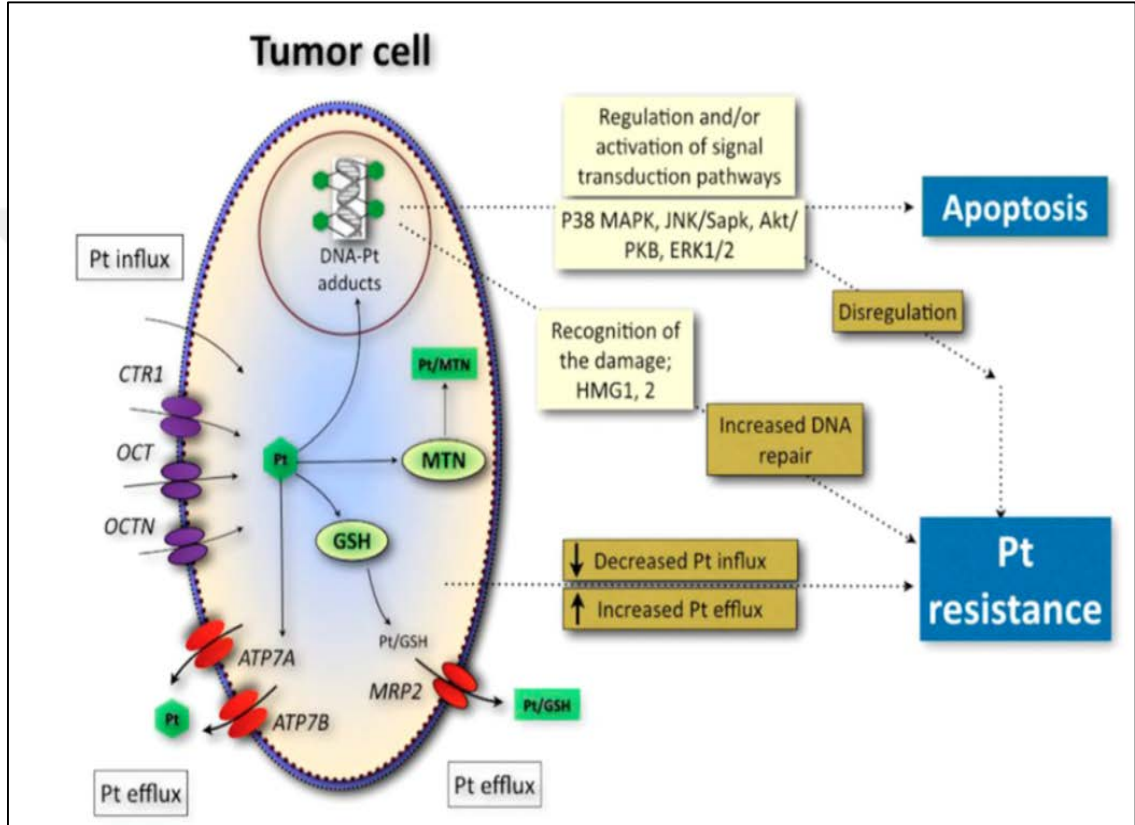
Platin ilaçlarının kemoterapötik aktivitesi büyük ölçüde platin-DNA etkileşimlerinden kaynaklanmaktadır. Platin ilaçlar, DNA ile hem intrastrand hem de interstrand çapraz bağlar (Pt-DNA adduct) oluşturacak şekilde reaksiyona girer ve böylece nükleer ve mitokondriyal DNA'da hasara yol açar (Hilkens ve van den Bent 1997, Jamieson ve Lippard 1999, McDonald ve ark. 2005, Raffa ve Pergolizzi 2012). Platin ilaçların neden olduğu DNA hasarının, DNA'nın transkripsiyonunu ve replikasyonunu inhibe etmesinden yola çıkılarak, bu ilaçların çoğalan tümör hücrelerine karşı etkili bir rol oynadığı değerlendirilmiştir (Harder ve Rosenberg 1970). Platin ilaçların etki şekillerinin, DNA hasarının tespit edilmesine yanıt olarak hücresel sinyaller üretilmesi sonucu hücre siklusunun durmasına ve programlı hücre ölümü (apoptoz) indüksiyonuna yol açtığı ileri sürülmüştür (Gill ve Windebank 1998, Fink ve Howell 2000, Krarup-Hansen ve ark. 2007) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Sisplatin ile indüklenen sitotoksiste (Marullo ve ark. 2013)

Platin ajanları tümör ve normal hücreler içerisine (Pt influx): (I) organik katyon taşıyıcıları (OCT) (Ciarimboli 2012, Sprowl ve ark. 2013), (II) organik katyon/karnitin taşıyıcıları (OCTN) (Jong ve ark. 2011), (III) bakır taşıyıcıları (CTR) (Ishida ve ark. 2002, Safaei 2006, Liu ve ark. 2012, Avan ve ark. 2015) tarafından veya (IV) pasif difüzyon ile taşınabilir (Wang ve Lippard 2005). Pt-DNA adduct; DNA replikasyonunu, transkripsiyonunu ve diğer nükleer fonksiyonları bloke eder ve aynı zamanda sinyal iletimi yollarını aktive ederek tümör hücrelerinde apoptoza ve nekroza yol açar. DNA hasarı, Pt bileşiğine bağlı olarak yüksek mobilite histon-dışı proteinler (HMG1 ve HMG2) ve/veya çeşitli DNA onarım yolları tarafından tanınır. MTN (metallotiyonein protein) ve GSH (glutatyon), Pt bileşiklerini nötralize edebilir (Avan ve ark. 2015, Carozzi ve ark. 2015). Platin bileşikleri, MRP'ler (çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinler, örn. ABCC2 olarak da bilinen MRP2) ve diğer dışa atım taşıyıcıları (ATP7A ve ATP7B) tarafından atılabilir (Pt efflux) (Guminski ve ark. 2006, Ip ve ark. 2010, Yamasaki ve ark. 2011). DNA hasarı onarımında ve GSH ile hücreleri korumada artışın yanı sıra; apoptoz yollarının bozulması, Pt içe alımda azalma ve Pt dışa atım da artış Pt direncini indükleyebilir (Avan ve ark. 2015) (Şekil 2.4).

Bölünen tümör hücrelerinde, Pt-DNA adduct oluşumunun büyüme inhibisyonuna neden olduğu ve hücreleri öldürdüğü dolayısı ile tümör hücrelerini elimine ettiği düşünülmektedir (Avan ve ark. 2015). Pt-DNA adducts hidroliz süreci nedeni ile hücre içinde oluşur ve platinin DNA ile interstrand (zincirler arası) ve intrastrand (zincir içi) çapraz bağlanmasına ve/veya DNA-protein çapraz bağlanmasına neden olarak, kanser hücrelerindeki DNA sentezini etkiler ve apoptoza aracılık eder (Chvalova ve ark. 2007).



**Şekil 2.4.** Platin bileşiklerinin tümör hücrelerindeki etkileri ve potansiyel etki mekanizmaları (Avan ve ark. 2015)

### 2.1.2.1. Sisplatin tedavisinin yan etkileri

Sisplatin kanser tedavisinde kullanılan ilk platin türevidir ancak doz sınırlayıcı ciddi nörotoksik yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlıdır (Mollman ve ark. 1988, Mollman 1990, Cavaletti ve ark. 1992, Gregg 1992). Başlıca sisplatin toksisite türleri nefrotoksisite, şiddetli bulantı, kusma, ototoksisite ve nörotoksisitedir (Thompson ve ark. 1984, Rosenberg 1985, McWhinney ve ark. 2009).

Sisplatin nörotoksisiteleri (Cersosimo 1989):

- Nöropati
- Lhermitte's sign
- Otonom nöropati
- Grandmal veya fokal epilepsi
- Ensefalopati
- Geçici kortikal körlük
- Retrobulber nörit
- Vokal kord paralizisi
- Retinal hasar

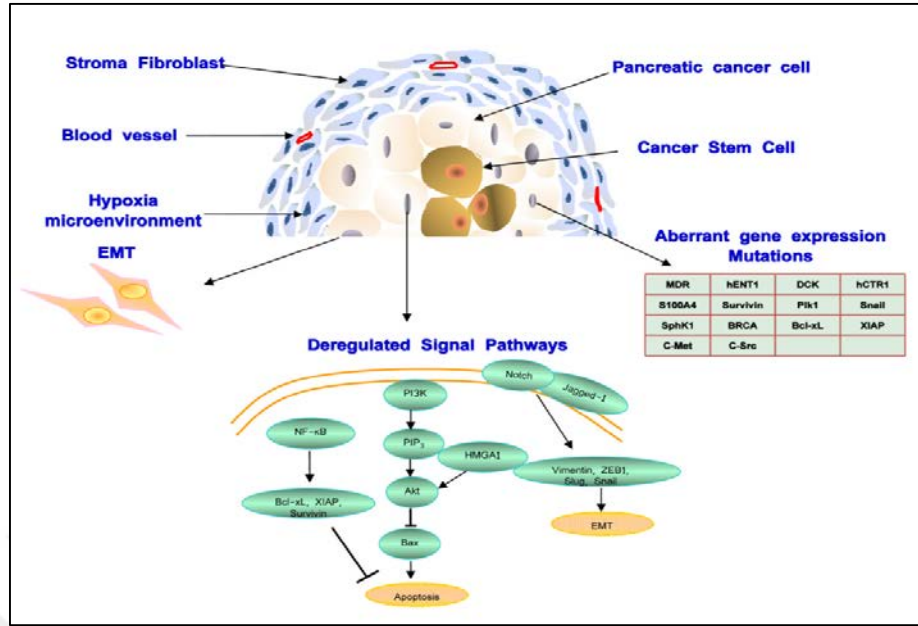
Çoğu durumda, nörotoksisite aksonal duyuşal nöropati ve ototoksisite ile sınırlıdır. Ototoksisite yüksek frekans aralığındaki işitmeyi etkiler; klinik spektrumu kulak çınlaması ile şiddetli sağırlık arasında değışkenlik gösterir. Ototoksisite sisplatinin doza bağılı bir etkisidir, 200 mg/m<sup>2</sup> üzerindeki dozları alan hastalar risk altındadır (Schaefer ve ark. 1985). Sisplatinin neden olduğı ototoksisite kümülatiftir ve irreversibl olabilir; bu nedenle odyogramlar ile gözlem yapılmalıdır. Sisplatin ile tedavi edilen hastaların %75'i ila %100'ünde belirli düzeyde ototoksisite görülür (McWhinney ve ark. 2009). Sisplatin toksik etkilerini doza bağımlı olarak Corti organı ve böbreklerde göstermektedir. Sisplatin ciddi renal tübüler hasara neden olabilir ve glomerüler filtrasyonu azaltır. Sisplatinin böbrekler üzerinde potansiyel olarak ölümcül hasar olasılığını en aza indirmek için aynı anda salin hidrasyon ve mannitol diüresi ile uygulanması gerekmektedir (McKeage 1995). Sisplatin hafif şiddette hematolojik toksisiteye neden olur (Cavaletti ve Marmiroli 2004). Seyrek olarak diğere nörotoksik etkiler bildirilmiştir: şu anda klinik kullanımda olan tedavi programına uygun sisplatin uygulaması nöroduyuşal işitme kaybı, retrobulbar optik nevrit, fokal ensefalopati, subakut miyelopati ve periferik nöropatinin tümüne neden olabilir. Periferik nöropati sisplatin ile ilişkili en yaygın doz sınırlayıcı faktördür (McKeage 1995, Hilken ve van den Bent 1997, Plotkin ve Wen 2003, McWhinney ve ark. 2009).

### 2.1.3. Pankreas kanserinde ilaç direnci

Tümör hücrelerinin ilaca karşı direnci; onkogenlerdeki mutasyonlar, tümör baskılayıcı gen (tümör süpresör gen) kaybı ve DNA onarımı, hücre döngüsü, hücre proliferasyonu, sinyal iletimi, anjiogenez veya apoptozda rol oynayan genlerin düzenlenmesinin bozulması sonucu artabilmektedir (Cui ve ark. 2012).

İlaç direncinin (hem içsel/de novo hem de kazanılmış/tedavi ile indüklenmiş), çoğu pankreas kanseri tedavisinin yararını sınırlayıcı başlıca nedenlerden biri olduğu düşünülmektedir. Pankreas kanserinde ilaç direncine; anormal gen ekspresyonu, gen mutasyonları (örn. K-ras, p53), sinyal iletim yolundaki farklı düzenlemeler (örn. NF-κB, Notch, Hedgehog, PI3K/Akt ve apoptoz yolları), epitelyal-mezenkimal dönüşüm (EMT), tümör mikroçevresinin etkisi, stroma hücrelerinin varlığı, yüksek dirence sahip hücrelerin varlığı ve kanser kök hücrelerin varlığını da içeren çeşitli mekanizmalar neden olmaktadır (Olive ve ark. 2009, Long ve ark. 2011, Warsame ve Grothey 2012, Singh ve ark. 2015) (Şekil 2.5). İlaç taşıma etkinliğinin artırılması ve ilaç direncinin azaltılması pankreas kanseri tedavisinin ana hedefini oluşturmaktadır. Tek bir molekülün veya spesifik sinyal iletim yolun hedef alınması pankreas kanserinde ilaç direncinin aşılması için yeterli olmayabilir. Birden fazla yolu hedef alan kombinasyon terapileri pankreas kanseri tedavisinde daha fazla etkinliğe sahip olabilir (Long ve ark. 2011, Karandish ve Mallik 2016).

Pankreas kanserinde ilaç direncinin moleküler ve hücresel temelini anlamak, pankreas kanserini kemoterapiye duyarlı hale getirme ve çeşitli kanserlerdeki mevcut tedavilerin etkinliğini artırma potansiyeline sahip yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açacaktır. Son gelişmelere rağmen, uzun vadeli sonuçlarla getirilen sınırlı fayda, standart terapiye karşı direnç mekanizmalarını tanımlamak ve terapötik potansiyeli olan yeni bileşikler tanımlamak için halen devam etmekte olan araştırmaları zorunlu kılmaktadır.



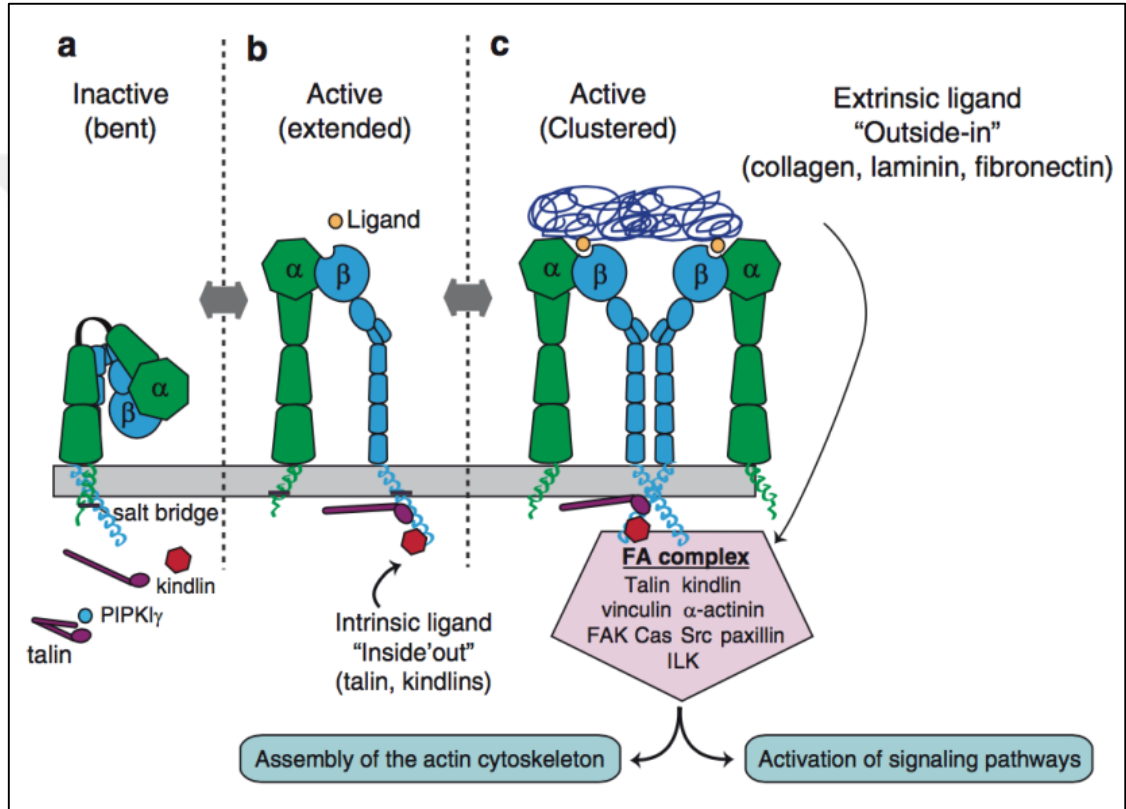
Şekil 2.5. Pankreas kanserinde ilaç direnci yolları (Long ve ark. 2011)

#### 2.1.4. Kanser tedavisinde integrinlerin rolü

İntegrinler, hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks (ekstraselüler matriks, ECM) etkileşimlerine aracılık eden ve farklı hücre fonksiyonlarının (hücre büyümesi, sağkalım, adezyon, morfoloji, polarite, migrasyon, tromboz, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz dahil) düzenlenmesini sağlayan sinyalleri koordine eden hücre adezyon reseptörleridir (Schwartz ve ark. 1995, Humphries 2000, van der Flier ve Sonnenberg 2001, Hood ve Cheresch 2002, Hynes 2002, Mousa 2002, Pozzi ve Zent 2003, Liu ve ark. 2008, Srichai ve Zent 2010, Santulli ve ark. 2011, Weis ve Cheresch 2011). İntegrin sinyal yolağı kanser gelişiminde, özellikle tümör hücresi sağkalımı, büyümesi, invazyonu, anjiyogenezi ve metastazında önemli rol oynamaktadır (Kumar 2003, Hsu ve ark. 2007, Liu ve ark. 2008, Weis ve Cheresch 2011). Bu nedenle, integrin fonksiyonunu hedef alan ajanlar etkili antikanser terapiler olma potansiyeline sahiptir (Nemeth ve ark. 2007).

İntegrinler, non-kovalent bağlı iki  $\alpha$  ve  $\beta$  altbirimlerinden oluşan heterodimerlerdir. Hücre iskeleti, sinyal molekülleri [integrin bağlı kinaz (ILK), fokal adezyon kinaz (FAK)] ve diğer hücre proteinleri ile etkileşime girebilen kısa bir sitoplazmik domaine sahiptir ve ECM ligandları için reseptör içeren daha uzun hücre dışı domaine sahiptir (Humphries 2000, van der Flier ve Sonnenberg 2001, Hynes 2002, Pozzi ve Zent 2003).

İntegrinler plazma membranından iki yöne de (dışarıdan içeriye ve içeriden dışarıya) sinyal yollarlar. Sitoplazmik domainlerin, hücre iskeleti proteinleri ile veya diğer hücre yüzeyi reseptörlerinin (örn. büyüme faktörü veya G proteini eşli reseptörler) aktivasyonu ile üretilen hücre içi sinyaller ile etkileşimi integrinleri aktive ederek, adezyon için ECM proteinlerine bağlanmalarını sağlar. Hücre dışı domainin bağlanması, birden çok biyolojik süreci düzenleyen sitoplazmik sinyal kaskadını başlatır (Hynes 2002, Srichai ve Zent 2010, Millard ve ark. 2011) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. İntegrin aktivasyonu (Srichai ve Zent 2010)

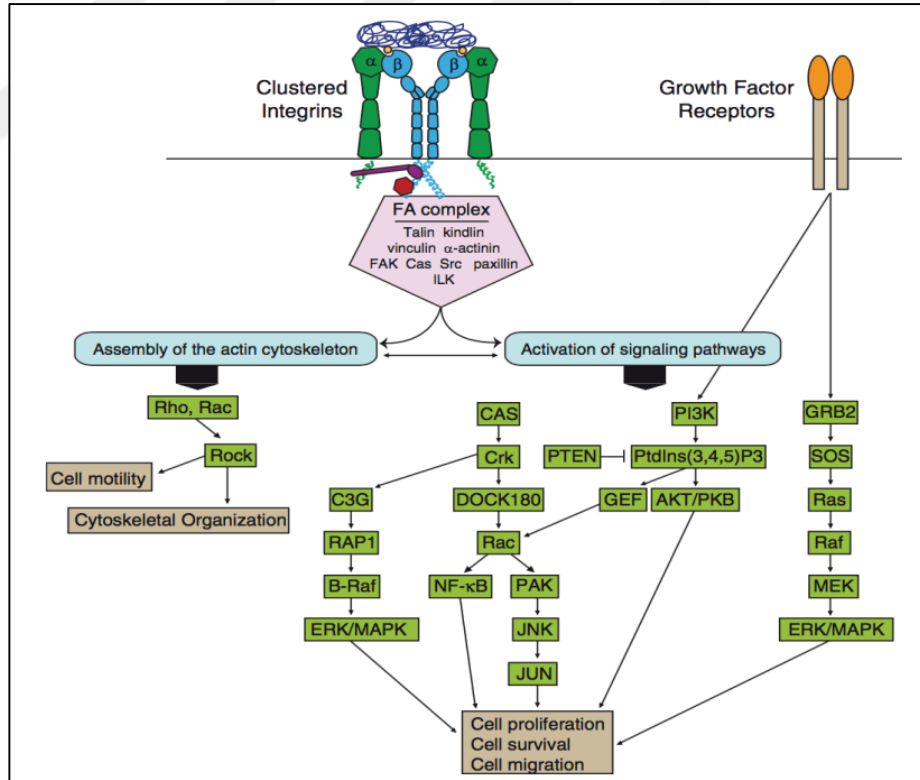
**a)** İntegrinler bağlanmamış, inaktif dinlenme durumunda. İntegrinler bu durumdayken bükülmüş konformasyondadırlar, transmembran ve sitoplazmik bölgeler yakın ilişkidir.

**b)** Talinler ve kindlinler tarafından aktive edilmeleriyle birlikte sitoplazmik ve transmembran alt birimleri ayrılır ve integrinlerin hücre dışı bölgeleri uzar. Hücre dışı ligand bağlanması bu konformasyonda gerçekleşebilir.

**c)** Aktive edilmiş integrinler liganda bağlandığında plazma membranında kümelenirler. Kümelenme; fokal adezyon (FA) kompleksi oluşturulması için hücre içi sinyallerin gönderilmesi, aktin hücre iskeleti oluşumu ve çeşitli hücre fonksiyonlarının kontrol edilmesi amacıyla sinyal yollarının aktivasyonu için gereklidir.

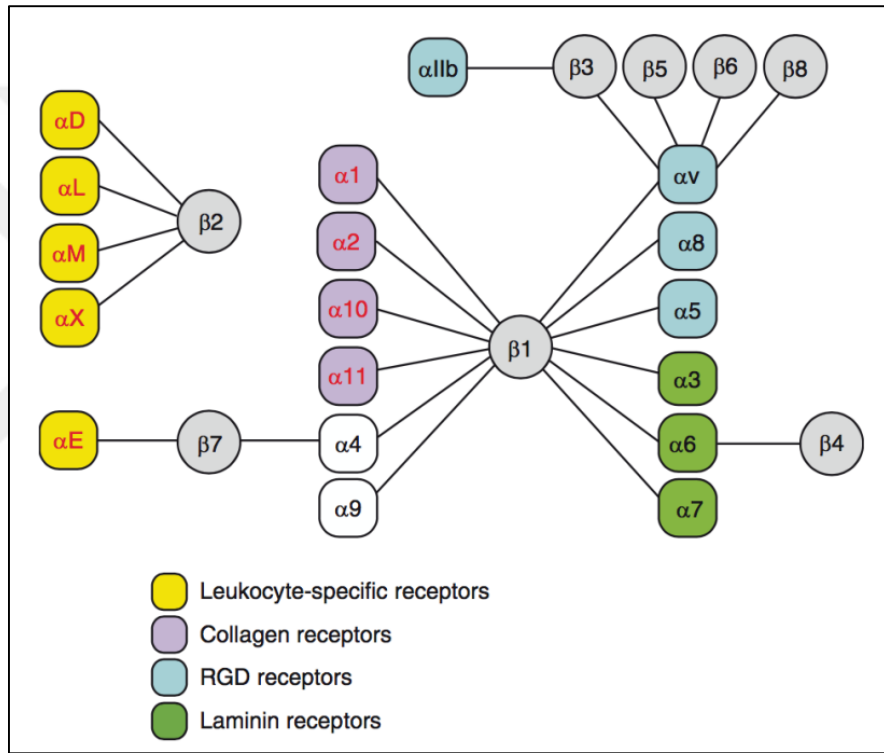


İntegrinler spesifik ligandları ile etkileşime girdiklerinde, focal adhezyon kinazı (FAK)  $\beta$  alt birimleri aracılığıyla bağlarlar. FAK, integrinler tarafından uyarılan sinyal iletimi yollarının önemli bileşenlerinden biridir. FAK'ın otofosforilasyona uğrayarak Src (Proto-onkogen tirozin-protein kinaz) ile bağlanması her iki kinazın aktivasyonu ile sonuçlanır. Daha sonra, aktif FAK/Src kompleksi CAS ve paksillini bağlar ve bu da daha sonra Crk'yi bağlayarak Ras ilişkili C3 botulinum toksini substratı 1 (RAC1), PAK, Jun amino-terminal kinaz (JNK) ve NF- $\kappa$ B aktivasyonuna yol açar (Seguin ve ark. 2015). Alternatif olarak, FAK/Src kompleksi Ras-proximate-1'i (RAP1) bağlayıp aktive edebilir ve bu da daha sonra v-Raf murin sarkom viral onkogen homologu B (B-Raf) ile ERK ve MAPK'yi aktive eder. FAK/Src kompleksi aynı zamanda GRB2 ile bağlanabilir ve bu da RAS'ı aktive ederek Raf–MEK–ERK yolunun aktivasyonuna yol açabilir. Ayrıca PI3K'nin FAK'a bağlanarak PI3K ve downstream efektörlerinin aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Seguin ve ark. 2015). Birden fazla sinyal kaskadının aktivasyonunu izleyen yollar komplekstir (Şekil 2.7).



**Şekil 2.7.** İntegrinlerin aktin hücre iskeletinin kurulumu ve sinyal yolu aktivasyonunda rolü (Srichai ve Zent 2010)

İntegrinler; kollajenler, fibronektinler, fibrinojen, osteopontin, vitronektin, trombospondin, lamininler, von Willebrand faktörü ve hücrese reseptörler [vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve hücreler arası hücre adezyon molekülü (ICAM) ailesi] gibi ligand olarak tanımlanan ECM proteinlerine bağlanabilir (Ploew ve ark. 2000, Hynes 2002, Weis ve Cheresch 2011). ECM bileşenlerine integrin bağlanmasının spesifikliğı  $\alpha$  ve  $\beta$  integrin alt birimlerinin hücre dışı domainlerine bağlıdır (Srichai ve Zent 2010). İntegrinler Şekil 2.8'de gösterilen şekilde, ligand seçiciliklerine göre genel olarak dört kategoriye ayrılır.



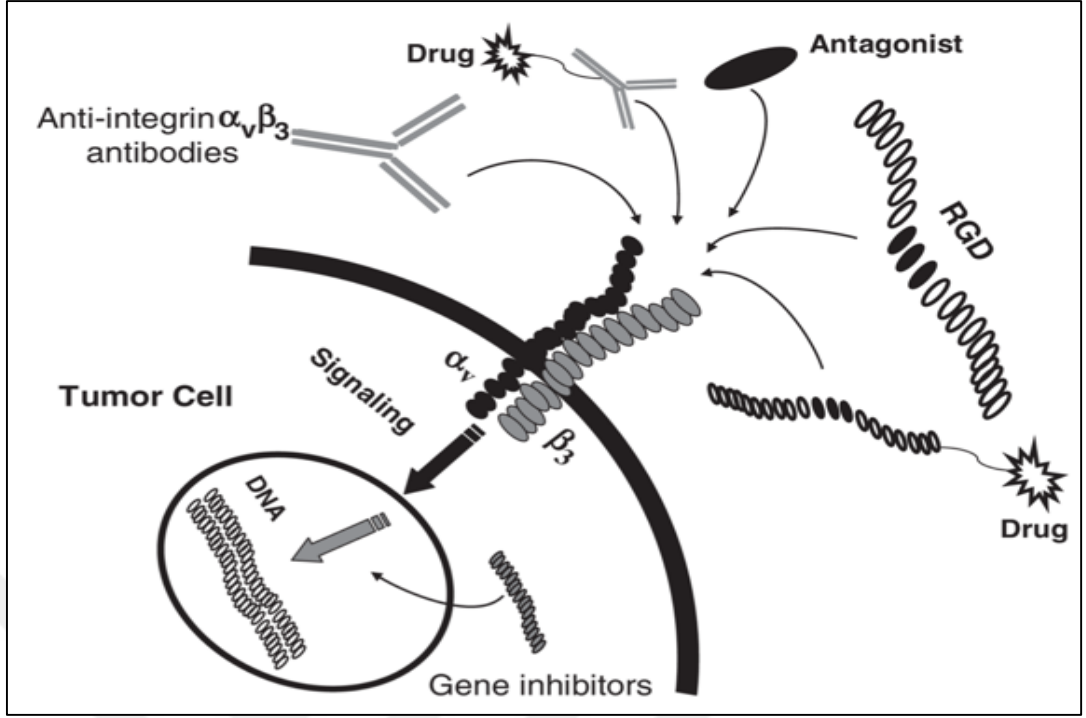
**Şekil 2.8.** İntegrin heterodimer ailesinin sınıflandırılması (Srichai ve Zent 2010)

$\alpha v\beta$  integrinleri Arg-Gly-Asp (arjinin-glisin-aspartik asit) (RGD) bağlanan başlıca fibronektin reseptörleridir (van der Flier ve Sonnenberg 2001). Özellikle,  $\alpha v$  integrinler, farklı  $\beta$  alt birimleri ile kombine halde anjiyogenik sürece katılırlar. Bu reseptör sınıfının kapsamlı şekilde araştırılmış olan üyelerinden biri de integrin  $\alpha v\beta 3$ 'tür (Santulli ve ark. 2011). İntegrin  $\alpha v\beta 3$ 'ün tümörle indüklenen anjiyogenezin bloke edilmesi için en önemli terapötik hedef olduğu görülmektedir (Brooks ve ark. 1994a, Kumar 2003).

Vitronektin reseptörü (VnR) olarak bilinen integrin  $\alpha\beta3$ , 125-kDa  $\alpha$  alt biriminden ve 105-kDa  $\beta3$  alt biriminden oluşur (Wilder 2002, Liu ve ark. 2008). İntegrin  $\alpha\beta3$ , Arg-Gly-Asp (RGD) tripeptit dizini eksprese eden ECM proteinlerini tanıyan glikoprotein membran reseptörüdür (Srichai ve Zent 2010) (Şekil 2.8). İntegrin  $\alpha\beta3$  aktive edilmiş endotelial hücreler üzerinde büyük ölçüde eksprese edilir ancak dinlenme durumundaki endotelial hücrelerde ve çoğu normal organ sisteminde mevcut değildir, bu durum  $\alpha\beta3$ 'ü anti-anjiyogenik terapi için uygun bir hedef yapar. Ayrıca, düz kas hücreleri, trombosit ve osteoklast gibi hematopoietik hücre tiplerinde bulunur.  $\alpha\beta3$  tümör hücreleri üzerinde de eksprese edilir, bu durum anti-integrin terapinin hem tümör hücresini hem de tümör damarlanmasını hedef almasını mümkün kılar (Cai ve Chen 2006, Hsu ve ark. 2007, Liu ve ark. 2008, Lu ve ark. 2008). Bir dizi ECM proteini (kanstatin, tumstatin, endostatin, anjiyostatin) ile etkileşime girmesine ek olarak, integrin  $\alpha\beta3$ 'ün fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2), metalloproteinaz-2 (MMP-2), aktive edilmiş trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), insülin ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) reseptörleri ile, hücre proliferasyonu ve invazyonunun aktivasyonu, ve apoptozun önlenmesini kolaylaştırmak için bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Kumar 2003, Weis ve Cheresh 2011).

İntegrinler, çoğu insan hücresinin yüzeyinde eksprese edilmektedir. Patolojileri, trombosit bozuklukları, ateroskleroz, kanser, osteoporoz, fibroz, böbreklerde diyabetik nöropati, yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) ve çeşitli otoimmün ve kronik inflamasyon hastalıkları dahil insanlardaki pek çok hastalığın başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunur. İlaç hedeflemede integrinlerin rolü uzun süredir bilinmektedir ve beş enjektabl integrin inhibitörü Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, Food and drug administration) tarafından inflamatuvar bağırsak hastalığı (Entyvio®, Tysabri®), multipl skleroz (Tysabri®), psöriyazis-sedef hastalığı (Raptiva®) ve akut koroner sendrom (Reopro®, Aggrastat®, Integrilin®) tedavisi için onaylanmıştır (<https://morphictx.com/our-technology/integrins-in-human-disease/>).

İntegrin  $\alpha\beta3$ , kanser tedavisinde büyük bir potansiyele sahiptir. İntegrin  $\alpha\beta3$ 'ün tümör anjiyogenezinde önemli rolü, teorik olarak tümör anjiyogenezi inhibe eden veya tümör terapisinin etkinliğini arttıran antagonistler tarafından sinyalinin bloke edilmesi için umut verici bir stratejiye yol açmıştır (Brooks ve ark. 1994a) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. İntegrin  $\alpha_v\beta_3$  inhibisyon yolları (Liu ve ark. 2008)

İntegrin  $\alpha_v\beta_3$ 'ün yeni tümör kan damarları ve bazı tümör hücreleri üzerindeki aşırı ekspresyonu, integrin  $\alpha_v\beta_3$ 'ü sitotoksik terapötiklerin kanseri hedef alan şekilde taşınması için uygun bir belirteç (marker) yapmaktadır (Liu ve ark. 2008). İntegrin  $\alpha_v\beta_3$  reseptörünün romatoid artrit (Wilder 2002), osteoporoz (Teitelbaum 2000, Coleman ve ark. 2004), osteoklast aracılı kemik rezorpsiyonu (Nakamura ve ark. 1999, McHugh ve ark. 2000), patolojik neovaskülarizasyon (Brooks ve ark. 1994a), melanom (Albelda ve ark. 1990, Sanders ve ark. 1992, Felding-Habermann ve ark. 2002), nöroblastom (Gladson ve ark. 1996, Erdreich-Epstein ve ark. 2000), meme kanseri (Brooks ve ark. 1995, Felding-Habermann ve ark. 2001, Zhao ve ark. 2007), yumurtalık kanseri (Landen ve ark. 2008, Shinderman-Maman ve ark. 2016), prostat kanseri (Zheng ve ark. 1999, Copper ve ark. 2002, McCabe ve ark. 2007) ve pankreas kanseri (Hosotani ve ark. 2002, Desgrosellier ve ark. 2009, Chuang ve ark. 2013) gibi tümörlerin metastazı gibi çeşitli patolojik süreçler ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Geçtiğimiz on yılda, kanserin önlenmesi ve/veya tedavi edilmesinde  $\alpha_v\beta_3$  antagonistlerinin kullanımını ele alan ve pek çok antagonistin pozitif klinik öncesi anti-anjiyogenik ve anti-tümör sonuçlar gösterdiği çok sayıda patent düzenlenmiştir ve yayınlanmıştır. İntegrin  $\alpha_v\beta_3$  sinyallemesinin; monoklonal antikolarlar (LM609/Avastin/Vitaxin/MEDI-523, CNTO 95/Centocor, 17E6,

Abciximab/ReoPro/c7E3 Fab, Abegrin/Etaracizumab/Vitaxin II/MEDI-522/MEDIImmune, 23C6, 27.1/VNR-1, BV3), disintegrinler (örneğin yılan zehri proteinleri), küçük molekül inhibitörler, küçük interferaz RNA (siRNA), peptitler (siklik RGD peptit inhibitörleri: EMD66203, Cilengitide/EMD121974, ST1646), peptidomimetikler (SC-68448, SCH221153, BCH-14661, BCH-15046), düşük molekül ağırlıklı inhibitörler ve diğer antagonistler (Kerr ve ark. 2002, Tucker 2003, Cai ve Chen 2006, Delbaldo ve ark. 2008, Liu ve ark. 2008, Lu ve ark. 2008, Millard ve ark. 2011, Goswami 2013) ile inhibisyonunun anjiyogenik endotelial hücrelerin apoptozunu indüklediği (Brooks ve ark. 1994a, Meerovitch ve ark. 2003) ve anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (Kumar 2003). Vitaxin, vasküler integrin  $\alpha\beta3$ 'e karşı humanize bir monoklonal antikordur, romatoid artrit ve ilgili romatizmal hastalıkların tedavisi için araştırılmaktadır (Wilder 2002). Yeni bir protein (ProAgio),  $\alpha\beta3$  integrinin olağan dışı bir bölgesine bağlanmak ve kaspaz 8 aktive ederek apoptozu indüklemek amacıyla tasarlanmıştır (Turaga ve ark. 2016).

İntegrinler hücre yüzeyinde bulunan ve hücrenin çevresine tutunan ve çevresi ile etkileşen proteinlerdir. İntegrinler ile "dışarıdan içeriye" ve "içeriden dışarıya" sinyallemenin, kanser hücrelerine çevrelerine tutunmakta yardımcı olduğu bilinmektedir. Araştırmacılar, kanser hücreleri yüzer haldeyken (örn. metastaz sırasında olduğu gibi) integrinlerin adezyon rollerinden, daha önce hiç görülmemiş olan tamamen yeni bir iletişim şekli "içeriden içeriye" sinyalleme (hücre içi integrin sinyalleri) geçmek için değiştiklerini ileri sürmektedir (Barrow-McGee ve ark. 2016). Araştırmacılar integrin beta-1 ( $\beta1$ )'in c-Met olarak adlandırılan diğer bir protein ile eşleştiğini ve bunların hücre içerisinde birlikte hareket ettiklerini keşfetmiştir. İki protein daha sonra hücre içinde bulunan, normalde hücre materyalinin bozulması ve geri kazanılması için kullanılan beklenmedik bir lokasyona giderler. Yeni lokasyon, hücre iletişiminin yeni rolü için kullanılır ve iki protein hücrenin geri kalanına metastaz sırasında ölüme karşı direnme mesajı yollar. Araştırmacılar hem meme hem de akciğer kanserlerini kullanarak,  $\beta1$  ve c-Met'nin hücreye birlikte girişi bloke edildiğinde veya hücre içerisindeki özel lokasyona doğru hareketleri engellendiğinde metastazların meydana gelme olasılığının daha düşük olduğunu bulmuşlardır (Barrow-McGee ve ark. 2016).

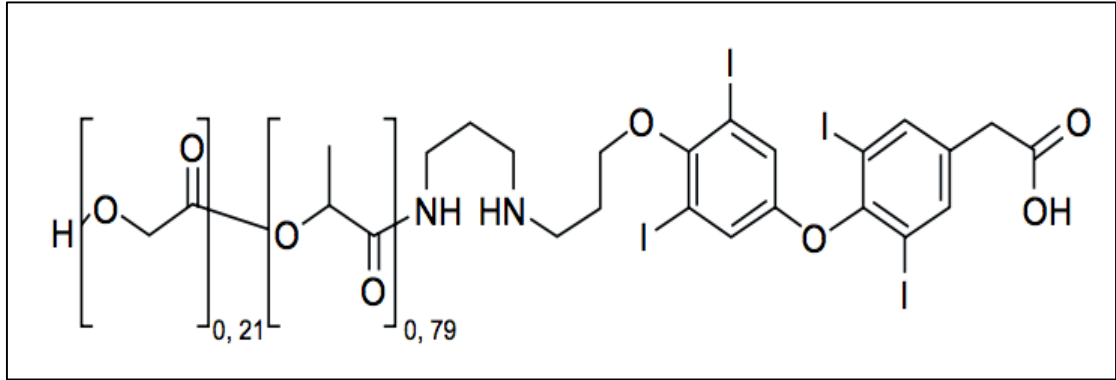
İntegrinler klinikte kullanımda olan veya hali hazırda test edilmekte olan ilaçlar ile kanser tedavisi için ana hedefler konumundadır. Çoğu integrin inhibitörü ilaç, bunların adeziv fonksiyonunu hedef alır ve bunları kanser hücrelerinin yüzeyinde bloke eder. Bu bilgiler metastaza karşı tümörün hem büyümesini hem de invazyonunu önleyebilecek veya yavaşlatabilecek daha iyi terapilerin ve daha etkili tedavi kombinasyonlarının tasarlanmasının önünü açabilir.

#### **2.1.4.1. $\alpha\beta3$ integrin reseptör antagonistleri NDAT ve XT199**

Onkolojik farmakolojinin güncel ilgi alanı; normal hücreleri koruyarak, ilacın doğrudan kanser hücrelerini hedef almasıdır (Arosio ve Casagrande 2016, Soudy ve ark. 2016, Yang ve Yu 2016). Plazma membranı integrin  $\alpha\beta3$ 'ün hücre dışı domaininde bulunan spesifik bir reseptörün ligandı olan ve spesifik reseptörü hedef alan yeni bir tetraiyodotiroasetik asit (tetrac) nanopartikül formülasyonu geliştirilmiştir (Davis ve ark. 2016). İntegrin  $\alpha\beta3$ , kanser hücreleri ve hızlı bölünen endotelial hücrelerin plazma membranlarında bol miktarda ekspresyon edilir (Somanath ve ark. 2009, Desgrosellier ve Cheresch 2010) ve hücre dışı domaininde tiroit hormonu ve tiroit hormonu analogları için bir reseptör bölge bulunur (Bergh ve ark. 2005, Davis ve ark. 2011, Davis ve ark. 2015). Bu reseptörden, tiroit hormonu analogları [L-tiroksin ( $T_4$ ) ve 3,3',5-triiodo-L-tironin ( $T_3$ )] ve tetrac non-genomik başlatılan bir mekanizma ile spesifik genlerin ekspresyonunu düzenlerler (Davis ve ark. 2015, 2016). L-tiroksin ( $T_4$ ) ve 3,3',5-triiodo-L-tironin ( $T_3$ ) kanser hücresi proliferasyonunu, sağkalım yollarını ve ayrıca anjiyogenezi  $\alpha\beta3$  integrin reseptörü üzerinden teşvik eder (Mousa ve ark. 2008, Yalcin ve ark. 2009, Davis ve ark. 2011, 2015). Tiroit hormonu için reseptör bölgesi integrin üzerindeki Arg-Gly-Asp (RGD) tanıma bölgesinin proksimalindedir (Bergh ve ark. 2005), bu bölge integrinle ECM proteinlerinin ve VEGF'in etkileşimleri açısından önem taşır (Plow ve ark. 2000, Gahmberg ve ark. 2009). İntegrin ile VEGF reseptörleri (Masson-Gadais ve ark. 2003) ve bazik FGF reseptörleri (Sahni ve Francis 2004) arasında karşılıklı etkileşim ilişkileri bulunmuştur. Tetrac'ın tiroit hormonu yokluğunda büyüme faktörleri (VEGF ve FGF) tarafından indüklenen anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (Mousa ve ark. 2008). Tetrac doğal olarak oluşan bir L-tiroksin ( $T_4$ ) analogudur ve L-tiroksinin ( $T_4$ ) integrin reseptörüne bağlanmasını ve aynı zamanda 3,3',5-triiodo-L tironinin ( $T_3$ ) etkilerini bloke ederek integrin reseptöründe bir antagonist olarak hareket ettiği bulunmuştur (Bergh ve

ark. 2005, Mousa ve ark. 2008). Tetrac'ın bir diaminopropan bağlayıcı aracılığıyla 150–200 nm'lik poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA) nanopartiküllere (Nanotetrac, nano-diamino-tetrac [NDAT]) kovalent bağlanması tetrac'ın hücre içine erişimini engeller ve dolayısı ile, etkisini integrin  $\alpha\beta3$ 'de artırır. Ayrıca, kanser hedefine yönelik ilaç taşınması ve sistemik toksisitede azalma beklentisi ile, nanopartikülün bir kemoterapötik ajan ile yüklenmesine de fırsat tanır (Davis ve ark. 2011) (Şekil 2.10). PLGA'ya bağlanan kanser hücresi hedefleme kısımları; folat reseptörü, DNA antikoru, transferin, kemokin hedefleme peptidi, modifiye edilmiş EGF ve RGD peptid'dir (Sudha ve ark. 2017a). Yeni formülasyon, tetrac'dan daha fazla antikanser potansiyele sahiptir, ve T4 ve T3'ün integrine bağlanmasını inhibe etmesinden dolayı anti-tümör ve anti-anjiyogenik özelliklere sahiptir (Davis ve ark. 2011, Davis ve ark. 2014).

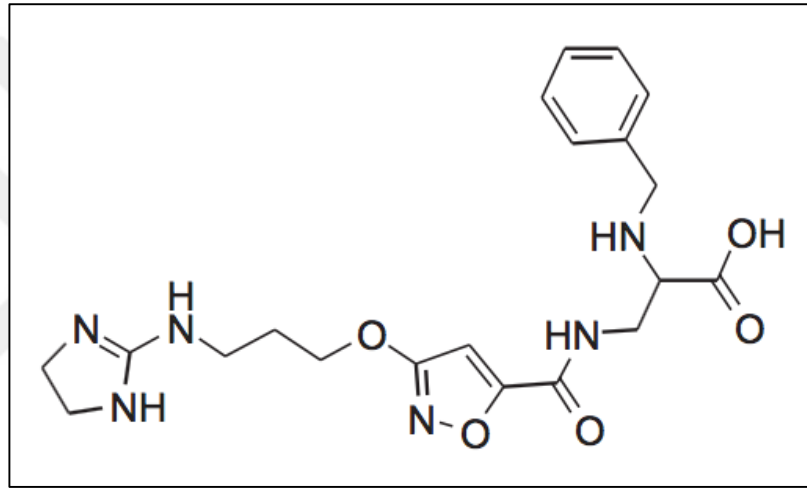
Yeni sentez ilaç adayı NDAT'in etkili bir anti-proliferatif, pro-apoptotik ajan olduğu çeşitli kanser hücre hatlarında gösterilmiştir (Davis ve ark. 2006, Lin ve ark. 2007, 2009, 2011, Rebbaa ve ark. 2008). NDAT'in etkili bir antikanser ve anti-anjiyogenik ajan olduğu *in vitro* ve insan kanser xenograft çalışmalarında gösterilmiştir (Glinskii ve ark. 2009, Yalcin ve ark. 2009, 2010a, b, 2013, Mousa ve ark. 2008, 2012, 2014, Bharali ve ark. 2013, Davis ve ark. 2014, Sudha ve ark. 2016, Sudha ve ark. 2017a, b).



**Şekil 2.10.** NDAT'in (Nanotetrac) kimyasal yapısı (Sudha ve ark. 2017b)

**Not:** Kimyasal adı {4-[4-(3-(3-(poli-2-(2-hidroksiasetotoksi))propanamido)aminopropoksi)-3,5-diiyodofenoksi]-3,5-diiyodofenil}asetik asittir.

XT199 [3-(3-(3-(4,5-dihidroimidazol 2-ilamino) propiloksilizoksazol-5-il) karbonilamino)-2-(fenilsülfonilamino) propiyonik asit], küçük bir molekül, non-peptit seçici  $\alpha\beta3$  integrin reseptörü antagonistidir (DuPont Pharmaceuticals Co, Wilmington, Del) (Bishop ve ark. 2001) (Şekil 2.11).  $\alpha\beta3$  antagonisti XT199'un aterosklerotik tavşanda balon anjiyoplastinin ardından, damar daralmasının önemli ölçüde inhibisyonuna ve damar duvarından sınırlı makrofaj infiltrasyonuna ve neovaskülarizasyona neden olduğu bulunmuştur (Bishop ve ark. 2001). XT199'un etkili bir anti-anjiyogenik ajan olduğu civciv koryoallantoik membran (CAM) modelinde gösterilmiştir (Mousa ve ark. 2006, Bridoux ve ark. 2011).



Şekil 2.11. XT199'un kimyasal yapısı (Bridoux ve ark. 2011)

Brooks ve ark. (1994b) tarafından integrin  $\alpha\beta3$ 'ün insan yara granülasyon dokusunda kan damarları üzerinde eksprese edildiği ancak normal deride eksprese edilmediği, ayrıca anjiyogenez sırasında ekspresyonunda dört kat artış olduğunu CAM modeli üzerinde gösterilmiştir. İntegrin  $\alpha\beta3$ 'ün, siklik peptit veya monoklonal antikör antagonistinin tek bir intravasküler enjeksiyonu CAM üzerinde devam eden anjiyogenezi bloke etmiştir. Bu anti-anjiyogenik etki CAM üzerine transplante edilmiş çeşitli insan tümör hücresi xenograflarının hızlı regresyonu ile ilişkili bulunmuştur. Bunun aksine, anjiyogenezin tümör veya sitokin tarafından indüklenmesi vasküler hücrenin hücre siklusuna girmesini ve integrin  $\alpha\beta3$  ekspresyonunu teşvik etmiştir. İntegrin  $\alpha\beta3$  antagonistlerinin, proliferatif anjiyogenik vasküler hücrelerin apoptozunu indüklediği ancak önceden var olan kan damarlarını etkilemediği gözlenmiştir (Brooks ve ark. 1994a).



Bridoux ve ark. (2011), tetrac ve XT199 bileşiklerinin anti-anjiyogenik biyoaktivitesinin, FGF'nin pro-anjiyogenez etkinliği üzerindeki değerlendirmesini CAM modelinde göstermişlerdir, sonuç olarak sırasıyla 1 ve 0,5 µg/ml doz düzeylerinde yaklaşık %86 inhibisyon gözlenmiştir. Mousa ve ark. (2006), XT199'un, dallanmış sülfatlı heksasakkaritin pro-anjiyogenez etkinliği üzerindeki anti-anjiyogenik etkisini CAM modelinde göstermişlerdir, sonuç olarak 4,8 µg/ml doz düzeyinde %67 inhibisyon gözlenmiştir.

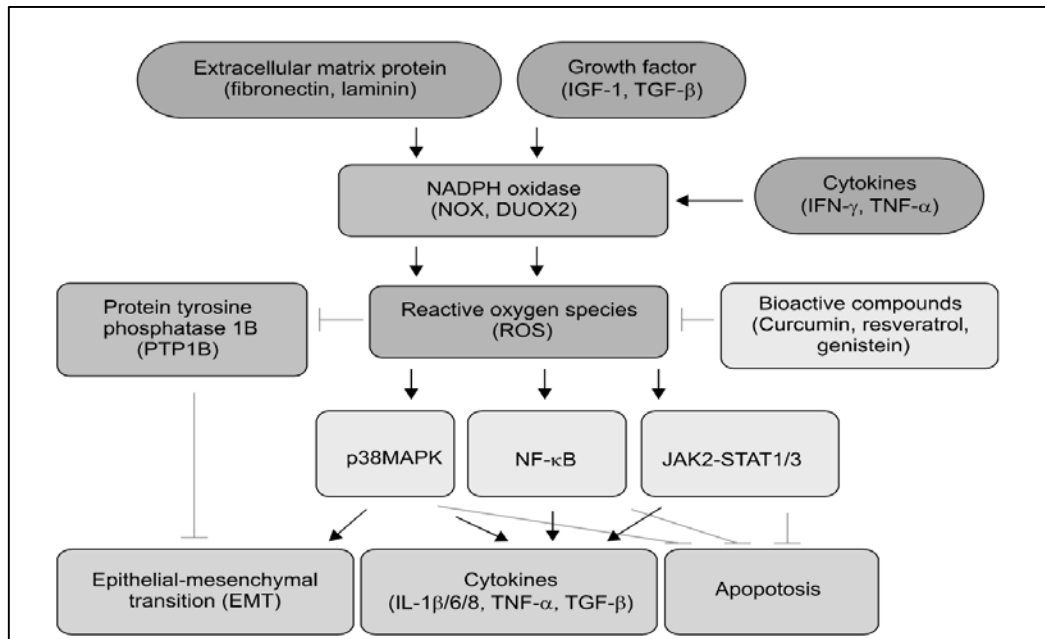
### **2.1.5. Kanser tedavisinde antioksidanların rolü**

Serbest radikaller son yörüngelerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron içermeleri nedeniyle kararsız yapıda olan, yüksek enerjili, kısa ömürlü, molekül ağırlığı düşük, hücreye zarar verme potansiyeline sahip moleküllerdir. Serbest radikaller çeşitli dış etkenlerin etkisi ile oluşmanın yanında (eksojen), insan metabolizmasının doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir (endojen). Serbest radikaller yüksek konsantrasyonlarda DNA, protein, lipit ve hücre membranları dahil olmak üzere hücrenin temel hücresel bileşenlerine zarar verebilir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı, özellikle oksidatif DNA hasarı (mutajenite), karsinojenite ve yaşlanmaya yol açmaktadır (Diplock 1998). Serbest radikallerin DNA üzerinde bu hasar mekanizması, karbon merkezli şeker radikallerinin OH- veya H- bağlı olarak bulunan heterosiklik baz radikallerinin oluşumuna neden olan, serbest radikallerin ayrılma ve birleşme tepkimelerinden ibarettir (Atmaca ve Aksoy 2009).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere antioksidan adı verilir. Hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldıran antioksidanlar üretmektedir. Metabolik yollarla oluşan serbest radikallerin oluşum hızı ile miktarı ile bunların antioksidanlar tarafından nötraliz edilme hızı arasında bir denge bulunur. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunur. Bu denge bozulduğunda oluşan serbest radikaller ortadan kaldırılmazsa hücrede reaktif oksijen türevlerinin (ROS) miktarları artar ve hücreyi olumsuz etkileyecek oksidatif stres durumuna yol açar (Diplock 1998).

Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Atmaca ve Aksoy 2009). Çeşitli nedenlere bağlı olarak nükleer DNA (nDNA)'nın yanı sıra mitokondriyal DNA (mtDNA)'da da oksidatif hasar şekillendiği belirtilmektedir. Memeli hücrelerindeki en önemli ROS kaynaklarından biri mitokondriyal elektron taşıma zinciridir (Hoffmann ve ark. 2003). Nükleer DNA'nın aksine mtDNA mitokondride serbest radikal oluşturan bölgelere çok yakın yerleşim gösterir ve histonlar tarafından korunmaz. nDNA'ya göre mtDNA'da oksidatif baz hasarının fazla şekillenmesinin olası nedenleri, mtDNA'nın en önemli hücre içi ROS kaynağı olması, DNA hasarı onarım sisteminin nDNA'ya göre yetersiz olması ve yaşa bağlı olarak mtDNA'da mutasyonlarda artış görülmesi olarak bildirilmektedir (Lim ve ark. 2005).

ROS ve sitokinler pankreas kanseri patogenezinde önemli faktörler olarak kabul edilmektedir. ROS kaynağı olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz (*NOX*, *dual oksidaz 2/DUOX2*) pankreas kanseri gelişiminde yer almaktadır. ROS, kanser hücresi apoptozunu inhibe eden, sitokin ekspresyonunu ve epitelyal-mezenkimal dönüşümü (EMT) indükleyen MAPK, NF- $\kappa$ B ve JAK/STAT aracılı sinyal yollarını aktive etmektedir (Yu ve Kim 2014) (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. ROS'un kanser gelişimindeki rolü (Yu ve Kim 2014)

Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikal oluşumunu önleyen bileşiklerdir. Birincil antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Bu enzimler genel olarak serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırarak bir hücrel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler. İkincil antioksidanlar; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini,  $\beta$ -karoten, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Koca ve Karadeniz 2003).

#### **2.1.5.1. OT-404 (antioksidan)**

OT-404, bir piperidin nitroksid olan tempol (4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin-N-oksil, TPL)'dan türetilen antikanser (Du ve ark. 2010, Rebbaa ve ark. 2013) ve antioksidan (Schubert ve ark. 2004, Erker ve ark. 2005) fonksiyonları ile bilinen küçük bir moleküldür. OT-404, 379 g/mol molekül ağırlığına ve yüksek lipofilikliğe ( $\log P = 3$ ) sahiptir, pH 7.4'de stabildir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, tempolün *Atm*-eksikliği olan farelerde (insan kanserine yatkınlık sendromu ataksi-telenjektazi (AT) fare modeli) sağkalımı, tümör gelişimindeki gecikmeyi uzatarak arttırdığını göstermiştir. Tempol tedavisi ROS'u azaltır, mitokondriyal membran potansiyelini eski haline getirir ve antioksidan etkileri ile uyumlu olarak dokulardaki oksidatif hasarı ve oksidatif stresi azaltır (Schubert ve ark. 2004, Erker ve ark. 2005). Stabil nitroksid (NO) bileşiği olan tempol, süperoksit dismutaz (SOD) benzeri trans-membranöz radikal süpürücü olarak işlev görür, hidrojen peroksit ve oksijen üretmek için süperoksit anyonlarıyla ( $O_2$ ) etkileşime girer (Wilcox 2010). Tempol, 172.25 g/mol molekül ağırlığında, hücre içi süperoksit anyonlarını süpürmek için kolayca hücrel zarlara nüfuz eder (Laight ve ark. 1997). Çeşitli araştırmalar, tempol'ün ROS (NO ve  $O_2$  gibi) oluşumunun inhibisyonunu arttırdığını göstermiş ve antioksidan tempol'ün septik şok (Liaw ve ark. 2005, Yuksel ve ark. 2009), hemorajik şok (Mota-Filipe ve ark. 1999), iskemi-reperfüzyon yaralanması (Thiemermann 2003), inflamasyon ve oksidatif stres (Gonzalez ve ark. 2015) tedavisinde potansiyel terapötik madde olduğunu ortaya koymuştur.

Tempol'ün, kan beyin bariyerine (KBB) diğer antioksidanlardan daha kolay nüfuz ettiği ve travmatik beyin hasarı, iskemik inme ve Parkinson hastalığı deneysel modellerinde nöroprotektif etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Liang ve ark. 2005, Deng-Bryant ve ark. 2008, Wanyong ve ark. 2015). Ahmed ve ark. (2014) tarafından tempol'ün, sisplatin-indüklediği nefrotoksisitenin önlenmesindeki potansiyel rolü, farelerde oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonun iyileştirilmesi yoluyla gösterilmiştir. Khabour ve ark. (2014) tarafından tempol'ün, insan lenfositlerinde sisplatin kaynaklı DNA hasarına karşı koruyucu etkisi gösterilmiştir.

Tempol'ün tümör hücre proliferasyonunu (Gariboldi ve ark. 1998, 2003) ve anjiogenezi (Polytarchou ve Papadimitriou 2004) inhibe ettiği ve diğer antikanser ajanlara duyarlılığı arttırdığı bildirilmiştir (Gariboldi ve ark. 2006). Son çalışmalar, tempol'ün sisplatin gibi kemoterapötik ajanlarla ilişkili oksidatif strese karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Youn ve ark. (2016), sisplatin tedavisi öncesi tempol ön tedavisinin, sisplatinin indüklediği sitotoksisteyi [artan ROS birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, apoptotik özellikler ve belirteçler, korti organı (HEI-OC1, House Ear Institute-Organ of Corti 1) hücre hasarı gibi] önemli ölçüde inhibe ettiğini ve sisplatinin indüklediği ototoksisteye karşı koruyucu bir rol oynadığını göstermiştir.

OT-404'ün, kemoterapiye duyarlı ve/veya kemoterapiye dirençli insan nöroblastoma (SKN-SH) ve osteosarkom (SaOS2) hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve hücrelerin kemoterapötik ilaçlara (etoposid ve/veya doksorubisin) karşı duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Rebbaa ve ark. 2013). Araştırmacılar, OT-404'ün tümör anjiogenezi üzerinde etkisini CAM kanser matrigel modelinde test ederek, OT-404'ün osteosarkom (SaOS-2), pankreas (Panc-1), akciğer (H-1299) ve meme (MCF-7) kanseri tümörlerinde hemoglobin seviyelerini düşürerek *in vivo* anjiogenezi inhibe ettiğini göstermiştir. Ayrıca, OT-404'ün bFGF ve VEGF tarafından indüklenen pro-anjiogenezi inhibe ettiği ancak büyüme faktörleri veya pro-anjiogenik uyarılar olmadığında anjiogenez üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı CAM modelinde gösterilmiştir (Rebbaa ve ark. 2013). OT-404'ün, tümör hücrelerinin yanı sıra destekleyici endotel hücrelerinin de proliferatif davranışını etkileyebilecek potansiyele sahip olması, oral olarak uygulanabilen toksik olmayan bu bileşiği daha ileri klinik öncesi ve klinik araştırmalar için uygun bir aday yapmaktadır (Rebbaa ve ark. 2013).

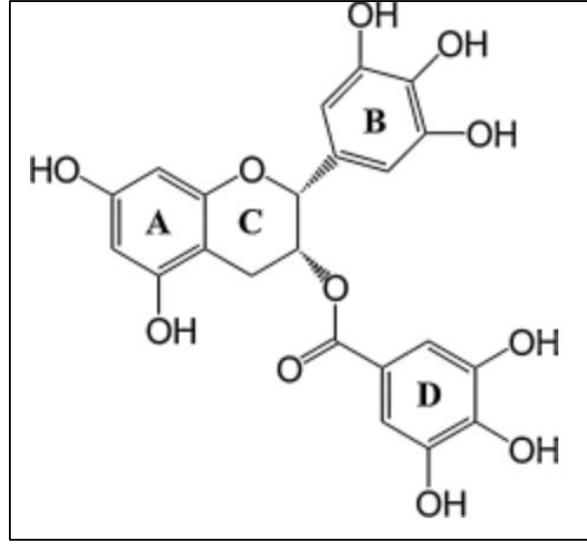
Ahmed ve ark. (2014), sisplatin tedavisi öncesi tempol ön-tedavisinin farelerde tümör büyümesinin baskılanması üzerine etkisinin, tek başına sisplatin ile tedavi edilen farelerde gözlenen etkiye benzer olduğu gösterilmiştir. İlginç olarak, tempol'ün solid karsinomların büyümesine karşı sisplatin'in antikanser etkisi ile interfere olmadığını göstermişlerdir. Du ve ark. (2010), tempolün insan pankreas kanseri hücrelerinin (MIA PaCa-2) *in vivo* ve *in vitro* büyümesini inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir.

#### **2.1.5.2. EGCG (antioksidan)**

Yeşil çay (*Camellia sinensis*) ekstraktı, epigallokateşin-gallat (EGCG), epigallokateşin (EGC), epikateşin-gallat (ECG) ve epikateşin (EC) dahil bir dizi kateşin içermektedir (Şekil 2.13). EGCG, yeşil çayda en fazla bulunan kateşin türüdür. EGCG; anti-inflamatuar, anti-oksidan, anti-diyabet, anti-obezite ve anti-tümör etkilere sahiptir (Min ve Kwon 2014).

EGCG'nin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson ve Alzheimer hastalıkları) ve karaciğer hastalıkları tedavisinde faydalı etkileri olduğu bilinmektedir (Min ve Kwon 2014). Son yıllarda yapılan birçok çalışma, yeşil çay polifenollerinin ve EGCG'nin cilt, akciğer, ağız boşluğu, özofagus, duodenum, meme, kolon, mide, karaciğer, ince bağırsak ve prostat kanserlerine karşı kemopreventif etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Yeşil çay tüketiminin ateroskleroza, koroner kalp hastalığına, yüksek kan kolesterol konsantrasyonlarına ve yüksek tansiyona karşı koruyucu etkisi olduğunu gösteren araştırmalarda bulunmaktadır (Mukhtar ve Ahmad 2000, Yang ve ark. 2002, Khan ve Mukhtar 2013).

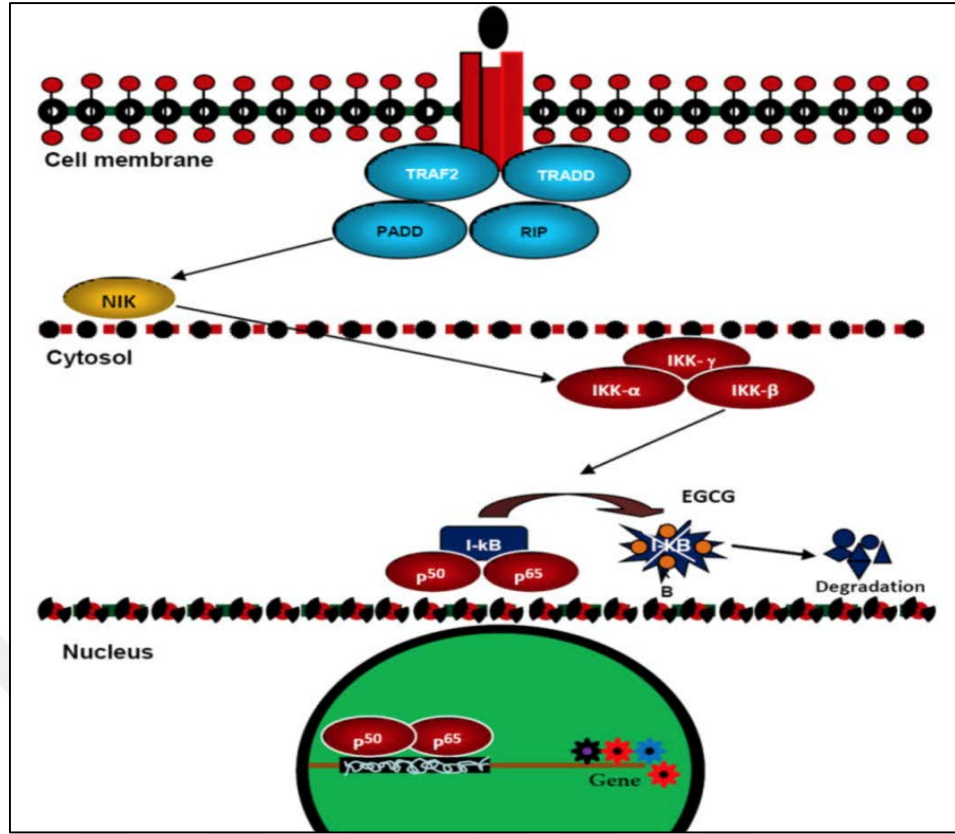
EGCG'nin insan pankreas kanseri hücrelerinde (AsPC-1), hücre büyümesi, invazyonu, metastazı ve anjiogenezi inhibe edici etkileri, xenograft fare tümör modelinde gösterilmiştir (Shankar ve ark. 2008). Shankar ve ark. (2013) tarafından, EGCG'nin PI3K/AKT ve ERK yolaklarının inhibisyonu ve FKHRL1/FOXO3a'nın aktivasyonu ile ilişkili olarak pankreas kanseri ortotopik fare tümör gelişimini, anjiyogenezini ve metastazını inhibe ettiği gösterilmiştir.



**Şekil 2.13.** EGCG'nin kimyasal yapısı (Min ve Kwon 2014)

EGCG, kimyasal yapısına dayanılarak genellikle antioksidan olarak sınıflandırılır. Hücrelerin EGCG ile tedavi edilmesi, Fe (III) varlığında hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretimi ile sonuçlanmaktadır. Dolayısıyla, EGCG bazı hücre yapılıarda pro-oksidan olarak etki göstermektedir (Min ve Kwon 2014, Kim ve ark. 2014). Yeşil çay polifenolleri, ROS veya geçiş metal şelat komplekslerini süpürerek doğrudan antioksidan etki göstermektedir, aynı zamanda hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve süperoksit anyon oluşumuna neden olarak pro-oksidan etki de gösterebilmektedir (Forester ve Lambert 2011).

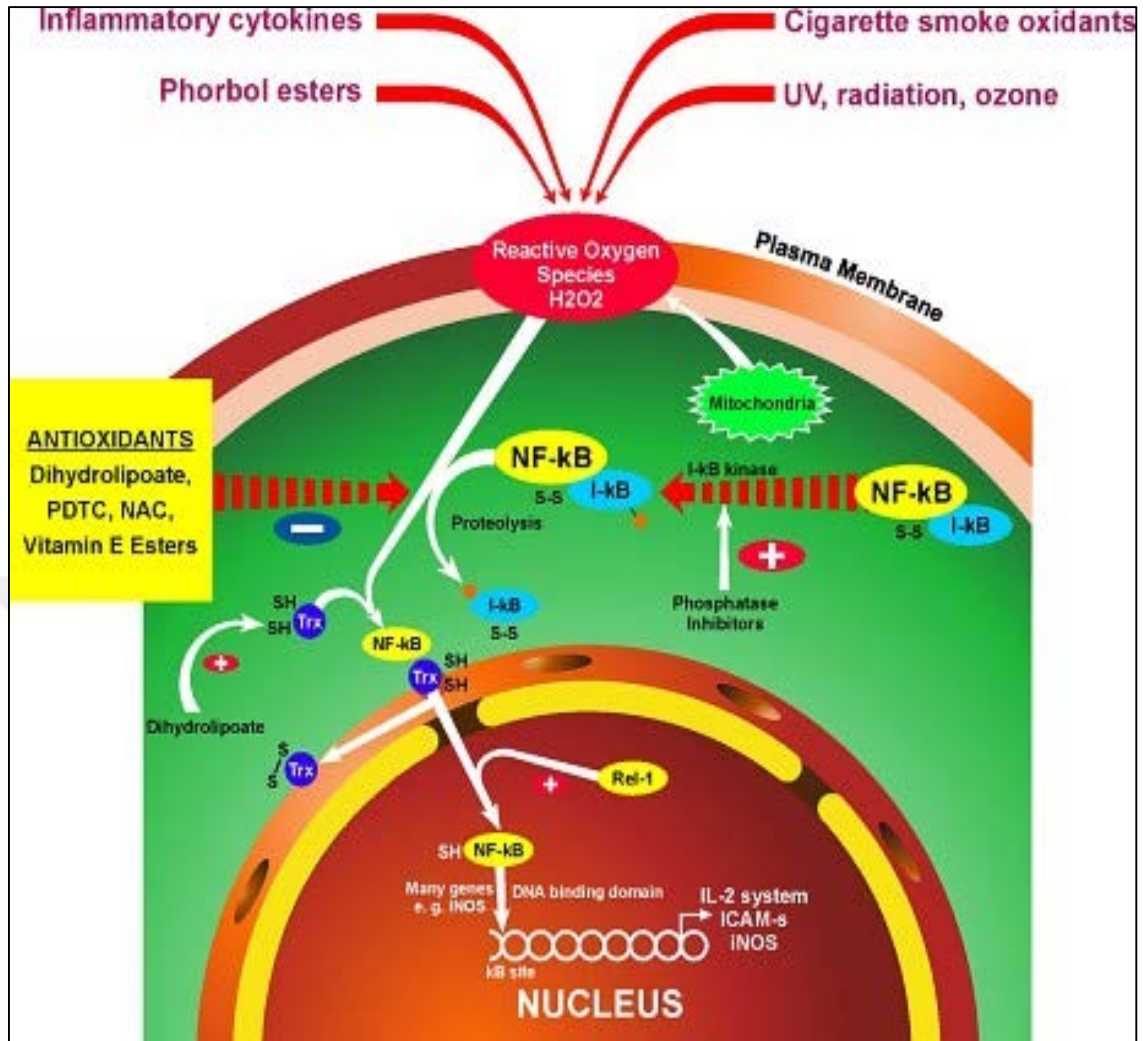
EGCG'nin plazma zarındaki proteinler ve fosfolipitler ile doğrudan etkileşime girdiği ve sinyal iletim yollarını, transkripsiyon faktörlerini, DNA metilasyonunu, mitokondriyal fonksiyonu ve otofojiyi düzenleyerek yararlı biyolojik etkiler gösterdiği bilinmektedir (Kim ve ark. 2014). EGCG; karsinogen aktiviteyi, tümörögenezi, tümör proliferasyonunu, anjiogenezi, metastazı ve invazyonu inhibe ederek ve hücre ölümünü indükleyerek antikanser etki göstermektedir. Bu etkiler ROS üretiminin modülasyonu, NF-κB sinyal yolunun inhibisyonu ve MAPK (ERK, p38 MAPK, JNK) aktivasyonunun down/upregüle olması ve epigenetik değişikliklerin düzenlenmesi ile ilişkilidir (Min ve Kwon 2014). Dolayısıyla, EGCG ile NF-κB sinyal yolunun düzenlenmesi, EGCG'nin kemopreventif potansiyeline katkıda bulunabilmektedir (Khan ve ark. 2006, Singh ve ark. 2011) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. EGCG'nin NF-κB sinyal yoluna etkisi (Singh ve ark. 2011)

### 2.1.6. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Süperoksit anyonları, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gibi reaktif oksijen türleri (ROS); DNA, protein ve lipidlerin ciddi hasarına neden olabilmektedir. Normal hücrel süreçler (mitokondrial elektron taşıma) sırasında veya çevresel uyaranlar sonucu (sitokinler, UV, radyasyon) ROS üretiminin artması normal redoks dengesini bozmakta ve hücreleri oksidatif strese sokmaktadır (Bai ve ark. 2005). Kanser kemoterapisi sırasında ROS'un (Fidanboylu ve ark. 2011) ve devamında ROS ile ilişkili NF-κB aktivasyonunun (Morgan ve Liu 2011) arttığı bilinmektedir (Şekil 2.15). Dolayısıyla, kanserli hücrelerde hidrojen peroksitin indüklediği inflamatuvar etkiyi nötralize etmek için katalaz veya antioksidanlar gibi çeşitli tedavi stratejilerinin kullanılması gerekmektedir.



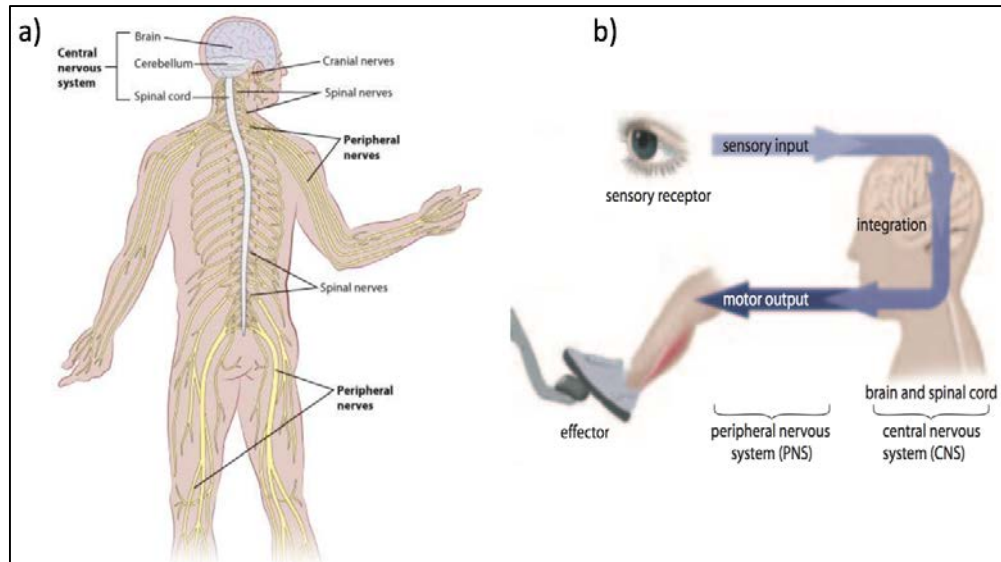
Şekil 2.15. ROS aracılı NF-κB sinyal yolu aktivasyonu  
<http://www.thaiwave.com/networkantioxidants/nfkb.htm>



## 2.2. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi (PSS), merkezi sinir sistemi (MSS-beyin, beyincik ve omurilik) ile vücudun diğer kısımları arasında bilgi iletimini gerçekleştirir (Anonim 2014b) (Şekil 2.16a). PSS ve MSS, dış ve iç ortamlardan gelen bilgileri alır, iletir, entegre eder, değerlendirir ve yanıtlar (Wickham 2007). Üç ana tip nöron: duyuşal nöronlar (PSS), internöronlar (MSS) ve motor nöronlar (PSS) sinir sisteminin temel impuls iletim yolunu oluşturur. Bu yol birbiriyle örtüşen üç fonksiyona bağımlıdır: duyuşal girdi, entegrasyon ve motor çıktı (Ryerson 2011) (Şekil 2.16b).

1. Duyuşal girdi: Duyuşal nöronlar, duyuşal reseptörlerden bilgileri alırlar ve bu impulsları MSS'deki internöronlara iletirler.
2. Entegrasyon: Internöronlar bütünüyle MSS bünyesinde bulunur. Duyuşal ve motor nöronlar arasında bir bağlantı işlevi görürler. Gelen duyuşal bilgileri işler, entegre eder ve çıkan motor bilgileri aktarırlar.
3. Motor çıktı: PSS'deki motor nöronlar bilgileri MSS'den kaslara, salgı bezlerine ve diğer organlara taşırlar (efektörler).



**Şekil 2.16. a)** Sinir sistemi (<http://www.cancer.org/peripheral-neuropathy-caused-by-chemotherapy-pdf>) **b)** Sinir impuls iletim yolunda nöronlara genel bakış ([http://highered.mheducation.com/sites/dl/free/0070960526/323541/mhriib\\_ch11.pdf](http://highered.mheducation.com/sites/dl/free/0070960526/323541/mhriib_ch11.pdf))

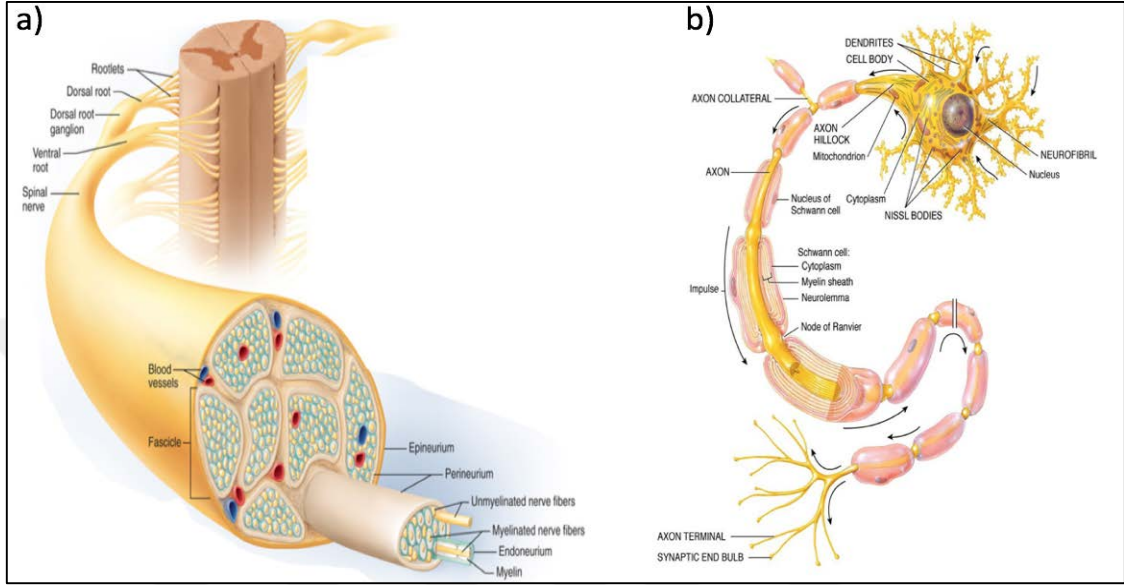
MSS; büyük moleküller, çok yüklü iyonlar ve birçok ilaç dahil olmak üzere zararlı maddelerin kandan beyin ve omuriliğe difüzyonunu önleyen kan-beyin bariyeri (KBB) tarafından korunur. KBB mükemmel değildir ve seçili ilaçlar özellikle yüksek dozlarda uygulandıklarında bariyeri geçerler. Küçük molekül veya yüksek derecede lipofilik olan bazı ilaçlar KBB'yi geçebilir. Diğer yandan, aynı KBB, afferent (duyusal) ve efferent (motor) nöronlar ve spinal sinirlerin dorsal kök ganglionları (DRG) dahil olmak üzere PSS'yi korumaz. PSS, MSS çevresinde bulunan bariyerden farklı kan-sinir bariyeri (KSB) tarafından korunur, bu durum bir ilacın sinir sisteminin bir kısmına etki ederken neden başka bir kısmına etki etmediğini veya PSS'nin kemoterapinin nörotoksik etkilerine MSS'den neden daha fazla duyarlı olduğunu açıklar (Almadrones ve ark. 2002, Willis 2006, Wickham 2007).

PSS; beyin ve omurilik dışında kalan sinirlerden ve ganglionlardan oluşur. Spinal sinirler PSS'nin bir parçasıdır ve oldukça komplekstirler, sağlam bir epinöryum ile çevrelenmiş çok sayıda duyu ve motor sinir lifi demetlerinden veya aksonlardan, arterlerden, venlerden ve bağ dokulardan oluşur (Şekil 2.17a). Spinal sinirler; omurilik ve vücudun diğer kısımları arasında motor, duyu ve otonom sinyalleri taşır. Her bir periferik sinir lifi veya nöron; miyelin kılıfı oluşturan Schwann hücreleri ile çevrili tek bir aksondan, bir hücre gövdesinden (soma) ve diğer sinir hücreleri ile sinaps oluşturan değişen sayıda dendritten meydana gelir (Şekil 2.17b). Duyusal nöronların hücre gövdeleri DRG'de bir arada demet halinde bulunurken, motor nöronların hücre gövdeleri KBB içerisinde ventral omuriliğin gri maddesinde bulunur. Her bir spinal sinirin dorsal (afferent duyu) ve ventral (efferent motor) kökleri omurilikten çıktıklarında birleşirler (Willis 2000, Wickham 2007) (Şekil 2.18a, b).

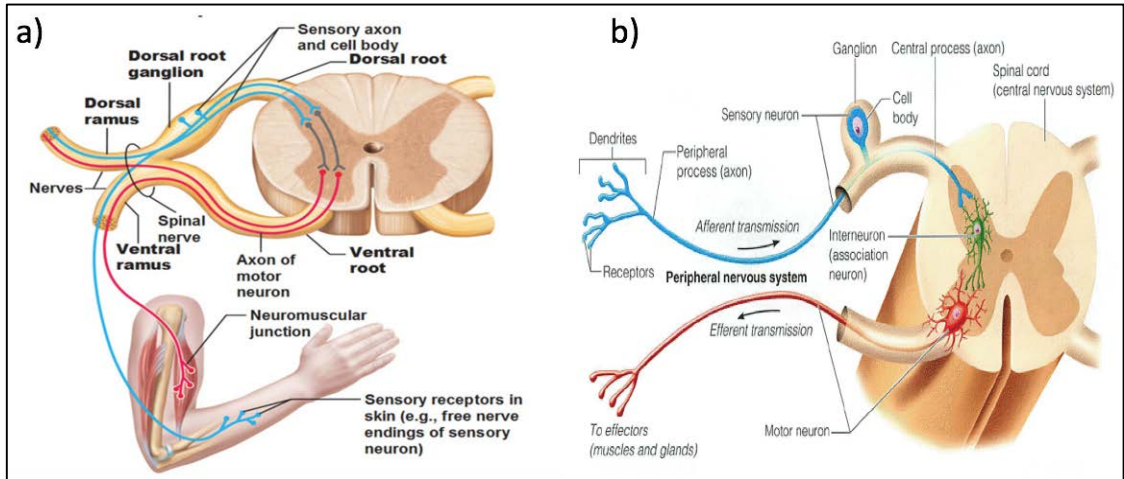
### **2.2.1. Periferik nöropati**

Periferik nöropati PSS'deki hasar sonucunda gelişen nörolojik bir rahatsızlıktır. Nöropati etkilenen sinire bağlı olarak duyu, hareket, salgı bezi veya organ fonksiyonunu bozabilecek veya sağlığı başka açılardan etkileyebilecek sinirlerdeki hastalıkları veya sinir hasarını belirtir. Periferik sinirler beyin ve omuriliği kaslara, cilde, iç organlara ve diğer vücut dokularına bağlayan kompleks bir ağ oluşturur. Bu sinirlerdeki hastalık veya hasar; MSS ve vücudun diğer bölümleri arasındaki iletişimi kesintiye uğratar, kas

hareketini bozabilir, kol ve bacaklarda normal duyuyu önleyebilir ve ağrıya neden olabilir. Nöropati riski, fazla kilolu olan, yüksek kan basıncına sahip olan, 40 yaş üzerindeki ve diabeti olan kişilerde artar (Hughes 2002, Torpy ve ark. 2010, Anonim 2014b, 2017).



Şekil 2.17. a) Omurilik ve spinal sinirlerin yapısı b) Nöronun yapısı (John Wiley ve Sons, Inc)



Şekil 2.18. a) Dorsal ve ventral köklerden spinal sinir oluşumu ile omuriliğin enine kesiti (<http://antranik.org/peripheral-nervous-system-spinal-nerves-and-plexuses>) b) Sinir impulslarının MSS'ye ve MSS'den iletimi (<http://tenzalife.blogspot.com/p/more-information-on-nervous-system.html>)

Periferik nöropati semptomları; periferik sinir liflerinin hasarı, inflamasyonu veya dejenerasyonu olarak tanımlanmıştır. Periferik sinir lifleri fonksiyonlarına göre 3 gruba ayrılmıştır (Willis 2000, Almadrones ve ark. 2002, Armstrong ve ark. 2005, Wickham 2007, Anonim 2014b, 2016b).

**1. Duyusal (afferent) sinir lifleri** duyusal PSS'nin, impulsları vücuttan MSS'ye taşıyan, uzunlukları birkaç millimetre ila bir metrenin üzerinde değişen aksonlarıdır. Duyusal sinir lifleri; deriden eksteroseptif impulsları (örneğin dokunma, ağrı, sıcaklık, pozisyon ve vibrasyon duyusu), kaslardan proprioseptif impulsları ve ayrıca organlardan gelen impulsları omuriliğe taşır ve dorsal boynuzda sinaps yapar. Duyusal nöronların hücre gövdeleri DRG'de bir küme oluşturur (Şekil 2.18a, b). Duyusal bilgiler ciltten, visseral ve kraniyal sinirlerden ortaya çıkar. Visseral sinirler iç organlardan ve kan damarlarından gelen duyusal mesajları taşırken; kraniyal sinirler görme, işitme, koku alma ve vestibüler duyu organlarından gelen duyusal mesajları taşır.

Hasar oluşturma potansiyeline sahip uyaranlara ilişkin duyusal bilgileri ileten, ağrının algılanmasına yol açan nöronlar "nosiseptörler" olarak bilinir. Bu nosiseptif duyusal nöronlar sinir lifi tiplerine göre iki alt gruba ayrılır: (1) ilk nosisepsiyon uyaranını taşıyan (mekanik-duyarlı veya mekanik-termal), hızlı iletken, ince miyelinli A $\delta$ -lifleri ve (2) daha az yoğun nosiseptif duyuyu ileten, yavaş iletken, miyelinsiz C-lifleri (Miller ve ark. 2009). Periferik sinir hasarı bu liflerin duyarlılaşmasına ve spontan aktivitesine yol açar (Pachman ve ark. 2011).

**2. Motor (efferent) sinir lifleri** motor PSS'nin aksonlarıdır ve impulsları MSS'den ventral omuriliğe ve ardından motor sinir sisteminin -somatik veya -otonom (sempatik veya parasempatik) dallarından birine veya her ikisine taşırlar. Motor impulsları MSS'den istemli somatik sinirlere ve istemsiz otonom sinirlere taşıyan motor liflerinin hücre gövdeleri omuriliğin ventral boynuzunun gri maddesinde bulunur (Şekil 2.18a, b). Motor sinir lifleri örneğin yürümek, nesnelere tutmak veya konuşmak için kullanılan kasların istemli hareketini modüle eder, kas tonusu ve koordinasyonundan sorumludur.

**3. Otonom sinir lifleri** kasların istemsiz hareketini modüle eder, intestinal motiliteyi, kan basıncını, kalp atış hızını, sindirim ve mesane, visseral ve vasküler olayları kontrol eder. Otonom sinirler nefes alma, yemeklerin sindirilmesi, kalp ve salgı bezi fonksiyonları gibi otomatik olarak regüle edilen organ aktivitelerini kontrol eder.

Periferik nöropati; periferik duyuşal, motor ve otonom nöronların yapısında ve fonksiyonunda, periferik nöropatik semptom ve bulgulara yol açan bir bozulma olarak tanımlanabilir (Riaz ve Tomlinson 1996) (Çizelge 2.1). Periferik nöropati ile ilişkili terimler Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

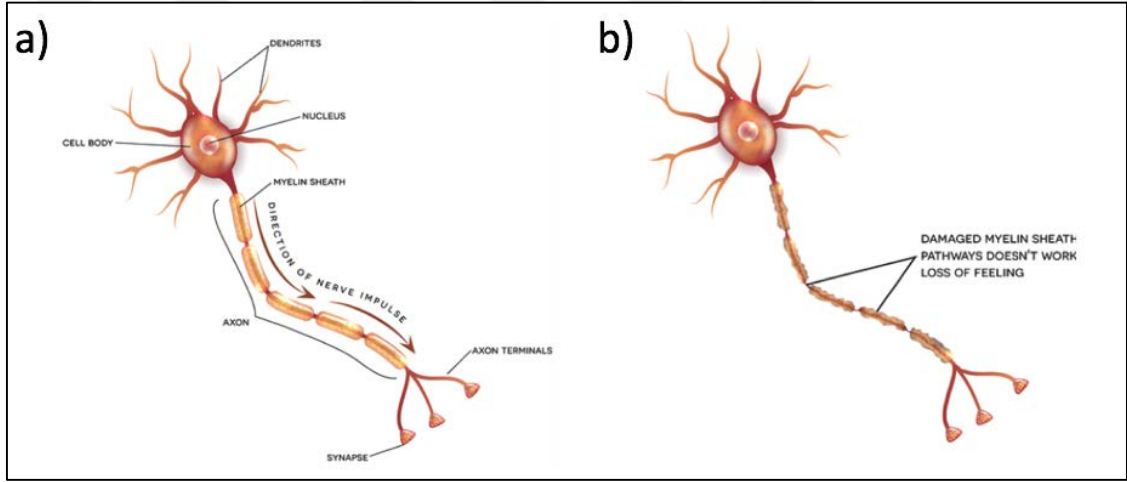
**Çizelge 2.1.** Periferik nöropatinin semptom ve bulguları çoğunlukla hasar görmüş olan periferik nöronlara (otonom, duyuşal veya motor) bağıdır (Almandrones ve ark. 2002, Quasthoff ve Hartung 2002, Armstrong ve ark. 2005, Visovsky ve ark. 2007, Wilkes 2007, Izycki ve ark. 2016)

Otonom sinir hasarı	Duyusal sinir hasarı	Motor sinir hasarı
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Baş dönmesi</li> <li>▪ Bulanık görüş</li> <li>▪ Bayılma</li> <li>▪ Yeme ve yutma problemleri</li> <li>▪ Tat almada değişiklik</li> <li>▪ İşitme kaybı</li> <li>▪ Bağırsak, mesane veya sindirim problemleri</li> <li>▪ Diyare, kabızlık veya inkontinans (idrar kaçıırma)</li> <li>▪ Kalp ritmi problemleri (kalp atışında düzensizlik)</li> <li>▪ Kan basıncında değişiklikler</li> <li>▪ Cinsel fonksiyon bozukluğu</li> <li>▪ Isı intoleransı</li> <li>▪ Terleme fonksiyonu bozukluğu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Dokunma, ağrı ve sıcaklık duyuşu (küçük lif)</li> <li>▪ Pozisyon ve vibrasyon algısı (büyük lif)</li> <li>▪ Dokunma ve sıcaklığın ayırt edilmesinde kayıp</li> <li>▪ Koordinasyon eksikliği ve düşme</li> <li>▪ Ayaklarda ve ellerde, yukarı yönde bacaklara ve kollara doğru yayılabilecek olan kademeli uyuşma ve karıncalanma başlangıcı</li> <li>▪ Keskin, batıcı veya yakıcı ağrı</li> <li>▪ İğnelenme hissi (parestezi)</li> <li>▪ Disestezi, hipoestezi, hiperestezi, arefleksi</li> <li>▪ Proprioepsiyon kaybı</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Kas güçsüzlüğü</li> <li>▪ Kas atrofisi (kas boyutunda ciddi küçülme)</li> <li>▪ Kas kaybı</li> <li>▪ Fasikülasyonlar (deri altında görünen kontrolsüz kas seğirmesi)</li> <li>▪ Ağrılı kramplar</li> <li>▪ Spazmlar</li> <li>▪ Paralizi</li> <li>▪ İnce motor becerilerde zorluk (örn. düğme ilikleme, giyinme, yazma)</li> <li>▪ Yürüyüş ve/veya dengede bozukluk</li> </ul>

**Çizelge 2.2.** Periferik nöropati ile ilişkili terimler (Wickham 2007)

Terim	Tanım
Allodini	Ağrılı olmayan uyarının ağrı oluşturmamasıdır.
Ataksi	Koordinasyon kaybı ve becerisizlik; ekstremiteleri, gövdeyi, konuşmayı ve göz hareketlerini etkileyebilir.
Kozalji	Sıklıkla deride anormal otonom değişiklikler ile ilişkili, sıcak veya soğuk ile yoğunlaşan yakıcı ağrı
Disestezi	Deride spontane olabilen veya ağrısız temassal uyarı tarafından uyarılabilen hoş olmayan anormal duyular; deride ağrılı elektriksel duyular, karıncalanma, iğnelenme veya kesilme hissi verebilir.
Çorap-eldiven sendromu	Eldiven uzun spinal sinirler daha korunmasız olduğundan, belirtiler ayak ve el parmaklarında simetrik olarak başlar.
Hiperestezi	Duyusal uyarılara karşı duyarlılıkta artış beklenenden daha fazladır, ağrısızdır ancak kramplı olabilir, geceleri daha kötüdür.
Hipoestezi	Temassal duyarlılıkta bozulma (azalma), körelme
Hiporefleksi	Derin tendon reflektörlerinde azalma; duyu veya motor nöron iletimindeki azalmadan kaynaklanabilir.
Hipotoni	Kas tonusunda azalma veya eksilme; motor nöropatiden kaynaklanır.
Lhermitte bulgusu	Boynun öne eğilmesi sırasında indüklenen, omurgadan aşağı doğru yayılan ve ekstremitelerde zonklama şeklinde hissedilen elektriksel, şok benzeri his
Nöropatik ağrı	Periferik sinir hasarı veya sinir kökü hasarı veya omurilik düzeyinde hasar ile meydana gelebilir. Hastaların çoğu yanıcı, zonklayıcı, keskin-kesici veya delici olarak tarif edilen ağrılardan yakınır.
Parestezi	Uyarılmış spontane duyular (uyarı ile meydana gelir); sıcaklık veya yanma hissini, karıncalanma, soğukluk, iğne batması hissini, uyuşma hissini içerebilir.
Propriosepsiyon	Vücudun veya vücut bölümünün pozisyonunu, lokasyonunu, oryantasyonunu ve hareketini hissetme yetisi

Periferik nöropatiler, beyin ve omurilik dışındaki sinirlerde (periferik sinirler) meydana gelen hasara göre sınıflandırılır. Tek bir sinirdeki hasarın rol oynadığı nöropati mononöropatidir, vücudun farklı bölgelerindeki iki veya daha fazla sayıda farklı sinirlerde aynı anda meydana gelen hasarın rol oynadığı nöropati multipl mononöropatidir veya pekçok sinir vücudun iki yanında aşağı yukarı aynı bölgelerde etkilendiğinde polinöropati olarak adlandırılır. Normal periferik sinir iki ana fonksiyonel bölüme sahiptir: akson ve Schwann hücreleri tarafından üretilen miyelin kılıf (Şekil 2.19a). Bazı periferik nöropatiler aksonlardaki (aksonopati), bazıları ise miyelin kılıftaki hasarlardan kaynaklanır (miyelinopati) (Şekil 2.19b). Periferik nöropatlilere aksonal hasarın ve demiyelinasyonun kombinasyonu da neden olabilir (Hughes 2002, Anonim 2014b, 2016b).



**Şekil 2.19. a)** Sağlıklı periferik sinir hücresi **b)** Sağlıksız periferik sinir hücresi (<https://robinatownmedicalcentre.com.au/laser-therapy/nerve-pain/>)

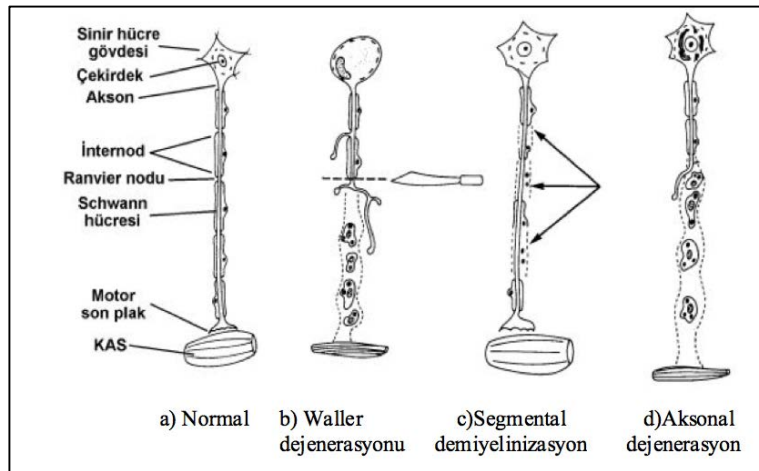
Nöropatik bozuklar, nöronun hücre gövdesini (nöronopatiler) ve periferik süreçleri (periferik nöropatiler) etkileyenler olarak sınıflandırılabilir. Nöronopatiler ayrıca duyuşal nöronopatiler (ganglionopatiler) ve motor nöronopatiler olarak alt gruplara ayrılabilir. Periferik nöropatiler genellikle 'sensorimotor'dur ve genel olarak miyelinopatiler ve aksonopatiler şeklinde alt gruplara ayrılabilir (Ocean ve Vahdat 2004) (Çizelge 2.3).

### Çizelge 2.3. Nöropatilerin patolojik sınıflandırması

- **Nöronopatiler** (saf duyuusal veya saf motor):
  - Duyusal nöronopatiler (ganglionopatiler)
  - Motor nöronopatiler
- **Periferik nöropatiler** (genellikle sensorimotor):
  - Miyelinopatiler
  - Aksonopatiler

Periferik nöropatinin birden çok etiyojisi bulunmakla birlikte, sinirin hasara karşı tepki göstermesinde sınırlı sayıda yolu vardır. Kemoterapi ile ilişkili toksik nöropatilerin en yaygın formlarının, öngörülen üç hücresel tutulum noktası vardır (Poncelet 1998, Kimura 2001, Hughes 2002, Stillman ve Cata 2006, Raffa ve Pergolizzi 2012, Miltenburg ve Boogerd 2014).

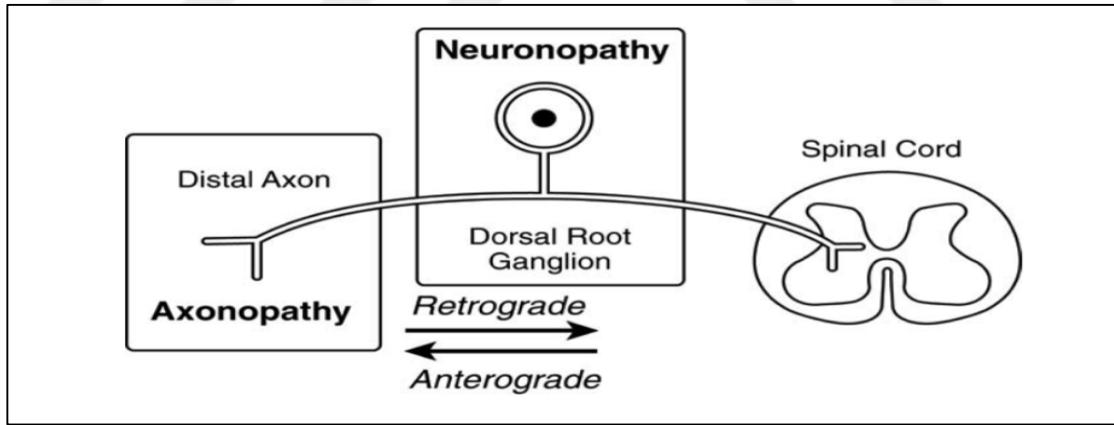
**1. Aksonopatiler (sinir iletiminde bozulma):** Hasar akson düzeyinde meydana gelir. Aksonlardaki bir hasar (örn., travma), genellikle sinirin distal bölümünde aksonun ve miyelin kılıfın dejenerasyonuna yol açar (örn., Wallerian dejenerasyonu) (Şekil 2.20b, d). Çoğu toksik ve metabolik hasarlarda, aksonların en distal (uzak) bölümlerinin dejenerasyonu, miyelin kılıftaki bir yıkım ile birlikte seyrederek (dying-back veya distal-simetrik aksonal veya uzunluğa bağımlı nöropatiler olarak da bilinir). Primer akson hasarı sinirin en savunmasız olduğu bölümde, yani en uzun sinirlerin sonundan başlar ve ardından merkeze yayılır.



**Şekil 2.20.** Periferik sinir hasarının tipleri **a)** Normal sinir hücresi **b)** Wallerian dejenerasyonu **c)** Segmental demiyelinizasyon **d)** Aksonal dejenerasyon (<http://www.itfnoroloji.org/mertas/anatomofizy.htm>)



**2. Nöronopatiler (ganglionopatiler):** Hasar motor nöron veya DRG düzeyinde meydana gelir ve bunu periferik ve merkezi süreçlerin dejenerasyonu takip eder. Hasar hücre gövdesi düzeyinde gerçekleştiğinden, iyileşme genellikle tam değildir. Nöronopatiler genel olarak hücre gövdelerini ve özellikle DRG'yi etkiler. DRG'deki nöronal hücre gövdelerinde meydana gelen hasar, distal aksondaki hasar tarafından indüklenen retrograd veya 'dying back' aksonal dejenerasyonun aksine, anterograd aksonal dejenerasyona yol açan duyuşal nöronopatiye neden olur (Şekil 2.21). Aksonlar impulsları diğer nöronlara veya efektör hücrelere (örneğin kas ve salgı bezlerinin hücrelerine) taşır. Aksonun impuls iletimine ek diğer bir önemli fonksiyonu materyallerin hücre gövdesi ile akson terminalleri arasındaki aksonal transportudur (Oztas 2003). Anterograd transport akson terminali yönündedir; retrograd transportun yönü ise akson terminalinden hücre gövdesine doğrudur. Ayrıca, nöronal hücre gövdelerinin korunması iyileşme için kritik olduğundan, bu ayırım nöroprotektif bileşiklerin tasarlanması açısından oldukça önem taşır. Bu nedenle, aksonal hasar tedaviye daha fazla yanıt verebilirken, nöropatik hasar genellikle önleyici bir yaklaşımı gerekli kılar (Park ve ark. 2008).



**Şekil 2.21.** Nörotoksisite orijini: Nöronopati veya aksonopati  
Kemoterapi distal aksonda aksonopatik hasarı ve bunun sonucunda da aksonda 'dying back' olgusunu indükleyebilir; alternatif olarak, ilk hasar DRG düzeyinde meydana gelerek nöronopati oluşturabilir (Park ve ark. 2008)

**3. Miyelinopatiler (sinir hücresinin segmental demiyelinasyonu):** Hasar Schwann hücreleri veya miyelin kılıf düzeyinde meydana gelebilir ve inflamatuvar veya herediter (kalıtsal) olabilir. Kazanılmış demiyelinizan nöropatilerde, hasar sıklıkla yamalı veya segmental şekilde olabilir (Şekil 2.20c). Aksonlar nispeten korunmuş olduğundan, iyileşme genellikle hızlı (haftalar ila aylar sürer) ve tamdır. Herediter miyelin anormallikleri genellikle yaygındır ve yavaş ilerleyen bir seyre sahiptir.

Miyelin, aksonları izole ederek sinir impulslarının iletim hızını artıran lipit ve protein açısından zengin bir membrandır (Glardini ve ark. 2012). Miyelin kılıf yapısında genetik defektlerden (Auer-Grumbach 2004, Carter ve ark. 2008), metabolik bozukluklardan (Tracy ve Dyck 2008), enfeksiyonlardan, inflamasyon veya toksik ajanlardan (Windebank ve Grisold 2008) kaynaklanan değişiklikler periferik sinir hasarına yol açabilir.

### **2.2.2. Periferik sinir sisteminin savunmasızlığı ve hassasiyeti**

Kemoterapötik ajanlar, hızlı çoğalan hücreleri yok etmek için özel olarak tasarlanmış (Cavaletti ve Marmioli 2004, Windebank ve Grisold 2008) olduğundan bu tür ajanların çoğalmayan veya yalnızca çok düşük çoğalma hızına sahip olan nöronlarda ve glia hücrelerinde hasar oluşturması beklenmeyebilir (Cavaletti ve Marmioli 2006). Bununla birlikte, periferik sinir hücreleri kemoterapi ilaçlarına karşı oldukça korunmasızdır.

İlaçların nörotoksik potansiyelini belirleyen 3 faktör; ilacın sinir sistemine ulaşabilme yetisini, ilacın sinir sistemi üzerindeki etkisini ve önceden var olan periferik sinir fonksiyon bozukluğu ile etkileşimini içerir (Almadrones ve ark. 2002). Çeşitli özgün özelliklerinden dolayı periferik sinir hücreleri kemoterapötik ajanlara karşı oldukça savunmasızdır. Bir ajanın periferik nöropatiye neden olabilmesi için öncelikle KSB'yi geçebilmesi ve sinir sisteminin ajana karşı duyarlı olması gereklidir (Armstrong ve ark. 2005). PSS hücreleri (primer duyuşsal ve otonom nöronlar) KBB dışında bulunan DRG'da yer alırlar ve ajan moleküllerinin dolaşımından DRG'deki hücre dışı sıvı içerisine kolaylıkla geçtiği, serbest geçişi mümkün kılan fenestre (daha geçirgen) kılcaldamar yoluyla kan ile beslenirler (Windebank ve Grisold 2008). KBB dışında bulduklarından ve zararlı ekzojen ajanlara karşı MSS kadar iyi korunmadıklarından periferik nöronlar, MSS toksisitesine neden olmayan kemoterapötik ajanların toksik etkisine karşı savunmasız olabilirler (Raffa ve Pergolizzi 2012).

Kemoterapi ile indüklenen nörotoksisitenin hedefi, ağırlıklı olarak sinir lifleri (akson veya miyelin) veya nöronal gövdeler (genellikle primer duyusal nöronların bulunduğu DRG) üzerine etki edebilen ajanın türüne bağlıdır. Nörotoksisitenin klinik özellikleri: (I) ilgili ajanın türüne ve (II) büyük miyelinli veya küçük miyelinsiz liflerin motor veya sensorimotor periferik sinir hasarından, otonom bozukluğu işaret eden klinik bulguların varlığında veya yokluğunda neredeyse tamamen duyusal nöropatlilere kadar değişen etki alanlarına bağlıdır. Nadiren, kraniyal sinir tutulumu meydana gelir (Cavaletti ve Marmiroli 2004, Park ve ark. 2008, Argyriou ve ark. 2012, 2014). Duyusal sinir fonksiyon bozukluğu, belki de DRG'deki duyusal nöronal hücre gövdelerinin toksik hasara karşı savunmasızlığını yansıtabilecek şekilde, genellikle motor sinir bozukluğuna göre daha yaygındır. DRG'nin belirgin vaskülarizasyonu ve KSB'nin permeabilitesi toksik bileşiklerin duyusal nöronlarda birikmesini de destekleyebilir (Park ve ark. 2008).

Aksonal transport faydalı farmasötiklerin, nükleik asitlerin ve fizyolojik olarak aktif diğer bileşiklerin periferdeki kolay erişilebilen noktalardan KSB ve KBB arkasında kalan önemli hedeflere taşınması için etkili bir yol sağlar (Oztas 2003). Nöronlarda aksonal transport, maddeleri hücre gövdesi (soma) ile akson terminalleri arasında taşır (Oztas 2003) ve mikrotübül altyapısına dayanır. Aksonal transport nöron sağlığının korunması ve doğru şekilde fonksiyon göstermesi açısından çok önemlidir (Windebank ve Grisold 2008) ve aksona hasar veren veya mikrotübül düzenini bozan nörotoksik kemoterapötik ajanlar nöropatiye yol açabilir. Aksonal transport maddeleri nöronlar içinde taşır. Sitoplazmada çözülmüş haldeki maddeler (örn., proteinler), aksondan hücre gövdesine metabolik enerji gerektiren ve kalsiyum iyonlarını içeren *hızlı aksonal transport* ile veya *yavaş aksonal transport* sırasında çözünme ile hareket eder (Riaz ve Tomlinson 1996). Bir uyarıcı duyusal veya motor nöronun dinlenme eşik değerini aştığında, sodyum ve potasyum iyonları nöral hücre membranları boyunca elektrik yüklerinin akışını değiştirmek için hücre membranından geçerken bir sinir impulsu meydana gelir. Sinir membranları depolarize olduğunda voltaj kapılı sodyum-potasyum kanalları geçici olarak açılır ve hücrelerin uyarılabilirliğini düzenler (Wickham 2007). Grolleau ve ark. (2001) nöropatinin, aksiyon potansiyelinin oluşumunda rol oynadığı bilinen voltaj kapılı sodyum kanallarındaki değişiklikler ile ilgili olduğu varsayımında bulunmuştur çünkü 'oksalatin (oksalipatin metaboliti) nöronal voltaj kapılı sodyum kanallarının fonksiyonel özelliklerini değiştirerek kanalların uzun süreli aktivasyonuna

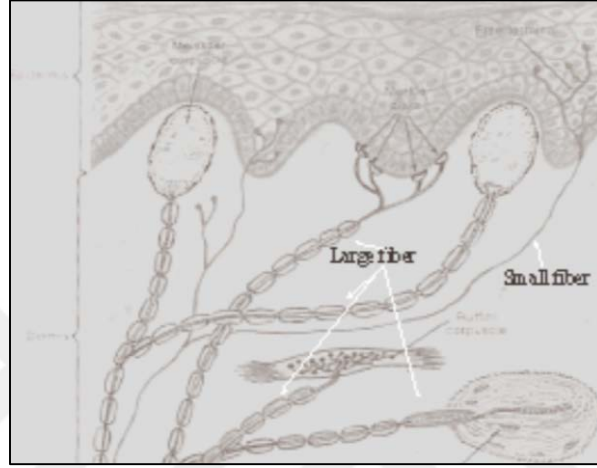
yol açması, aşırı  $Ca^{+2}$  girişi ile duyuşal sinir hücrelerinde hücreşel stresi indükler' (Lersch ve ark. 2002). Salınan okzalal etkisi, voltaj bağımlı sodyum kanallarının geçici ve yapısal olmayan bir işlev bozukluğu ile depolarizasyonlarına müdahale ederek, sodyumun duyuşal nöronlara girişini inhibe eden hücre dışı kalsiyumun şelatlanmasına yol açar (Grolleau ve ark. 2001). Mitotik iğciklerin mikrotübüllerini bozarak etki eden ilaçlar mikrotübüle dayalı aksonal transportu da bozar. Nöronlar DNA hasarına duyarlı olduğundan, kemoterapötik ajan bir nöronda DNA hasarına yol açabiliyorsa, programlı hücre ölümünü de (apoptoz) indükleyebilir (Windebank ve Grisold 2008, Raffa ve Pergolizzi 2012).

İmpuls iletiminin hızı bir nöronun büyük ölçüde miyelinli (en hızlı iletim), hafif miyelinli (daha yavaş iletim) veya miyelinsiz (en yavaş iletim) olup olmamasına bağılıdır (Wickham 2007). Sinirler farklı tiplerde aksonlardan oluşur: Motor nöronlar ve vibrasyon duyusu, propriosepsiyon ve hafif dokunma için duyuşal nöronlar büyük miyelinli aksonlara sahiptir. Otonom nöronlar ve ağrı, sıcaklık ve hafif dokunmadan sorumlu olan duyuşal nöronlar küçük miyelinli aksonlara sahiptir, bazı ağrı ve sıcaklık impulsları ise küçük miyelinsiz aksonlara sahiptir (Poncelet 1998). Periferik sinirler: kraniyal sinirleri, spinal sinir köklerini, dorsal kök ganglionunu, periferik sinir kordonlarını ve bunların terminal dallarını ve periferik otonom sinir sistemini içerir. Anatomik olarak, iki tip periferik sinir lifi mevcuttur (Almandrones ve ark. 2002, Armstrong ve ark. 2005, Wilkes 2007, Wolf ve ark. 2008) (Şekil 2.22):

**1. Büyük sinir lifleri** miyelinlidir ve pozisyon, vibrasyon ve propriosepsiyon duyularını taşırlar, büyük lifler ayrıca motor fonksiyonları da kontrol ederler. Büyük lif sinirleri esasen akson çerçevesi olarak işlev gören nörofilamentlerden oluşur. Platin analogları büyük çaplı aksonlardaki nörofilamentlerin agregasyonuna neden olur, bu durum bu ilaçların neden büyük sinir liflerine, küçük sinir liflerine göre daha fazla hasar verdiğini açıklar.

**2. Küçük sinir lifleri** miyelinli değildir ve ağrı, iğne batması ve sıcaklık hislerini taşıdıkları deri yüzeyi yakınında pek çok ayrı sinir ucuna sahiptir; küçük lifler ayrıca otonom fonksiyonları da kontrol eder. Küçük lif sinirleri esasen proteinler için transport mekanizması olarak işlev gören mikrotübüllerden oluşur. Hafif dokunma hissi hem büyük hem de küçük sinir lifleri tarafından taşınır. Duyuşal lifler deri ve kas düzeyinde sonlanır.

Akson daha sonra kaudal olarak hücre gövdesinin bulunduğu DRG'ye doğru uzanır. Ardından omurilikte dorsal kolona (büyük duyuşal lifler) veya spinotalamik yola (küçük duyuşal lifler) bağlanır. Bu yollar daha sonra beynin duyuşal bölgelerine bir aktarma istasyonu olarak işlev görürler (Poncelet 1998, Almadrones ve ark. 2002, Armstrong ve ark. 2005). Çizelge 2.4'te bu rahatsızlıklar ve semptomlar ile ilişkili nöropati tiplerinin bir özeti sunulmuştur.



**Şekil 2.22.** Küçük ve büyük lifleri içeren PSS (Almandrones ve ark. 2002)

**Çizelge 2.4.** Kanserli hastalarda periferik nöropatinin ayırıcı tanısı (Almadrones ve ark. 2002)

Nedeni	Nörotoksik Etki
Vitamin B <sub>12</sub> eksikliği	Büyük lif hasarı
Kaşeksi	Difüz güçsüzlük
<b>Kemoterapi</b>	<b>Küçük ve/veya büyük lif hasarı</b>
Charcot-Marie-Tooth hastalığı	Büyük lif hasarı
Diyabet	Küçük lif hasarı
Aterosklerotik iskemik hastalık	Alt ekstremitelerde duyuşal nöropati
Paraneoplastik sendrom	Distal duyuşal veya sensorimotor eksikliği
Tiroit fonksiyon bozukluğu	Proksimal ve distal güçsüzlük; karpal tünel sendromu
Alkolizme bağlı nöropati	Uyuşma, pareteziler

Yüzün üzerinde sinir hasarı tipi vardır ve her biri kendine ait bir takım semptomlar ile ilişkilidir. Periferik nöropatiye genetik hastalıklar, metabolik hastalıklar, toksik ajanlar, kemoterapi ve fiziksel travma gibi farklı faktörler neden olabilir (Çizelge 2.5).

**Çizelge 2.5.** Periferik nöropatiye neden olabilen faktörler (Poncelet 1998, Hughes 2002, Hausheer ve ark. 2006, Wickham 2007, Chamberlain 2010, Anonim 2014b, 2015, 2016b)

Genetik hastalık	Amiloid polinöropati, Charcot-Marie-Tooth (CMT) hastalığı
Metabolik hastalık	Diabetes mellitus, böbrek yetmezliği, hipotiroidizm, böbrek ve karaciğer bozuklukları, aterosklerotik iskemi hastalığı, primer (ve ailesel) amiloidoz
Toksik ajanlar	Zehirlere maruz kalmak (toksik maddeler; kronik arsenik intoksikasyonu, kurşun, civa, altın, talyum gibi ağır metalleri veya kimyasalları içerir), alkol kullanmak, çevresel veya endüstriyel toksinler
Fiziksel travma	Yaralanma veya ani travma (kesi veya gerilme, omurilik yaralanmaları), tekrarlayan stres
Kanser tedavileri	Radyasyon tedavisi, cerrahi, kemoterapi, sinirlere baskı yapan tümörler
<b>Kemoterapi</b>	<b>Platin bileşikleri, vinka alkaloidleri, taksanlar, bortezomib, talidomid ve analogları</b>
Enfeksiyonlar	Lyme hastalığı, zona (varisella-zoster), Epstein-Barr virüsü, hepatit C, herpes, cüzzam, difteri, HIV, <i>Mycobacterium leprae</i> , <i>Camphylobacter jejuni</i> dahil belirli viral veya bakteriyel enfeksiyonlar
Vitamin eksiklikleri	Düşük vitamin düzeyleri (B-1, B-6 ve B-12, pantotenik asit, vitamin E niasin)
Otoimmün hastalıklar	Sjogren sendromu, lupus, romatoid artrit, multipl skleroz, myasthenia gravis, Guillain-Barre sendromu, kronik enflamatuvar demiyelinizan polinöropati (CIDP) ve nekrotizan vaskülitler (poliarteritis nodoza; Churg Strauss sendromu)
Kemik iliği hastalıkları	Kanda anormal protein (monoklonal gammopatiler), bir kemik kanseri formu (osteosklerotik miyelom), lenfoma ve amiloidoz
Kanser	Multipl miyelom, vb.

### 2.3. Kemoterapi ile İndüklenen Periferik Nöropati (CIPN)

Kemoterapi ilaçlarının ve kanseri tedavi etmek için kullanılan diğer ilaçların bazıları periferik sinirlerde hasara yol açabilir. Bu durum gerçekleştiğinde *kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati* (CIPN) olarak adlandırılır. CIPN kanser tedavisindeki en yaygın nörolojik komplikasyondur. CIPN oldukça yaygındır ve kemoterapi uygulanan bütün hastaların yaklaşık üçte birini etkilediği tahmin edilmektedir, üçte birinde kalıcı sinir hasarı oluşabilir (Bhagra ve Roa 2007, Cavaletti ve ark. 2008).

Kemoterapinin uygulanması sağkalımın uzaması açısından kritik olduğundan, nörotoksisite riski kanserlerin başarılı bir şekilde tedavi edilmesinin önünde önemli bir sınırlama teşkil eder (Park ve ark. 2008). CIPN son derece ağrılı ve/veya engelleyici olarak kronik rahatsızlığa ve genel yaşam aktivitelerinde önemli kayba neden olabilir ve hastaların yaşam kalitesini düşürebilir (Postma ve Heimans 2000, Fossa ve ark. 2003, Abramowski 2010, Miltenburg ve Boogerd 2014, Schloss ve ark. 2015). Bu durum dozda gecikmelere, azalmalara veya kemoterapinin kesilmesine yol açabilir ve pek çok kemoterapötik ajanın kanser ile ilişkili sonuçlar üzerinde advers etkiye sahip olabilecek doz-sınırlayıcı yan etkilerinden biridir (Bhagra ve Roa 2007, Visovsky ve ark. 2007, Wolf ve ark. 2008, Velasco ve Bruna 2010). Dolayısı ile, kanser hastaları CIPN gelişimi nedeniyle kemoterapide tam veya optimum tedavi planlarını tamamlayamamaktadır. Bu durumda ideal yaklaşımlardan biri kemoterapötik ajanların tümörlere karşı etkinliğinin azaltılması değil, nöropati semptomlarının önlenmesi veya minimize edilmesidir. En yaygın ve en çok rapor edilen kemoterapötik ajanlar platin bazlı ilaçlar, vinka alkaloidler, taksanlar ve yanı sıra bortezomib, lenolidamid, talidomid ve epotilonlardır ancak başka ilaçlar da periferik sinir hasarına neden olabilir (Çizelge 2.6) (Windebank 1999, Quasthoff ve Hartung 2002, Kannarkat ve ark. 2007, Walker ve Ni 2007, Wilkes 2007, Windebank ve Grisold 2008, Kaley ve DeAngelis 2009, Velasco ve Bruna 2010, Argyriou ve ark. 2011, Raffa ve Pergolizzi 2012, Fehrenbacher 2015).

Bu kemoterapötik ajanlar meme, akciğer, kolorektal, mesane, özofagus, baş ve boyun, pankreas, yumurtalık ve mide kanserleri dahil dünyadaki en yaygın kanserler için birinci basamak tedavi olarak kullanılmaktadır (Parkin ve ark. 1999, Pisani ve ark. 1999).

## Çizelge 2.6. CIPN'ye neden olan kemoterapötik ajanlar

- Platin bazlı ajanlar  
**Sisplatin (CDDP)**  
Karboplatin (CBDA)  
Oksaliplatin (OXL)
- Anti-tübülin ajanlar  
Taksanlar, örneğin paklitaksel (Taxol), dosetaksel (Taxotere), kabazitaksel (Jevtana)  
Vinka alkaloidleri (vinblastin, vinkristin, vinorelbin, vindesin)  
Epotilonlar, örn. iksabepilon (Ixempra)  
Dolostatin-10
- Alkilleyici ajanları (prokarbazin, ifosfamid)
- Antimetabolitler (metotreksat (MTX), 5-florourasil (5-FU), kapesitabin, **gemsitabin**, fludarabin, sitarabin)
- İmmünomodülatör ve antianjiyogenik ajanlar, örn. talidomid (Thalomid), lenalidomid (Revlimid), pomalidomid (Pomalyst), bevasizumab
- Proteazom inhibitörleri, örneğin bortezomib (Velcade), karfilzomib (Kyprolis)
- Topoizomeraz inhibitörü (etoposid (VP-16))
- Antiprotozoal ve antihelmintik
- Suramin (büyüme faktörü antagonisti, büyüme faktörlerinin bağlanmasını inhibe eder)
- Farnesil transferaz inhibitörleri (tipifarnib)
- Metaloidler (arsenik)
- Eribulin (Halaven)
- 5-Azasitidin
- Teniposid
- Mitotan
- Hekzametilmelamin
- Misonidazol (radyoduyarlaştırıcı)



Literatürde CIPN insidansı oldukça değişkindir; ancak çalışmalara bağlı olarak standart kemoterapi dozları verilen hastaların %10'u ile %20'sinde ve yüksek dozlar ile tedavi edilen hastaların neredeyse %100'ünde meydana geldiği tahmin edilmektedir (Cata ve ark. 2006, Balayssac ve ark. 2011, Fallon 2013, Park 2014). Tüm kanser hastalarının %30'u ile %40'ının CIPN'den etkilendiğini bildirmiştir (Anonim 2016a).

Bu değişkenliği etkileyen faktörler arasında aşağıdakiler sayılabilir:

- a) kemoterapötik ajanın türü
- b) uygulanan tedavi planı (toplam doz, doz yoğunluğu (Cavaletti ve ark. 1992), kümülatif doz, her siklustaki doz, siklus sayısı, infüzyon süresi) (Hilkens ve van den Bent 1997, Cavaletti ve ark. 2001, Quasthoff ve Hartung 2002, Park ve ark. 2013)
- c) farklı kemoterapötik ajanların kombinasyonları (Chaudhry ve ark. 1994, Winton ve ark. 2005, Pergolizzi ve LeQuang 2012)
- d) tümör türü
- e) hasta özellikleri (örn. hasta yaşı)
- f) birlikte uygulanan diğer tedaviler; örn. cerrahi işlem, radyoterapi (Burton ve ark. 2007, Rose 2012, Zadik ve ark. 2012) veya başka nörotoksik ilaçlar ile yapılan daha önceki tedaviler
- g) CIPN için tanı tekniği veya kriterleri ve değerlendirme
- h) PN gelişimi için önceden mevcut olan risk faktörlerini taşıyan hastalar (örn., tip II diabetes mellitus, hiperglisemi, alkolizm, hipotiroidizm, kalıtsal nöropati, nörolojik paraneoplastik sendrom, vitamin B<sub>12</sub> eksikliği (Quasthoff ve Hartung 2002, Armstrong ve ark. 2005, Hausheer ve ark. 2006, Wilkes 2007, Windebank ve Grisold 2008, Velasco ve Bruna 2010, Seretny ve ark. 2014).

Nöropatinin tipi farklı ilaçlara bağlı olarak değişebilir ve yaygın sorumlu ajanlar ile hangi nöropati tiplerinin ilişkili olduğunu bilinmesi önemlidir (Quasthoff ve Hartung 2002, Wilkes 2007, Park ve ark. 2008, Windebank ve Grisold 2008, Kaley ve DeAngelis 2009) (izelge 2.7).

**Çizelge 2.7.** Nöropati tipine göre CIPN (Hausheer ve ark. 2006, Windebank ve Grisold 2008'den modifiye edilerek alınmıştır)

Duyusal	Sensorimotor	Otonom	Kraniyal sinirler	Akut nöropati
Platin bazlı ilaçlar	Sisplatin	Dosetaksel	Vinkristin	Oksaliplatin
• Sisplatin	Sitarabin	Vinkristin		
• Karboplatin	Hekzametilmelamin			
• Oksaliplatin	Epotilonlar			
Taksanlar	Paklitaksel			
Bortezomib	Dosetaksel			
Talidomid	Vinkristin			
Misonidazol	Vinblastin			
Prokarbazin	Vinorelbin			
Gemsitabin	Vindesin			
Etoposid	Suramin			
İfosfamid	Talidomid			
İnterferon- $\gamma$	Lenalidomid			

Çizelge 2.7'de özetlendiği üzere, bu bileşikler farklı kimyasal yapılara ve etki mekanizmalarına sahip olmalarına karşın, periferik nöropati gelişimi hepsinin yaygın yan etkilerinden biridir.

CIPN'ler hangi nöronların (duyusal, motor veya otonom) etkilendiğine bağlı olarak farklılık gösterir. CIPN'de sıklıkla duyusal semptom ve bulgular belirgindir. Erken dönemde sıklıkla ağrı ile ilişkilendirilen hassasiyet kaybı veya parestezi meydana gelir. Genel olarak, CIPN'de otonomik semptomlar nispeten nadirdir. Her iki sinir tipinde de hücre gövdelerinin KBB dışında bulunmasına karşın otonom semptomların seyrek ve duyusal semptomların yaygın olmasının nedenleri hakkında düşünmek ilginçtir. Bunun nedeni olasılıkla otonomik sistemin bilinçli kontrol veya duyu olmadan işlev göstermesidir. Bu nedenle, nöron kaybı; ortostatik hipotansiyon, şiddetli kabızlık ve erektil disfonksiyon gibi fark edilebilir semptomlara yol açmak için yeterli olmalıdır (Windebank ve Grisold 2008, Brewer ve ark. 2016). Bunun aksine, duyusal semptomlar, özellikle ağrı veya karıncalanmanın pozitif semptomları, az sayıda aksonun veya nöronun fonksiyonundaki anormallik sonucunda ortaya çıkacaktır (Windebank ve Grisold 2008).

Nörotoksik kemoterapötik ajanlar periferik sinirlerde yapısal hasara neden olarak, merkezi veya periferik sinir sisteminde somatoduyusal algı anormalliğine yol açabilir ve bunun sonucunda "pozitif" semptomlar (örn. allodini, kozalji, parestezi, disestezi, hiperaljezi ve örneğin "zonklayıcı" veya "yanıcı" gibi çeşitli rahatsız edici özellikler taşıyan ağrı), "negatif" semptomlar (anestezi, güçsüzlük, uyuşma veya duyuda azalma) veya ikisinin bir kombinasyonu ortaya çıkabilir (Bhagra ve Roa 2007, Wolf ve ark. 2008). CIPN'ler genellikle kullanılan ilacın kümülatif dozuna ve tipine bağlı olarak değişen uzunluğa bağımlı, duyuşsal nöropatilerdir. Nadiren motor semptomlar, otonom fonksiyon bozukluğu ve tesadüfi kraniyal sinir tutulumu meydana gelebilir (Xiao ve ark. 2011, Grisold ve ark. 2012, Miltenburg ve Boogerd 2014). Kullanılan ilaca bağılı olarak, saf duyuşsal ve ağrılı nöropati (platin sınıfı alkilleyici ajanlar ve taksanlar ile) veya sensorimotor nöropati (otonom sinir sistemi tutulumu ile veya olmadan) (vinkristin, taksol, suramin ile) ortaya çıkabilir (Quasthoff ve Hartung 2002, Bhagra ve Rao 2007, Wickham 2007). Kemoterapi hastalarında sık tarif edilen bir nöropati, immünomodülatör ajanların (örn., talidomid, lenalidomid) veya iğ zehirlerinin (örn., vinka alkaloidleri, epotilonlar veya taksanlar) neden olduğu aksonal, sensorimotor nöropatidir (Chamberlain 2010). En yaygın görülen CIPN formlarının klinik özellikleri Çizelge 2.8'de özetlenmiştir.

**Çizelge 2.8.** Kemoterapötik ajanlar ile ilişkili CIPN'nin klinik bulgu ve semptomları (Quasthoff ve Hartung 2002, Hausheer ve ark. 2006, Walker ve Ni 2007, Wickham 2007, Windebank ve Grisold 2008, Velasco ve Bruna 2010, Park ve ark. 2013, Miltenburg ve Boogerd 2014'dan modifiye edilerek alınmıştır)

Ajan (tümör)	Nörotoksisiteye neden olan doz	Klinik semptomlar			Morfolojik değişiklikler	Etki mekanizması
		Duyusal nöropati	Motor nöropati	Otonom nöropati		
<p><b>Sisplatin</b> Akciğer Meme Testis Mesane Yumurtalık Özofagogastrik</p>	<p>&gt;300-400 mg/m<sup>2</sup> kümülatif doz</p>	<p><b>Sık</b> Hastaların %30'u ila %40'ı. Tüm modalitelerde distal baskın, simetrik, üst ve alt ekstremitelerde kaybı (büyük lifte küçük lifte göre daha yüksek). İlacın kesilmesinden sonra birkaç ay süreyle devam edebilir. Ağrı yaygındır. Parestezi, el ve ayaklarda karıncalanma, tendon reflekslerinin kaybı, vibrasyon ve eklem pozisyon hissinde bozulma, ataksi, Lhermitte bulgusu</p>	<p><b>Seyrek</b></p>	<p><b>Seyrek</b> Ortostatik disregülasyon</p>	<p><b>Aksonopati ve nöronopati</b> Büyük miyelinli liflerde hasar, dorsal kök ganglionlarındaki hücre gövdelerinde hasar</p>	<p>Alkilleyici ajan benzeri platin içeren bileşiğin tübülündeki belirli bölgelere bağlanarak mikrotübülün ayrışmasına neden olması. DNA'ya irreversibl bağlanma, nöronal apoptoz</p>

<p><b>Karboplatin</b></p> <p>Akciğer Meme Yumurtalıklar</p>	<p><b>&gt;400mg/m<sup>2</sup> kümülatif doz</b></p>	<p><b>Daha düşük sıklıkta</b> Hastaların %10'u ila %20'si. Sisplatine benzer ancak daha az belirgin. Ağrı sisplatin ile olduğundan daha az yaygındır. Parestezi, el ve ayaklarda karıncalanma, tendon reflekslerinin kaybı, vibrasyon ve eklem pozisyon hissinde bozulma, ataksi, Lhermitte bulgusu</p>	<p><b>Daha düşük sıklıkta</b></p>	<p><b>Seyrek</b></p>	<p><b>Aksonopati ve nöronopati</b> Büyük miyelinli liflerde hasar, dorsal kök ganglionlarındaki hücre gövdelerinde hasar</p>	<p>DNA'ya irreversibl bağlanma, nöronal apoptoz</p>
<p><b>Oksaliplatin</b></p> <p>Kolorektal Gastrik</p>	<p><b>&gt;550 mg/m<sup>2</sup> kümülatif doz (&gt;14 gün kronik) (&lt;14 gün akut)</b></p>	<p><b>Her zaman</b> Akut duyuşsal semptomlar ve kronik duyuşsal nöropati <b>Kronik:</b> Hastaların %80'i. Ağız, boğaz ve üst ekstremitelerde soğuk ile indüklenen disestezi. Sisplatin ile görülen tipik bulgular gibi, neredeyse son derece soğuk ile indüklenen ve/veya kötüleşen parestezi, disestezi ve daha sonra ağrı</p>	<p><b>Daha düşük sıklıkta</b> Akut kramplar ve fasikülasyonlar. Kas krampları, miyotoni, tetanik spazmlar, nadiren kas güçsüzlüğü</p>	<p><b>Seyrek</b></p>	<p><b>Bilinmiyor</b></p>	<p><b>Kronik:</b> Sisplatine benzer, DNA'ya çapraz bağlanan ve DNA sentezini bloke eden platin içeren alkilleyici ajan. DNA'ya irreversibl bağlanma, nöronal apoptoz <b>Akut:</b> Voltaj bağımlı sodyum kanallarının disfonksiyonu</p>

<p><b>Dosetaksel</b> <b>Paklitaksel</b> Akciğer Meme Yumurtalıklar</p>	<p><b>Dosetaksel:</b> &gt;175 <b>mg/m<sup>2</sup> kümülatif</b> <b>doz</b> <b>Paklitaksel:</b> &gt;200 <b>mg/m<sup>2</sup> kümülatif</b> <b>doz</b></p>	<p><b>Sık</b> Distal simetrik parestezi, pallhpaesthesia, eklem pozisyon hissini kaybı, ağrılı disestezi, Lhermitte bulgusu ağrısı.</p>	<p><b>Daha düşük sıklıkta</b> Progresif distal ve/veya proksimal parezi; miyalji, nadir miyopati olguları</p>	<p><b>Seyrek</b> Ortostatik disregülasyon</p>	<p><b>Kombine nöronopati</b> ve aksonopati, şiddetli sinir lifi kaybı, aksonal atrofi ve sekonder demyelinasyon, küçük aksonal rejenerasyon</p>	<p><b>Dosetaksel:</b> Hücrelerde mikrotübül ağının agregasyonuna neden olan yarı sentetik taksan. Mitotik ve interfaz hücresel fonksiyonlar açısından temel öneme sahip. Mikrotübüllerin aracılık ettiği hücresel ve aksonal transportun disfonksiyonu <b>Paklitaksel:</b> Mikrotübül düzenliğini destekler ve stabilize eder. Mikrotübüllerin aracılık ettiği hücresel ve aksonal transportun disfonksiyonu</p>
<p><b>Vinkristin</b> Hematolojik neoplazmlar Yumurtalık Testis Akciğer Kolorektal</p>	<p>&gt;5 mg = hafif şiddette &gt;15 mg = şiddetli kümülatif doz</p>	<p><b>Her zaman</b> Hastaların %30'u ila %40'ı. Alt ekstremitelerde tüm modalitelerde distal duyuşal kayıp. Üst ekstremitelerin etkilenmesine sık rastlanmaz. El ve ayaklarda erken ortaya çıkın uyuşma ve karıncalanma, aşıl tendonu refleksinin kaybı, ağrı.</p>	<p><b>Seyrek</b> Hastaların %5'i ila %10'u. Alt ekstremitelerde ayak düşmesine doğru ilerleyen distal simetrik güçsüzlük. Kas krampları, distal kaslarda şiddetli güçsüzlük</p>	<p><b>Sık</b> paralitik ileus, postürel hipotansiyon, ürogenital fonksiyon bozukluğu</p>	<p><b>Aksonopati</b> demyelinasyonu ile seyreden demyelinasyon, dying back tipi akson kaybı ve DRG hasarı</p>	<p><b>İntraselüler tübülünü</b> bağlar ve mitozu metafaz aşamasında durdurur. Mikrotübüllerin aracılık ettiği hücresel ve aksonal transportun disfonksiyonu.</p>

<b>Suramin</b>	<b>&gt;350 mg maks. plazma düzeyi</b>	<b>Sık</b> Hastaların %30'u. Alt ekstremitelerde tüm modalitelerin distal simetrik kaybı. Hafif hipestezi ve parestezi, el ve ayaklarda karıncalanma, tendon reflekslerinin kaybı, vibrasyon ve eklem pozisyon hissinde bozulma	<b>Daha düşük sıklıkta</b> Hastaların %10'u ila %20'si. Alt ekstremitelerde hafif şiddette distal güçsüzlük. Nadiren, şiddetli, subakut, distal ve proksimal güçsüzlük. Guillain-Barre sendromu benzeri bir tablo ile şiddetli parezi	<b>Seyrek</b>	Aksonopati ile seyreden demiyelinasyon, sural sinir biyopsilerinde segmental demiyelinasyon	Büyüme faktörlerinin bağlanmasını inhibe eder.
<b>Talidomid</b> Hematolojik neoplazmlar	<b>&gt;20 g dozlarda</b>	<b>Sık</b> Hastaların %20'si ila %40'ı. Alt ekstremitelerde tüm modalitelerin hafif ila orta şiddette distal simetrik kaybı.	<b>Seyrek</b> Hafif şiddette distal güçsüzlük ve kramplar	<b>Seyrek</b>	Sensorimotor ağırlı nöropati	<b>Bilinmiyor</b>
<b>Bortezomib</b> Multipl miyelom Mantle hücreli lenfoma	<b>&gt;16 mg/m<sup>2</sup></b>	<b>Sık</b> Hastaların %30'u ila %40'ı. Alt ekstremitelerde tüm modalitelerin hafif ila orta şiddette distal simetrik kaybı. Ağrılı küçük lif duyuşsal nöropatisi.	<b>Seyrek</b> Hastaların %5'i ila %10'u. Alt ekstremitelerde hafif şiddette distal güçsüzlük. Nadir, şiddetli distal güçsüzlük.	<b>Seyrek</b>	Sensorimotor aksonal nöropati, nadiren demiyelinizan.	<b>Bilinmiyor</b>

### 2.3.1. CIPN patolojisi ve patogenezi

Kemoterapötik ilaçların kullanımı kanser hastalarında prognozu belirgin derecede iyileştirmiştir. Ancak, çeşitli kemoterapötik ajanların yan etkileri, bu ajanların uygulanması ile ortaya çıkan ve klinik açıdan önem taşıyan bir sorundur. Etki mekanizmaları dikkate alındığında, kemoterapötik ajanların çoğu yalnızca hızlı çoğalan kanser hücreleri üzerinde değil, normal hücreler üzerinde de toksiktir; ancak, etkili ajanların önemli bir kısmı aynı zamanda nörotoksik de olabilir. Bu tür durumlarda, MSS etkili bir KBB tarafından korunduğundan, DRG ve periferik sinirler en yaygın hasar gören noktalardır. Çeşitli kemoterapötik ajanların periferik nörotoksisiteyi indüklediği yönündeki klinik ve deneysel gözlemlere karşın, özellikle normal yetişkin nöronlarda bunları antimitotik ilaçlara karşı koruyacak olan hücre replikasyonunun olmadığı göz önüne alındığında, bu yan etkinin ayrıntılı mekanizmalarının anlaşılması zordur (Cavaletti ve ark 2008). Kemoterapinin toksik etkileri, aksonlar, miyelin kılıflar, nöronal hücre gövdeleri ve destekleyici glial yapılar dahil olmak üzere PSS'deki çeşitli yapıları ve fonksiyonları hedef alır (Poncelet 1998, Stillman ve Cata 2006, Bhagro ve Roa 2007). CIPN'nin patogenetik mekanizmaları; dying-back akson hasarı yoluyla aksonopati ve DRG'nun hücre gövdelerinin dahil olduğu nöronopatidir. Toksik nöropatilerin çoğu aksonları etkileyerek bir aksonopatiye yol açar ve 'dying-back' paterni sergileyen, distal, simetrik, duyuşal ağırlıklı nöropatiye neden olurlar. Primer akson hasarı sinirin en savunmasız olduğu bölümde, yani en uzun sinirlerin distal ucunda başlar ve ardından merkezi olarak yayılır (dying-back nöropati) (Stillman ve Cata 2006, Podratz ve ark. 2011, Miltenburg ve Boogerd 2014). Distal dallar en çok; simetrik, uzunluğa-bağımlı "çorap ve eldiven" dağılımlı duyu kaybına yol açan, aksonal transport akışında meydana gelen bozulmadan etkilenir (Stillman ve Cata 2006). En yaygın olarak büyük duyuşal sinir lifleri etkilenirken, daha küçük duyuşal liflerde hasar seçili kemoterapiler ile nadiren meydana gelir (Park ve ark. 2013). İlk etkilenenler en uzun aksonlardır, dolayısı ile duyuşal değişiklikler genellikle ayak parmak uçlarından parmaklara doğru ilerler, proksimal olarak eklemere ve ardından alt bacaklara ilerler (çorap dağılımı). Üst ekstremitelerde CIPN tipik olarak daha sonra oluşur ve parmak uçlarından parmaklara, ardından ellere ve devamına ilerler (eldiven dağılımı). Ancak, bazı hastalar CIPN'yi önce ellerinde fark ederler (Wilkes 2007, Wickham 2007, Fehrenbacher 2015). CIPN ağrı, parestezi ve disestezi ile bir "çorap-eldiven" dağılımı paterni gösterir (Wolf ve ark. 2008).



Kemoterapötik ajanlar toksisiteye sinir sistemi üzerine etki ederek doğrudan veya metabolik anormalliklere veya serebrovasküler bozukluklara yol açarak dolaylı olarak neden olurlar ve toksinler proksimal olarak akson boyunca hücre gövdesine doğru taşınır (Wickham 2007, Lee 2010).

Kanser kemoterapisi ajanlarının neden olduğu kronik artışlı hasar en sık olarak DRG'deki duyuşal sinir hücre gövdelerini (örn. sisplatin) ve/veya omuriliğın dışında bulunan afferent ve efferent aksonları (örn. paklitaksel, oksaliplatin) etkiler (Quasthoff ve Hartung 2002). CIPN ağırlıklı olarak duyuşal semptomlardan oluşur, bununla birlikte nadiren motor veya otonom sinir tutulumu gerçekleşir (Grisold ve ark. 2012). Kemoterapiye bağılı olarak motor ve otonom nöropatik semptomlar da gelişebilir (Park ve ark. 2013). Hausheer ve ark. (2006), motor nöronların korunaklı olmasının nedeninin bu nöronların daha yoğun şekilde miyelinlenmiş olması ve ayrıca, üst ve alt motor nöron hücre gövdelerinin omurilikte korunduğı gerçeğı olduğu varsayımında bulunmuştur. Sorumlu ajanın uzaklaştırılması durumunda aksonlar rejenere olabilir, ancak hücre gövdelerindeki hasar genellikle geri dönüşlü değildir (Poncelet 1998).

CIPN en yaygın şekliyle tipik olarak uyuşma, propriosepsiyon kaybı, vibrasyon ve iğne batması algısında azalma, karıncalanma, yanıcı ve zonklayıcı ağrılar, soğuşa veya dokunmaya aşırı hassasiyet, hiperaljezi ve allodiniyi içeren simetrik semptomlara sahip saf duyuşal nöropati olarak ortaya çıkar ve çorap-eldiven dağılımı ile uzunluğa bağımlı bir nöropati olarak gözlemlenir (Lee 2010, Fehrenbacher 2015, Zhang ve ark. 2016). Uyuşma, vibrasyon duyusunun ve derin tendon eklemi reflekslerinin kaybı kemoterapi tedavisi alan hastalarda nöropatinin ilk bulgularındandır ve bunları parestezi gelişimi ve pozisyon hissinin kaybı takip eder (Fehrenbacher 2015).

Periferik nöropatiler çeşitli formlarda başlayabilir ve farklı paternler izleyebilir. Semptomlar, günler, haftalar veya yıllar boyunca yaşanabilir. Periferik nöropatiler akut veya kronik olabilir. Kalıcı veya geri dönüşümlü olabilir. Ancak tersine çevrilebileceğı durumlarda bile iyileşme ancak kısmi olabilmektedir (Hughes 2002, Raffa ve Pergolizzi 2012). Guillain-Barré sendromu gibi (bu sendromda vücudun bağışıklık sistemi PSS'nin bazı bölümlerine saldırır ve sinir sinyallerinin yollanmasını ve alınmasını engeller) akut nöropatilerde, semptomlar aniden belirir, hızla ilerler ve sinirlerdeki hasar düzeldikçe yavaş yavaş iyileşir. Kronik formlarda semptomlar farkedilmeksizin başlar ve yavaş

ilerler. Bazı kişilerin semptomların ardından rahatlama dönemleri olabilir. Bazılarında ise semptomların aylar veya yıllar boyunca aynı kaldığı bir plato aşamasına ulaşabilir. Çoğu kronik nöropati zamanla kötüleşir. Nöropatinin ağrılı ve potansiyel olarak elden ayakta/güçten düşürücü olmasına karşın çok az sayıda formu ölümcüldür (Anonim 2014b, 2016).

PSS hasara yanıt olarak çok yüksek yenilenme kapasitesine sahiptir. Yenilenmenin gerçekleşebilmesi için hücre gövdesinin korunması ve ilaç uygulamasının ardından, PSS'nin onarımı gerçekleştirmesi adına yeterli süreye sahip olabilmesi için hasarsız uzun bir süre geçmesine izin verilmesi gereklidir. Kullanılan doza ve kemoterapötik ajanlara bağlı olarak, bazı olgularda semptomlar tamamen iyileşir. Ne yazık ki, PSS'nin hasarın ardından yenilenme kapasitesinin çok yüksek olmasına karşın, çoğu durumda CIPN ilaç dozunun azaltılması veya ilacın kesilmesi halinde yalnızca kısmen geri dönüşlüdür ve en kötü olgularda, hasar tamamen geri dönüşsüzdür (örn. sisplatin). Dolayısıyla, tümör kemoterapötik ajanlar ile başarıyla tedavi edildiğinde bile CIPN yaşam kalitesi üzerinde önemli ve kalıcı bir sınırlama oluşturur (Cavaletti ve ark. 2001, Quasthoff ve Hartung 2002, Wilkes 2007, Wolf ve ark. 2008).

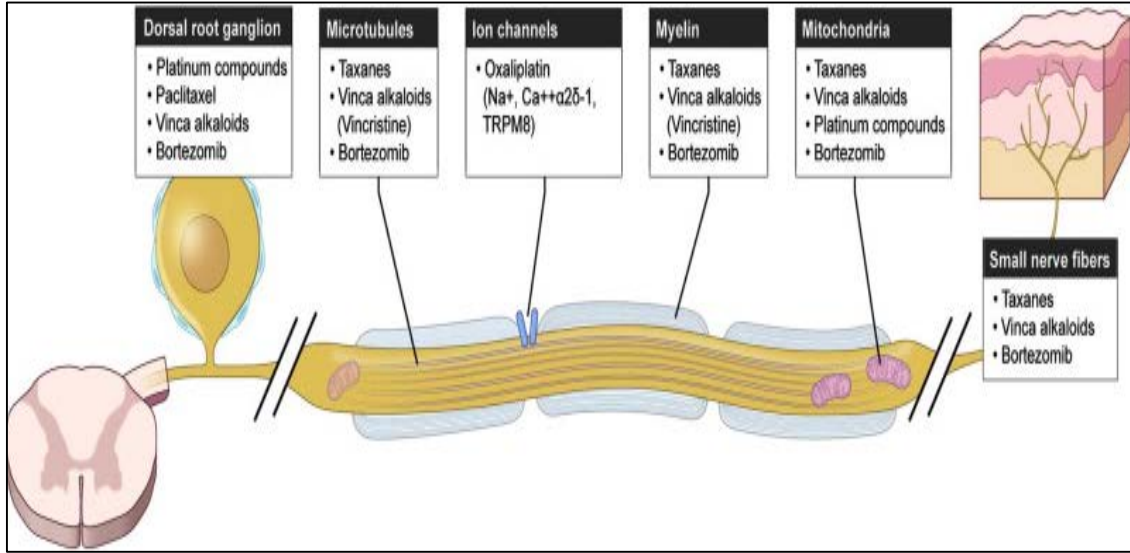
Nöropatinin şiddeti tedavi süresiyle birlikte artar ve ilaç tedavisi tamamlandığında ilerleme durur. CIPN'nin olağan seyri kemoterapi sırasında başlayan ve kemoterapinin tamamlanmasının ardından iyileşme eğilimi gösteren semptomlardır (Kannarkat ve ark. 2007). Çoğu CIPN sorumlu ilacın durdurulmasının ardından, "coasting" olarak adlandırılan şekilde, iyileşir (yani, bortezomib, talidomid, vinka alkaloidleri, oksaliptin, taksanlar), ancak, sisplatin alan hastalarda CIPN'nin ilacın kesilmesinden sonra da ilerleyebildiği bildirilmiştir (Windebank 1999). Platin bileşikleriyle tedavinin kesilmesinden sonraki birkaç ay boyunca duyu kaybının ilerleyebildiği belirlenmiştir (Windebank ve Grisold 2008).

Çeşitli kemoterapötik ilaçların antikanser etki şekilleri büyük ölçüde anlaşılmıştır, ancak hasarın yalnızca duyu nöronlarda meydana gelmesine yol açan seçiciliğine ve CIPN'nin klinik şiddetine katkıda bulunan nörotoksik mekanizmalar henüz anlaşılır değildir (Zhang ve ark. 2016). Bununla birlikte, sitotoksiteden sorumlu mekanizmalar sıklıkla nörotoksitede gelişimi ile bağlantılıdır ve bu durum nörotoksitenin, tedavi

etkinliğinde istenmeyen bir düşüşe neden olmadan azaltılmasını zorlaştırır (Park ve ark. 2008).

Kemoterapötik ajanların hızlı bölünen hücrelere saldırmak için kullandığı mekanizmaların bazıları sinir sistemini de etkileyebilir. Kemoterapötik ilaçların ortak özelliklerinden biri KBB'yi geçemiyor oluşlarıdır ve böylece MSS korunur. PSS bir koruyucu bariyere sahip değildir ve bu durum onu nörotoksisiteye karşı duyarlı kılar, dolayısı ile, nörotoksik kemoterapi ajanları nöronun farklı bölümlerinde birikebilir ve nöronun farklı bölümleri hedef alabilir. Farklı kemoterapi ajanları, *DRG nöronal hücre gövdeleri, aksonal transport yolları, mitokondri çalışması, Ca<sup>+2</sup> düzenleyici sistemler* ve aksonal *membran iyon kanalları* dahil PSS'nin farklı bileşenlerini hedef alır (Park ve ark. 2008, 2013, Schloss ve ark. 2013) (Şekil 2.23).

Farklı kemoterapötik ajanlar DRG'deki duyuşal hücre gövdeleri düzeyinden distal aksona kadar sinir sisteminin farklı bileşenlerini etkiler. DRG, KSB tarafından daha az korunduğı ve nörotoksik hasara karşı daha savunmasız olduğı için öne çıkan bir hedefdir, bu durum CIPN'li hastalarda duyuşal tutulumun ağır basmasını açıklayabilir (Allen ve Kiernan 1994).



**Şekil 2.23.** Periferik sinir sisteminde kemoterapi ile indüklenen nörotoksisite için öngörülen hedefler (Wang ve Lehky 2012)

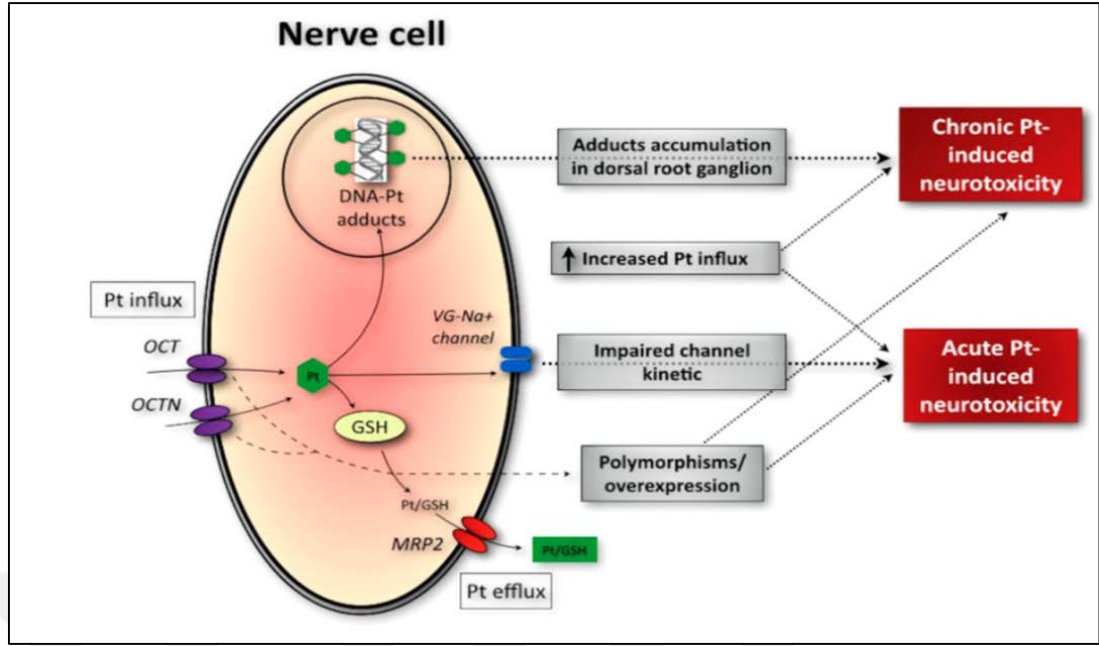
Kemoterapötik ilaçların çoğu KBB'yi düşük oranda geçer ancak KSB'yi kolaylıkla geçer ve DRG ve periferik sinirlere bağlanırlar (Jacobs 1978, Cavaletti ve ark. 2000). KSB; KBB'den daha az etkilidir ve DRG ve sinir terminallerinde özellikle yetersizdir, bu durum potansiyel nörotoksinlerin perifere erişimini kolaylaştırır (Wang ve Lehky 2012). Genel olarak, nörotoksik kemoterapötik ajanlar periferik sinirlere, mikrotübüllere zarar vererek ve mikrotübül esaslı aksonal transportu engelleyerek, mitokondrilerin işlevini kesintiye uğratarak veya doğrudan DNA'yı hedef alıp daha sonra periferik sinir dejenerasyonuna veya küçük lif nöropatisine yol açarak hücresele düzeyde hasar verirler (Windebank ve Grisold 2008). Periferik sinir dejenerasyonu veya küçük lif nöropatisinin genellikle CIPN gelişiminin altında yatan mekanizma olduğu kabul edilir (Wang ve Lehky 2012).

Hücresele düzeyde, kemoterapinin kanser hücreleri üzerindeki etkisine benzer şekilde, nöronların DNA replikasyonunu ve metabolik fonksiyonunu kesintiye uğratarak apoptoza ve onarılamaz mitokondri hasarına yol açtığı bildirilmiştir (Dunlap ve Paice 2006). Bu kemoterapötik ajanların CIPN'ye neden olduğu mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir, ancak mekanizmaların her ajan için farklı ve spesifik olması olasıdır ve bu nedenle, tedavilerin ajana özgü olması gerekebilir. Bu önemli sorunun araştırılmasında kullanılabilecek yollardan biri, kemoterapötik ilaçların toksisitesini azaltmak amacıyla kullanılan bileşiklerin etkisinin klinik öncesi ve klinik ortamlarda değerlendirilmesidir (Cavaletti ve ark 2008). CIPN'nin önlenmesi ve tedavi edilmesi amaçlı stratejilerin geliştirilmesi için çok fazla araştırma yapılmıştır. Fakat şu anda CIPN'nin meydana gelmesini önlemek için herhangi bir farmakolojik veya başka yol mevcut değildir. Bu nedenle, dozun azaltılması ve sonuç olarak, sorumlu ajanın kesilmesi CIPN gelişimini yavaşlatmak için tek seçenektir ve bu durumun potansiyel olarak optimum tedaviyi etkilemesi mümkündür (Zhang ve ark. 2016). Bu sebeple, daha az yan etkiye ve CIPN bulgusuna sahip alternatif kemoterapötik ajanların ve/veya tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine acilen ihtiyaç duyulmaktadır.

### 2.3.2. Platin ilaçların önerilen nörotoksisite mekanizması

Hem *in vitro* hem de *in vivo* deneysel çalışmalarda ve klinik denemelerde çeşitli nöroprotektif yaklaşımlar araştırılmış olmasına karşın, etiyojisi (nedeni) tam olarak aydınlatılmadığından kemoterapi ile indüklenen nörotoksisite için önleyici veya etkili bir tedavi yoktur. Bu nedenle, CIPN'nin ağrı semptomlarının altında yatan mekanizmaların tanımlanması, koruyucu ve tedavi edici stratejilerinin geliştirilmesi kanserden sağ kalanların yaşam kalitesinin artırılması açısından büyük önem taşımaktadır (Wang ve Lehky 2012). Farklı bilim insanları tarafından CIPN gelişiminde yer alan çeşitli mekanizmalar araştırılmıştır. Kemoterapi ilaçlarının sitotoksisiteden sorumlu etki mekanizmaları genellikle nörotoksisitesinin gelişimi ile de bağlantılıdır, bu durum kemoterapi ilaçlarının antikanser etkilerini azaltmadan toksisitesinin düşürülmesindeki zorluğu belirtmektedir.

Kapsamlı DNA onarımı kemoterapi direncinin başlıca mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir, ancak DNA onarımının nörotoksisite gelişimini önlemesi olasıdır (Avan ve ark. 2015). DNA-Pt adduct birikimi ve DNA onarım yollarının inhibisyonu [*örn. hücre dışı sinyal ile düzenlenen kinaz 1/2 (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinaz (JNK)/stresle-aktive edilen protein kinaz (SAPK) ve p38 dahil mitojenle aktive edilen protein kinaz yolları (MAPK)*] sisplatin tedavisi sırasında görülen periferik sinir ve DRG sinir hasarının başlıca nedenleridir (Cavaletti ve ark. 2007, Avan ve ark. 2015). Platin ilaç tedavisi ile, nöronal apoptozu düzenleyen ERK1/2 ve p38 aktivasyonu ile nöronal dejenerasyonu koruyan JNK/SAPK down regülasyonu arasında bir denge bulunduğu sıçanlarda kanıtlanmıştır (Scuteri ve ark. 2009, 2010, Avan ve ark. 2015). Pt-adducts periferik nöronlardaki ana hedef olan DRG'de birikebilir ve kronik nörotoksisiteye yol açabilir. Bu hücreler post-mitotik olduğundan ve bölünmediğinden, Pt-DNA adduct oluşumu nöronlar için öldürücü değildir. Belirli bir spesifik kümülatif dozda DRG nöronlarındaki Pt-DNA adduct miktarı nörotoksisite derecesi ile güçlü korelasyona sahiptir (Dzagnidze ve ark. 2007). Organik katyon taşıyıcıları (OCT) ve organik katyon/karnitin taşıyıcıları (OCTN) ile Pt içe alım artışının yanı sıra, Pt metabolizmasında (*örn, OCT, OCTN ve GSH'de*) rol oynayan bazı genlerin polimorfizmleri ve/veya aşırı ekspresyonu ve bozulmuş voltaj kapılı sodyum kanalı kinetiği, sinir hücrelerinde Pt ile indüklenen nörotoksisiteye katkıda bulunabilir (Avan ve ark. 2015) (Şekil 2.24).



**Şekil 2.24.** Sinir hücrelerinde akut ve kronik platin nörotoksitesisi mekanizması (Avan ve ark. 2015)

DRG nöronlarında, tümör hücrelerine (örn. hızlı bölünen PC12 hücre hattı) göre daha yüksek miktarda Pt-DNA bağlanması ve platin birikmesi olduğu bilinmektedir, bu durum platin içe alımında artış, platin çıkışında da azalma, platin detoksifikasyonunda azalma ve DNA-adduct onarımında düşüş ile ilişkili olabilmektedir (McDonald ve ark. 2005, Raffa ve Pergolizzi 2012). Hiçbir mekanizma platin ilaçlarının nörotoksitesini kolaylıkla açıklayamamaktadır, çünkü DRG'de bulunan duysal nöronlar postmitotiktir ve bu nedenle, DNA replikasyonu gerçekleştirmezler veya hücre siklusundan geçmezler (McKeage ve ark. 2001).

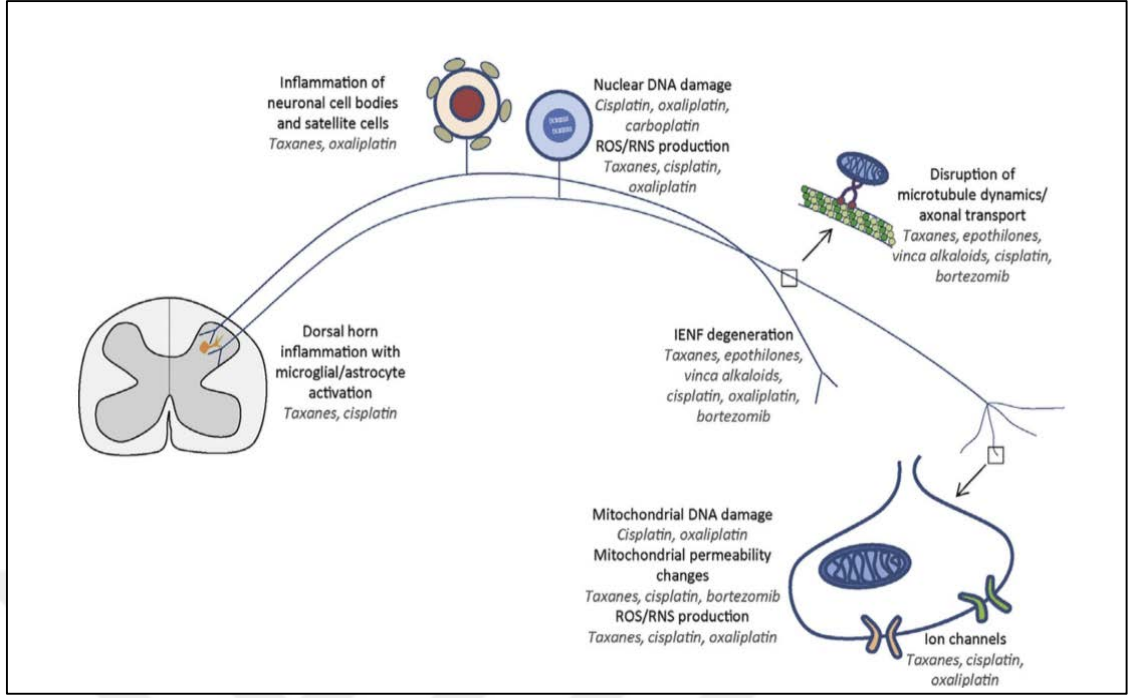
Deneysel kanıtlar platin ile indüklenen PN'nin fizyopatolojisini açıklamak amacıyla ileri sürülmüş olan 2 farklı varsayımsal mekanizmayı işaret etmektedir ve ikisinin temelinde de DRG nöron apoptozu yer almaktadır (Gill ve Windebank 1998, Argyriou ve ark. 2012).

- i) İlk olarak, nDNA'nın tersiyer yapısını değiştiren Pt-DNA inter-strand ve intra-strand çapraz bağlarının oluşması (McDonald ve ark. 2005, Ta ve ark. 2006). DNA üzerindeki bu etki, hücre siklusu kinetiğindeki değişimleri düzenleyerek siklin D1 ekspresyonunun upregülasyonuna ve retinoblastoma gen ürününün hiperfosforilasyonuna yol açar ve farklılaşmış postmitotik DRG nöronların yeniden

hücre siklusuna girmesi çabası sonucunda apoptozu indükler (Gill ve Windebank 1998, Scuteri ve ark. 2009). *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, DRG nöronlarında sisplatin ile indüklenen apoptozun, hücre siklusu proteinlerinin ekspresyonundaki değişiklikler ile ilgili olduğunu göstermiştir (Gill ve Windebank 1998, Fisher ve ark. 2001, McDonald ve ark. 2005).

- ii) İkinci olarak, mtDNA ile etkileşim nöronal apoptozun tetikleyicisi olarak mitokondri disfonksiyonuna ve buna karşılık oksidatif stres oluşumuna yol açmaktadır (Canta ve ark. 2015). Periferik nöropati (PN); DNA baz eksizyonunda, oksidatif hasarın onarımında ve redoks regülasyonunda bulunan enzimlerin aktivitesindeki azalma ile düzenlenebilir (Jiang ve ark. 2008). Kemoterapötik ilaçların çoğunun neden olduğu oksidatif stres, genel olarak, mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolağının aktivasyonu yoluyla nöronal apoptozunun aktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Areti ve ark. 2014). PN aynı zamanda; mitokondriden sitokrom-c salınımı ve p53 aktivasyonunda artış, Fas reseptörü aktivasyonunun bağımsızlığı (Windebank 1999, Fischer ve ark. 2001, McDonald ve Windebank 2002) ve DRG nöronlarda JNK/SAPK down regülasyonu ile (Scuteri ve ark. 2010) p38 ve ERK1/2 aktivasyonu (Scuteri ve ark. 2009, Grisold ve ark. 2012) tarafından oluşan apoptoz ile ilişkilendirilmiştir.

CIPN gelişiminin altında yatan spesifik mekanizmalar henüz tanımlanmamış olsa da, kemoterapötiklerin herbirinin nöron fonksiyonunu değiştirme mekanizmasına ilişkin birden fazla teori mevcuttur. Örn. *mitokondri hasarı, sodyum ( $Na^{+2}$ ), kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ), potasyum ( $K^{+}$ ) kanallarında fonksiyon bozukluğu,  $Ca^{+2}$  sinyal değişiklikleri, oksidatif stres oluşumu, nükleer DNA hasarı, iyon kanalı modülasyonu, aksonal transportun bozulması, miyelin kılıf hasarı, apoptozun indüklenmesi, inflamasyon, nöropatik faktörler ve mikrotübül değişiklikleri, periferik vaskülarizasyon modifikasyonları, geçici potansiyel reseptörlerin ekspresyonunda ve aynı zamanda glutamat sinyali ile ilişkili moleküllerde değişiklikler, ROS üretimi gibi (Park ve ark. 2008, Raffa ve Pergolizzi 2012, Areti ve ark. 2014, Canta ve ark. 2015, Fehrenbacher 2015) (Şekil 2.25).*

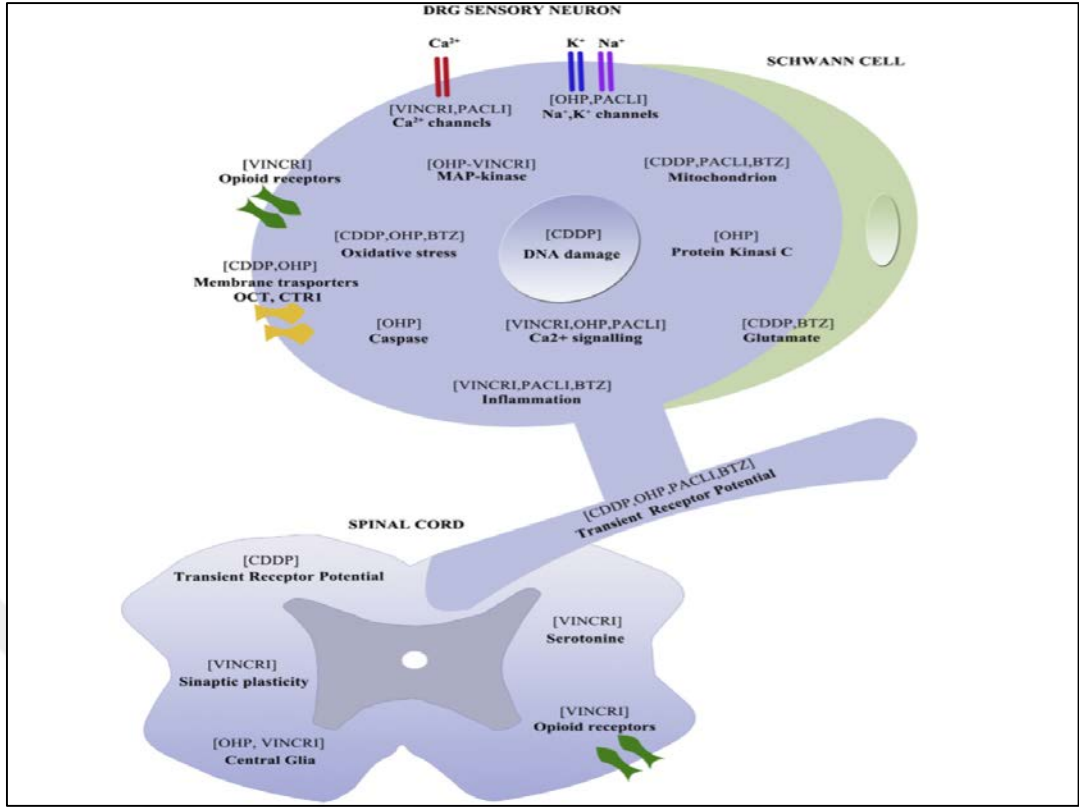


**Şekil 2.25.** PSS'de tahmini kemoterapötik toksisite bölgeleri (Fehrenbacher 2015)

Carozzi ve ark. (2015) tarafından her bir kemoterapötik ilaç için PSS üzerinde toksik etkilerini gösterdikleri en önemli mekanizmaları bildirilmiştir (Şekil 2.26). Sisplatin ile indüklenen periferik nöropatide rol oynayan olası mekanizmalardan bazıları aşağıdaki gibidir:

- i) Nükleer DNA ve onarım sistemi (nDNA)
- ii) Mitokondri ve mitokondriyal DNA (mDNA)
- iii) Oksidatif stres
- iv) Geçici potansiyel reseptörler
- v) Reseptörler, nöropeptitler ve glutamat
- vi) İlaç membran taşıyıcıları (OCT, CTR1)





**Şekil 2.26.** PSS üzerinde kemoterapötik ilaçlar (sisplatin) ile indüklenen nörotoksisite mekanizmaları

(OCT=organik katyon taşıyıcıları, CTR=bakır taşıyıcıları, TRPV=geçici potansiyel reseptör Vanilloid, TRPA=geçici potansiyel reseptör Ankyrin, NER=nükleotit eksizyon tamiri, CDDP= sisplatin, OHP= oksaliplatin, VINCRI= vinkristin, PACLI= paklitaksel, BTZ= bortezomib) (Carozzi ve ark. 2015).

Her ne kadar platin ilaçlar çeşitli kimyasal özellikleri açısından farklılık gösterse de, platin ile indüklenen periferik nöropatide ilgili primer mekanizmaları muhtemelen benzerdir (Cavaletti ve ark. 1998, 2001). Sisplatin, karboplatin ve oksaliplatin dahil platin ilaçları çözünürlükleri, kimyasal reaktiviteleri, diklorür veya alisiklik oksijenlenmiş ayrılan grupları, farmakokinetikleri ve toksikolojileri açısından farklılık gösterirler (McKeage 1995). Her bir molekül üzerindeki ayrılan gruplar, her bir platin ilacın nükleofiller ile reaktivitesinde farklılıklara yol açar ve bu durumun toksisitedeki farklılıklarda rol oynaması olasıdır (Hah ve ark. 2006). Platin ilaçlar hidroliz uğrar, bu durum ilacın hedef DNA ile bir kompleks oluşturmasında önemli bir adımdır. Bu hidroliz sonucunda, daha sonra DNA'ya çapraz bağlanarak Pt-DNA adducts meydana getiren pozitif yüklü bir molekül oluşur (Zhu ve ark. 2005).

Platin ilaçlar, MSS'yi koruyan KBB'yi geçme şansları neredeyse hiç olmadığından ve ancak PSS'ye erişebildiklerinden DRG'ye ve periferik sinirlere girme eğilimindedirler (Cavaletti ve Marmiroli 2004, Sul ve Deangelis 2006, Stillman ve Cata 2006, Malik ve Stillman 2008, Avan ve ark. 2015). DRG'nin belirgin damarlanması ve KSB'nin geçirgenliği, toksik bileşiklerin duyuşal nöronlarda birikmesini destekleyebilir (Park ve ark. 2008). Ancak, sisplatinin KBB'yi geçtiğini ve tekrarlanan dozlarda verildiğinde birikebileceğini gösteren verilerde bulunmaktadır (Namikawa ve ark. 2000).

Platin bazlı ajanlar, duyuşal nöropatiye (ganglionopati) neden oldukları için kemoterapötik ajanlar arasında benzersizdirler (Quasthoff ve Hartung 2002, Windebank ve Grisold 2008). Sıçanlardaki kapsamlı morfolojik ve morfometrik çalışmalar DRG nöronların platin ilaçların ana hedefleri olduğunu göstermektedir; platin ilaçlar DRG'de duyuşal nöronlarda apoptoza ve nükleolusta Pt-DNA adduct oluşumuna bağı DNA hasarını yansıtan morfolojik değişikliklere neden olurlar (Cavaletti ve ark. 1992, 1998, 2001, Gregg ve ark. 1992, Cece ve ark. 1995, McDonald ve Windebank 2002, Cavaletti ve Marmiroli 2004).

Duyuşal nöropati, büyük miyelinli liflerin hasar görmesi nedeniyle, muhtemelen DRG'de bulunan duyuşal sinir hücre gövdeleri düzeyinde gerçekleşir (Quasthoff ve Hartung 2002). DRG'ler kılcal damarlar yoluyla vaskülarize edilmiştir; bu durum onları Pt ilaçlar gibi ekzojen toksik bileşikler de içeren (dolaşımda bulunan bileşiklerden daha fazla etkilenebilir hale getirmektedir (Gill ve Windebank 1998, Price ve ark. 2008, Carozzi ve ark. 2015). Sonuç olarak, DRG,'nin KBB tarafından korunmaması, bu bariyer ile korunan beyin ve omuriliğe kıyasla, bu bölgedeki 10 kat daha yüksek sisplatin konsantrasyonunu açıklamaktadır (Thomson ve ark. 1984, Gregg ve ark. 1992, McKeage ve ark. 2001).

Platin bileşiklerinin duyuşal sinirleri niçin motor sinirlerden daha fazla etkilediği bilinmemektedir. Bunun olası açıklamalarından biri, baryum veya talyum gibi başka metaller için de geçerli olduğu bilindiği üzere, ilacın DRG nöronunda birikme eğiliminin yüksekliği olabilir. Sisplatinin, kültüre edilmiş DRG nöronları üzerindeki etkilerinin elektrofizyolojik incelemesi, voltajla aktive olan potasyum akımlarında %50 oranında ve kalsiyum akımlarında %60 oranında bir azalma olduğunu göstermiştir. Bu gözlem sisplatinin sinirin uyarılabilirliği üzerindeki doğrudan etkisini açıklayabilir (Scott ve ark. 1995).

Sisplatin RNA, DNA ve proteinlere bağlanarak bunlarla farklı tiplerde adduct oluşturan çok reaktif bir moleküldür; nDNA ile oluşturulan adduct sisplatinin sitotoksik etkisine aracılık eden önemli lezyonlar olarak kabul edilmektedir (Marullo ve ark. 2013). Çeşitli hücre içi DNA hasar onarım yolları bu lezyonları onarabilir veya tolere edebilir. Özellikle, nükleotit eksizyon onarımı (NER) yolu sisplatin-nDNA adduct uzaklaştırılmasında önemli rol oynar (Furuta ve ark. 2002). Bu nedenle, NER aktivitesi bozulmuş hücreler sisplatine karşı son derece duyarlıdır. Onarılmaması halinde, sisplatin tarafından oluşturulan hacimli nDNA adduct, nDNA replikasyonunda ve/veya transkripsiyonunda bir blokaja neden olarak apoptoza yol açar. nDNA hasarının aracılık ettiği bu hücre ölümü mekanizması, sisplatinin bölünen hücrelerdeki yüksek toksisitesini açıklamaktadır. Sisplatine maruz kalınması postmitotik dokularda da şiddetli hasara yol açar (Marullo ve ark. 2013).

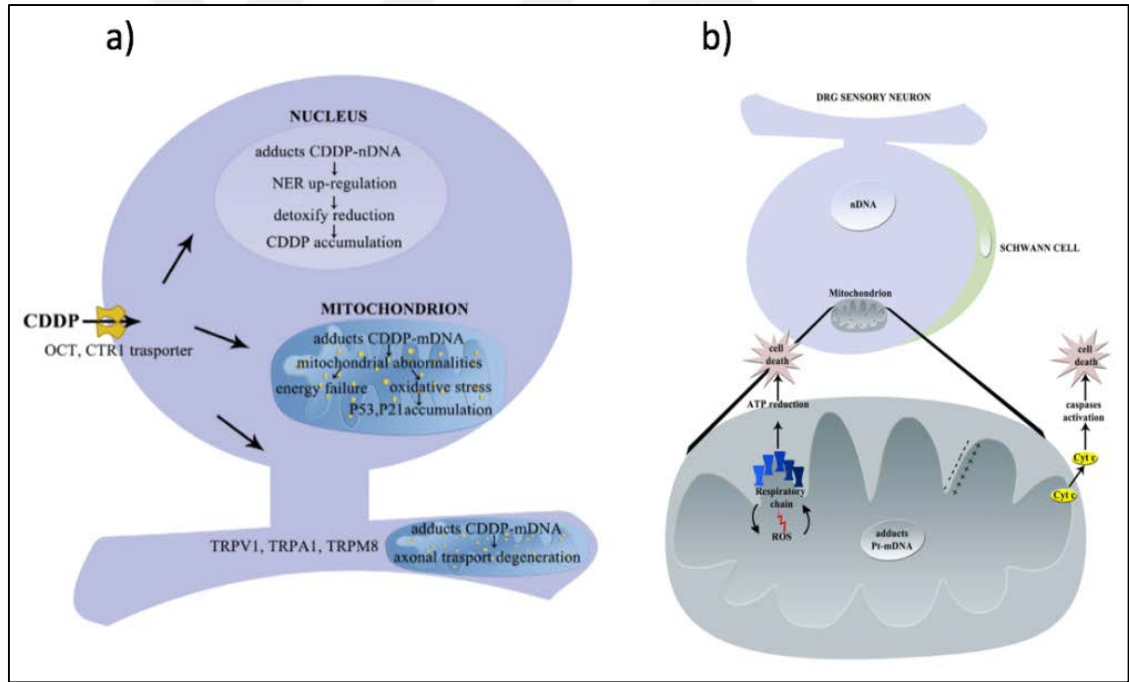
DRG duyuşal nöronlardaki sisplatin ile indüklenen nDNA hasarı kapsamlı şekilde araştırılmıştır (Windebank 1999). Sisplatin DRG'ye girdikten sonra DNA ipliklerine kovalent olarak bağlanır ve çapraz bağlar oluşturur, hem DNA replikasyonunu hem de transkripsiyonu bloke eder, hücre bölünmesini bozar ve böylece, hızlı bölünen hücre hatlarında ve kanser hücrelerinde hücre ölümüne yol açar ve apoptotik hücre ölümüne neden olur (Huang ve ark. 1995, Ocean ve Vahdat 2004). Apoptoz DRG nöronlarında, hem *in vitro* hem de *in vivo* sisplatin tedavisinin ardından gözlenmiştir ve bu DRG nöronlarında platin-DNA bağlanmasındaki artış ile ilişkilidir (Russell ve ark. 1995, Gill ve Windebank 1998, Fischer ve Windebank 2001, McDonald ve Windebank 2002, McDonald ve ark. 2005). Sisplatin-DNA adducts p53, Bcl-2 ailesi, kaspazlar, siklinler, CDK'ler, pRb, PKC, MAPK ve PI3K/Akt'nin yer aldığı birden çok sinyal yolunu aktive edebilmektedir (Cavaletti ve ark. 2008). Sisplatin ile indüklenen DNA hasarı p53'ü upregüle eder ve DRG nöronlarda hücre siklusu değişikliklerini indükler. Hücre siklusu değişiklikleri: siklin D1 upregülasyonunu, CDK4/6 komplekslerinin aktivasyonunu ve Rb fosforilasyonunu içerir. Bu olayların hepsi, mitokondrilere Bax (Bcl-2 ailesinin pro-apoptotik bir üyesi) translokasyonuna, sitokrom-c salınımına, kaspaz aktivasyonuna ve apoptoza yol açar (Windebank 1999). DNA çapraz bağlanmasına ek olarak, sisplatin hücre içi ROS üretimini de artırır; bu durum Pt ilaçların antikanser etkisine katkıda bulunabilir veya bulunmayabilir (Marullo ve ark. 2013) (Şekil 2.27a).

Nörotoksik ajanların neden olduğu, nöropati bulunan kanser hastalarında dolaşımdaki sinir büyüme faktörü (NGF) düzeyleri azalır (De Santis ve ark. 2000). Schmidt ve ark. (1995) sisplatin ile indüklenen nöropatiyi de içeren çeşitli nörotoksisite modellerinde, NGF'nin, servikal DRG'de nosisepsiyon, ağrı ve duyu ile ilişkili transmitterlerin metabolizması üzerinde büyük bir etki uyguladığını göstermiştir. Dolayısı ile, yüksek dozlardaki NGF sisplatin ile indüklenen periferik nörotoksisiteye maruz kalan DRG nöronları koruyabilmektedir. Araştırmacıların varsayımlarına göre, bu etki NGF'nin hücre siklusunu G0 fazında bloke ederek doğru nöronal farklılaşmayı koruyabilmesinden kaynaklanıyor olabilir. NGF düzeyinin azalması sisplatin ile indüklenen nöropatinin derecesi ile ilişkilidir (Cavaletti ve ark. 2002). Kültürde, DRG nöronlarının sağkalımı NGF'nin düzeylerine bağlıdır. NGF konsantrasyonunun 10 kat artırılması, hem mitokondrilere Bax translokasyonunu hem de sisplatin ile tedavi edilmiş DRG nöronlarında gözlemlenen hücre siklusu değişikliklerini önlemektedir (Podratz ve ark. 2011).

Podratz ve ark. (2011) sisplatinin nDNA ile aynı bağlanma afinitesi ile mtDNA'ya doğrudan bağlandığını göstermiştir. Sisplatinin DRG nöronlarında mtDNA ile adduct oluşturduğunu ve mtDNA replikasyonunu ve transkripsiyonu inhibe edebileceğini, ve DRG nöronlarda mitokondriyal vakuolizasyona ve bozunmaya neden olabileceğini *in vitro* ve *in vivo* göstermiştir. Ana işlevi oksidatif fosforilasyon ile enerji üretmek olan mitokondriler ayrıca ROS'un en önemli endojen kaynaklarından biridir (Marullo ve ark. 2013). Sisplatin ile indüklenen mitokondri disfonksiyonları hücrel oksidatif stresi indükler, bu nedenle, sisplatin kullanımı ROS üreterek PSS'de oksidatif hasara yol açabilir (Canta ve ark. 2015) (Şekil 2.27b). Bazı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, sisplatinin: lipit peroksidasyonuna, glutasyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerinde azalmaya, nitrik oksit sentaz ekspresyonuna, nitrozamin oluşumuna neden olan süperoksit anyonu gibi ROS düzeylerini artırabildiği ve indirgenmiş ve yükseltgenmiş glutasyon düzeylerini değiştirdiği gösterilmiştir (Carozzi ve ark. 2015). Örneğin, membran lipit peroksidasyonu sisplatin kaynaklı nöropatinin patogeneğinde çok önemli bir olgu olarak ileri sürülmüştür (Weijl ve ark. 1997). Dolayısıyla, sisplatin ile indüklenen mitokondriyal disfonksiyon, sisplatin ile indüklenen yeni bir nörotoksisite mekanizmasına yol açabilir (Podratz ve ark. 2011, Canta ve ark. 2015, Brewer ve ark. 2016). Ayrıca DRG nöronlarının yüksek düzeylerde sisplatin-DNA adducts biriktirdiği

*in vitro* ve *in vivo* gösterilmiştir (McDonald ve ark. 2005, Ta ve ark. 2006), bunun sonucunda PSS'deki sisplatin konsantrasyonu tümör dokusundaki konsantrasyonu ile kıyaslanabilir düzeye gelmektedir (Screnci ve McKeage 1999).

Sisplatin-DNA adducts, nDNA'da bulunan nükleotit eksizyon onarımı (NER) sistemi tarafından uzaklaştırılabilir ve DNA onarılabılır (McDonald ve ark. 2005, Podratz ve ark. 2011). Mitokondrilerde mtDNA için NER mekanizmaları yoktur, Pt adducts uzaklaştırılmaz, bu nedenle sisplatin-mtDNA adducts, mtDNA replikasyonunu ve mtRNA transkripsiyonunu inhibe ederek DRG nöronlarında mitokondriyal bozunmaya neden olurlar (Podratz ve ark. 2011). Bu durum mitokondriyal protein sentezinde sorunlara neden olur, DRG mitokondrisinde mitokondriyal solunum zinciri fonksiyonunun bozulması ve enerji kaybı nörotoksisite ile sonuçlanır (Canta ve ark. 2015).



**Şekil 2.27. a)** Sisplatin ile indüklenen nörotoksisite mekanizmalarının özeti: somatosensory yol üzerinde (Carozzi ve Chiorazzi 2015) **b)** Sisplatin ile indüklenen nörotoksisite mekanizmalarının özeti: mitokondriler üzerindeki temel etkiler (Canta ve ark. 2015)

(TRPA1=geçici potansiyel reseptör Ankyrin 1, TRPV1=geçici potansiyel reseptör Vanilloid 1, TRPM8=geçici potansiyel reseptör Melastatin)

Sisplatin hücreye girmeden önce hücre membranındaki fosfolipitlere ve fosfatidilserine bağlanabilir. Ayrıca, sitoplazmada, RNA ve kükürt içeren biyomoleküller dahil pek çok potansiyel platin bağlanma noktaları da mevcuttur (Scott ve ark. 1995). Sisplatinin DNA dışı hedeflere (özellikle proteinlere) bağlanması ile indüklenen sitotoksik etkilerin onun biyokimyasal etki mekanizmasına katkıda bulunduğunu gösteren pek çok kanıt vardır (Cavaletti ve ark. 2008). Hücresel hasarın nedeninin bu DNA-adduct oluşumu olduğu düşünülmeyle birlikte, platin antitümör aktivitelerinin bir mekanizması olarak platin-DNA-protein çapraz bağlarından oluşan ilave bir kompleks önerilmiştir ve spesifik olarak sisplatin ile araştırılmıştır (Chvalova ve ark. 2007). Bu Pt-DNA-protein çapraz bağları, DNA'yı protein kompleksleri ile kovalent bağlayarak nükleer metabolizmayı ve kromatinin uzaysal organizasyonunu bozabilmekte aynı zamanda DNA replikasyonunu ve onarımını inhibe edebilmektedir (McWhinney ve ark. 2009). Sisplatin toksisitesinin mekanizması büyük olasılıkla doğrudan DNA hasarına bağlı olmayıp, hücre metabolizmasındaki ve aksonal transporttaki bir soruna dayanabilmektedir (Scott ve ark. 1995, Russell ve ark. 1995, McDonald ve Windebank 2002). Ayrıca, sisplatinin nöronlarda bir kalsiyum kanal blokörü olarak etki ederek hücre içi kalsiyum homeostazını değiştirdiği ve bu durumun apoptoza yol açtığı ileri sürülmüştür (Hartmann ve Lipp 2003). Sisplatin aynı zamanda nöronlarda morfolojik değişikliklere de neden olmaktadır. Sisplatin ile tedavi edilmiş sıçanların bazal ganglionlarının ultrason incelemesinde nöronların hücre gövdesinde, çekirdeklerde ve çekirdekçiklerde küçülme ve granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtında değişiklikler bulunmuştur, bu olguların hepsi protein sentezindeki bozulmanın kanıtları olabilmektedir (Cece ve ark. 1995). Bu değişiklikler aynı zamanda organellerin hızlı aksonal transportunda hasar olduğunu belirtmektedir (Russell ve ark. 1995).

Sonuç olarak, hücre içi efektörlerin sinyal iletimi ve aktivasyonunun downstreami ilk olarak oksidatif stresi artırabilecek olan dejeneratif değişikliklere aracılık etmektedir (Jaggi ve Singh 2012). Yakın zamanda anlaşıldığı üzere, Nükleer Faktör Kappa B (NF- $\kappa$ B) bu sinyal yollarında önemle yer almaktadır. Multidisipliner çalışmalar NF- $\kappa$ B'nin kronik nöropatik ağrı patogeneğinde önemli bir süreç olabileceğini göstermiştir (Sun ve ark. 2006, Popiolek-Barczyk ve ark. 2014). Ma ve Bisby (1998) tarafından yapılan bir çalışmada kısmi siyatik sinir hasarlarının ardından sıçan lumbar DRG nöronlarında aktif NF- $\kappa$ B yüzdelерinin anlamlı olarak arttığını bildirilmiştir.

### **2.3.2.1. Sisplatin ile indüklenen nöropatinin patogenezi (insidans, şiddet, semptomlar ve risk faktörleri)**

Kemoterapi ile indüklenen periferik nöropati ile klinik semptomlarının gelişimi, insidansı ve şiddeti yalnızca tek tek risk faktörlerine değil, aynı zamanda toplam kümülatif ilaç dozuna, tedavi süresine ve uygulama planına bağlı olarak değişir (Cavaletti ve ark. 1992, Gregg ve ark. 1992, Krarup-Hansen ve ark. 1993, McKeage 1995, Hausheer ve ark. 2006).

Sisplatin periferik nörotoksitesinin başlangıç semptomları 200 ile 400 mg/m<sup>2</sup> arasındaki kümülatif dozlarda (ikinci veya üçüncü dozdan sonra veya ilk birkaç tedavi siklusu sırasında) üst ve alt ekstremitelerde (çorap ve eldiven dağılımı ile) beliren uyuşma, karıncalanma ve ağrılı paretezilerdir. Sisplatin, 400 ila 600 mg/m<sup>2</sup> dozlarında, yürüyüşte bozukluk ve proprioseptif duyuşsal ataksi ile koordineli şekilde vibrasyon ve pozisyon duyuşlarının algılanmasında azalma/kayıp ve derin tendon reflekslerinde azalma/kayıp dahil periferik duyuşsal nöropatiyi indüklemektedir (birkaç tedavi siklusunun ardından) (Thompson ve ark. 1984, Mollman ve ark. 1988, Mollman 1990, Cavaletti ve ark. 1992, von Schlippe ve ark. 2001, Quasthoff ve Hartung 2002, Plotkin ve Wen 2003, Cavaletti ve Marmioli 2004, Windebank ve Grisold 2008, Cavaletti ve ark. 2008, McWhinney ve ark. 2009, Grisold ve ark. 2012, Park ve ark. 2013, Miltenburg ve Boogerd 2014).

Uzun süreli uygulama ( $\geq 5$  gün), kısa infüzyon sürelerine kıyasla nöropati insidansını artırabilir (Mollman ve ark. 1998, Cavaletti ve ark. 1992). Riskin daha sık uygulama ve diğer nörotoksik ajanlarla birlikte kullanımı ile arttığı görülür (Bhagra ve Roa 2007). Sisplatin nöropatisi genellikle birkaç tedavi siklusundan sonra aşamalı olarak meydana gelir (aksonopati) ancak bazı hastalarda, özellikle yüksek dozda (örn., 100 mg/m<sup>2</sup> veya üzeri) tek doz sisplatin uygulamasından sonra nöropati semptomlarının hızla başladığı bildirilmiştir (nöronopati) (Hausheer ve ark. 2006). Nörotoksitenin klinik özellikleri DRG'nin bir toksisite noktası olduğunu göstermektedir (Thompson ve ark. 1984, Gregg ve ark. 1992). DRG'ler omurga yakınında bulunan ayrı sinir dokusu yığınlarıdır ve periferik duyuşsal sinir hücrelerinin hücre gövdelerini içerirler. DRG'lerde KBB yoktur ve bariyer tarafından korunan beyin ve omurilik gibi dokulara kıyasla daha yüksek düzeylerde platin ilacı birikimi gerçekleşir (Thompson ve ark. 1984, Gregg ve ark. 1992, Screnci ve ark. 2000).

Platin ilaçları öncelikle DRG'deki duyuşal nöronların etkilerler (Cavaletti ve Marmiroli 2004). Platin ilacı tedavisinin ardından DRG'de duyuşal sinir hücrelerinde morfolojik değişiklikler belgelenmiştir (Cece ve ark. 1995, Cavaletti ve ark. 1992, 1998, Stacchiotti ve ark. 1995, Holmes ve ark. 1998). Bu nedenle nörotoksisite mekanizması, DRG'deki duyuşal sinir hücrelerine hasar vermiş gibi görölmektedir (McKeage ve ark. 2001) ancak hasarın nasıl meydana geldiği açık değildir. Sisplatin periferik nöropatisi olan hastalardan elde edilen sinir biyopsileri, uzunluğa bağımlı büyük lif kaybı, aksonal atrofi ve sekonder demiyelinasyon ile dikkat çeker (Thompson ve ark. 1984). Sisplatin ile indüklenen nöropati duyuşaldır, ağırlıklı olarak büyük miyelinli lif hasarının semptomları ile karakterizedir. Duyuşal sinir iletimi değişmiştir ancak motor iletim hızı normal kalmıştır (Mollman ve ark. 1998, Mollman 1990, Gilbert 1998, Stillman ve Cata 2006, Bhagra ve Roa 2007, Cavaletti ve ark. 1992-2008, Windebank ve Grisold 2008, McWhinney ve ark. 2009, Grisold ve ark. 2012, Miltenburg ve Boogerd 2014).

McKeage ve ark. (2001) DRG duyuşal sinir hücrelerinin çekirdekçik boyutundaki azalma ile platin ilaç nörotoksisitesi arasındaki korelasyonu göstermiştir. Deneysel çalışmalarda, kronik sisplatin uygulaması spinal DRG'ye ciddi hasar vermiştir. Ayrıca siyatik ve peroneal sinirlerde de aksonopati özellikleri taşıyan değişiklikler meydana gelmiştir (Cavaletti ve ark. 1992). Sisplatin tercihen periferik sinir dokularına yerleşerek DRG'de demiyelinasyon, aksonal şişme ve akson kaybına yol açar (McDonald ve ark. 2005). Zaman zaman, omurilikte sisplatinin indüklediği semptomatik demiyelinasyon ortaya çıkabilir ve omurilikteki DRG nöron aksonlarının merkezi dendritlerinin (sentripetal dal) omuriliğe dahil olması ile Lhermitte sendromuna (boynun eğilmesi ile tetiklenen ve boyundan ayaklara yayılan elektrik çarpması benzeri bir hissin oluşması) yol açar (Gilbert 1998, Bhagra ve Rao 2007, Cavaletti ve ark. 2011, Avan ve ark. 2015). Sisplatin sekizinci kranial sinirin vestibüler bileşenini etkileyerek vertigo, ataksi, nistagmus ve kalorik parezi ile saf vestibüler sendroma yol açabilir. Ek olarak, sisplatin nöronopatiye neden olur (büyük lif demiyelinizan nöropati olarak ortaya çıkan dorsal kök girişi bölgesi nöronlarını etkiler) (Chamberlain 2010). Miyelin, aksonları insüle ederek sinir impulslarının iletim hızını artıran lipid ve protein açısından zengin bir membrandır. Miyelin kılıf yapısında genetik defektlerden, metabolik bozukluklardan, enfeksiyonlardan, inflamasyon veya toksik ajanlardan kaynaklanan değişiklikler periferik sinir hasarına yol açabilir (Gilardini ve ark. 2012).



Platin kemoterapileri, platin ajanın kesilmesinden sonra meydana gelen ve "coasting" fenomeni olarak bilinen bir CIPN'de kötüleşme ile ilişkilendirilebilmeleri açısından benzersizdirler (Podratz ve ark. 2011, Brewer ve ark. 2016).

Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati hastaların yaklaşık %30'unda meydana gelir (Ta ve ark. 2006) ve sisplatin alan hastaların yaklaşık %20'si duyuşsal nöropati nedeniyle tedaviyi bırakmak zorunda kalmaktadır (McDonald ve ark. 2005, Podratz ve ark. 2011). Nöropatinin açıklanmamış ve benzersiz özelliklerden biri de sisplatinin kesilmesinden sonra birkaç ay süreyle ilerlemeye devam edebilmesidir (Grunberg ve ark. 1989) ve semptomlar kemoterapinin son dozundan sonra 3-6 hafta daha gelişebilmektedir (Mollman ve ark. 1988).

Sisplatin kemoterapisinin tamamlanmasından üç ila dört hafta sonra, nörotoksik semptomları olan hastaların oranı, tedaviden hemen sonraki orandan anlamlı olarak daha yüksektir (Grunberg ve ark. 1989, Cavaletti ve ark. 1994). Sisplatin tedavisinin kesilmesinden sonra ilacın 96 saat içinde dolaşımdan temizlenmesine karşın nörotoksik semptomlar ve bulgular 2 aya kadar devam edebilmektedir. Sisplatin uygulaması sırasında DRG nöron hasarının gerçek şiddetinin değerlendirilmesini zorlaştırdığından, "coasting" olarak bilinen bu olay klinik açıdan çok önemlidir (Cavaletti ve Marmioli 2004, Cavaletti ve ark. 2008, Windebank ve Grisold 2008). Ayrıca, bu gecikmiş nöron toksisitenin mekanizmasının platinin mtDNA'ya bağlanması olduğu öne sürülmüştür (Podratz ve ark. 2007). "Coasting" olayı nedeniyle sisplatin ile indüklenen nörolojik bozukluklar yalnızca tedavi sırasında değil, kemoterapinin sonlandırılmasından 2-4 hafta sonra da dikkatle değerlendirilmelidir. Semptomların yatışması veya iyileşmesi hastaların çoğunda (anormal nörolojik muayene bulgularının sıklıkla kalıcı olmasına karşın) takip eden 12 ay içerisinde görülür ve sisplatin ile indüklenen nöropati bulgularına hafif şiddette sahip hastalarda, birkaç ayın ardından platin ilaçlar ile yeniden tedavi uygulanması genellikle mümkündür (Cavaletti ve Marmioli 2004, Cavaletti ve ark. 2008).

Sisplatinden kaynaklanan nörotoksosite hastalar için kronik bir sorun olabilir. Hastalarda kademeli iyileşme görülebilir; ancak, altta yatan patoloji bir nöronopati (ganglionopati) olduğundan, özellikle da daha şiddetli durumlarda iyileşme tam olmayabilir. Bu durum ve coasting olayı nedeniyle, tedavinin sabit duyuşsal bozukluk bulgularının ilk ortaya

çıkışı ile birlikte kesilmesi çok önemlidir. Pek çok hasta, terapinin kesilmesinden sonra nöropatilerinde biraz iyileşme gerçekleşmesinin ardından birkaç yıl devam edebilecek kalıcı ağrı meydana yaşayabilirler (Windebank ve Grisold 2008). Bazı hastalarda fonksiyonel iyileşme görülmesine karşın, nörofizyolojik anormallikler nadiren normale döner (Mollman 1990).

Yakın zamanda, tedavinin sona ermesinden 23 ila 33 yıl sonra yeniden değerlendirilen testis kanseri hastalarındaki bir kesitsel çalışmada, CIPN'nin hastaların %20'ye kadarında farkedilir şekilde kaldığı ve %10'unda semptomatik olduğu görülmüştür (Glendenning ve ark. 2010). Ortalama 15 yıllık takip süresinin ardından sisplatin ile tedavi edilen hastalardaki uzun dönem toksisiteyi değerlendiren başka bir çalışmada, benzer sonuçlar elde edilmiştir ve hastaların %38'inde asemptomatik, %28'inde semptomatik nöropati olduğu ve %6'sında sakatlayıcı polinöropati olduğu bulunmuştur (Strumberg ve ark. 2002). Bu nedenle, tedaviye devam edilmese de CIPN'den kaynaklanan sorunlar zaman içinde devam edebilmektedir (Ocean ve Vahdat 2004). 4179 hastanın katıldığı 31 CIPN çalışmasının yakın tarihli bir meta-analizinde, CIPN'nin toplam prevalansı (görülme oranı) %48'dir. Kemoterapinin tamamlanmasından sonraki ilk ay içerisinde CIPN prevalansı %68,1 ve 3 ayda %60 idi, kemoterapinin tamamlanmasından 6 ay veya daha fazla süre sonra ise CIPN prevalansı %30'a düşmüştür (Seretny ve ark. 2014). Velasco ve Bruna (2010)'ya göre, CIPN'nin uzun dönem komplikasyonlarının oluşumunun minimize edilmesi için en iyi yol semptomların erken fark edilmesi ve dozun azaltılması veya terapinin kesilmesidir.

### **2.3.3. Gemsitabin ve periferik nöropati**

Gemsitabin, neredeyse bütün hastalarda düşük derece ateş (subfebril vücut sıcaklığı), yorgunluk ve kırgınlık, miyalji ve hastaların yaklaşık %10'unda parestezi ile birlikte artralji şeklinde sistemik semptomlara neden olur (Brzezinski 2012, Grisold ve ark. 2012). Gemsitabinin toksisite profili miyelotoksisite (anemi, trombositopeni ve nötropeni ile birlikte), kronik yorgunluk, karaciğer fonksiyon testlerinde reversibl yükselme, bulantı ve seyrek olarak pulmoner toksisiteyi içerir (Voutsadakis 2011). Tek ajan/monoterapi gemsitabin ile ilişkilendirilmiş periferik nöropati bildirilmemiştir. Tek ajan olarak gemsitabin ile tedavi edilmesinin ardından gastrointestinal parezi ve başka otonom nöropati bulguları gelişen bir hastaya ilişkin tek bir olgu raporu vardır. Hasta daha önce

karboplatin ve vindesin ile tedavi edilmiş ancak genel periferik nöropati bulgusuna sahip değildir (Dormann ve ark. 1998). Gemsitabin en çok, taksanlar, platin bileşikleri veya vinka alkaloidleri ile birlikte kullanılır, bunların hepsi CIPN'ye neden olur. Gemsitabinin bu ajanlar ile birlikte CIPN gelişimi olasılığını arttırdığı görülmektedir (Colomer ve ark. 2004). Gemsitabinin, daha önce karboplatin ve vindesin tedavisi uygulanmış küçük hücreli akciğer kanseri (NSCLC) olan hastanın tedavisinde kullanılması ile ilk kez gemsitabin ve otonom nöropati arasındaki ilişki gözlenmiştir. Gemsitabin uygulanan NSCLC hastasında, nadiren otonom nöropati veya posterior lökoensefalopati meydana geldiği gözlenmiştir (Dormann ve ark. 1998, Russell ve ark. 2001). Gemsitabinin, beyin metastazları için radyasyon terapisinin ardından uygulanması nörotoksisite riskini artırabilmektedir (Jeter ve ark. 2002).

Verstappen ve ark. (2003); paklitaksel (taksol), gemsitabin ve sisplatin kombinasyonunun ilerlemiş yumurtalık kanseri olan hastalarda tedavi sırasında periferik nöropati açısından iyi tolere edildiğini bildirmişlerdir. Louvet ve ark. (2005), metastatik pankreas kanseri (MPC) olan hastalarda sadece gemsitabine kıyasla gemsitabin-oksaliplatin (GemOx) tedavisinin etkililiğini ve güvenliliğini incelemiştir. Nöro-duyu semptomları hastaların %95'inde görülmüş, ancak bu semptomların hastaların %76'sında hafif ila orta şiddette (derece 1 ila 2) kaldığı görülmüştür. Derece 3 periferik duyu nöropati (Ox-sınırlayıcı toksisite) GemOx ile tedavi edilen hastaların %19,1'inde ve sadece Gem ile tedavi edilen hastaların %0'ında görülmüştür. Davies ve ark. (2009) ilerlemiş NSCLC'si olan hastaların %23'ünde borteomib + gemsitabin/karboplatin tedavilerinin ardından duyu nöropatinin meydana geldiğini göstermiştir. Goldstein ve ark. (2016)'nın raporunda, metastatik prostat kanseri (MPK) olan hastalarda *nab*-paklitaksel + gemsitabin (*nab*-P/Gem) tedavisi ile ilişkili PN'nin sıklığını, süresini ve şiddetini incelemiştir. Faz III çalışmasında, *nab*-P/Gem MPK'si olan hastalarda Gem'e kıyasla daha yüksek etkililik ancak daha yüksek PN oranları göstermiştir. *nab*-P/Gem ile tedavi edilen hastaların %17'sinde derece 3 PN görülmüştür.

#### 2.3.4. İntegrinler ve CIPN

İntegrinler, primer afferent nöronlar üzerinde eksprese edilirler. ECM elemanlarına bağlanırlar ve hiperaljeziye aracılık ettiği bilinen sinyal sistemleri ile etkileşime girerler. İnflamasyon ve sinir hasarı, periferik sinirler etrafındaki ECM'de integrinlere önemli sinyaller verebilecek olan değişikliklere neden olur (Jones 2004). Dina ve ark. (2004) kanser kemoterapi ajanı taksolün sistemik uygulamasının neden olduğu nöropatik hiperaljezinin,  $\beta 1$  integrinin antisens knockdown ile reversibl olarak inhibe edildiğini bulmuştur. Bu sonuçlar, inflamatuvar ve nöropatik ağrı hayvan modelinde hiperaljeziye yol açan nosiseptörlerin duyarlılaştırılmasında, spesifik integrin alt birimlerinin yer aldığını göstermektedir. Bu nedenle, ECM'nin hücre yüzeyi integrin reseptörleri ile etkileşiminin değiştirilmesi mekanik hiperaljezinin oluşmasını tamamen inhibe etmektedir (Dina ve ark. 2004). Bu etki ilgili hücre içi sinyal moleküllerine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Hucho ve Levine 2007). Dina ve ark. (2005) spesifik integrinlerin inflamatuvar hiperaljeziye yol açan primer duyuşal ikinci haberci sistem bileşenleri ile etkileşime girerek inflamatuvar ağrıda önemli rol oynadığını ve inflamatuvar mediyatör PGE (2) tarafından aktive edilen yollar ile etkileşimin belki de lipit yağınlar tarafından düzenlendiğini ileri sürmüşlerdir.

Nörolojik muayeneleri de içeren bir çalışmada kolorektal kanseri olan oksaliptatinle tedavi edilmiş bir dizi hastada, integrin  $\beta 3$  (hücre adezyonuna ve hücre yüzeyi aracılı sinyalleme katıldığı bilinen bir integral hücre yüzeyi proteini) Leu33Pro polimorfizmi (ITGB3 L33P) incelenmiştir ve C alelini içeren genotiplere kıyasla T/T genotipinin kronik oksaliptatinle indüklenen periferik nöropatinin (OXLIPN) şiddetindeki artışla ilişkisi bildirilmiştir (P=0,044). ITGB3 L33P'nin OXLIPN gelişimiyle ilgili bulunmamasına karşın şiddetiyle ilgili olduğu bulunmuştur (Antonacopoulou ve ark. 2010).

İntegrinlerin mekanik hiperaljezi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Alessandri-Haber ve ark. 2004, Dina ve ark. 2004). Paklitaksel ile indüklenen periferik nöropatide, TRPV4 (geçici potansiyel reseptör vanilloid 4) aracılı mekanik hiperaljezi esas olarak integrin/Src tirozin kinaz sinyaline bağlı olarak ortaya çıkar (Alessandri-Haber ve ark. 2004). TRPV4; vinkristin kemoterapisi, alkolizm, diyabet ve insan bağışıklık eksikliği virüsü/kazanılmış

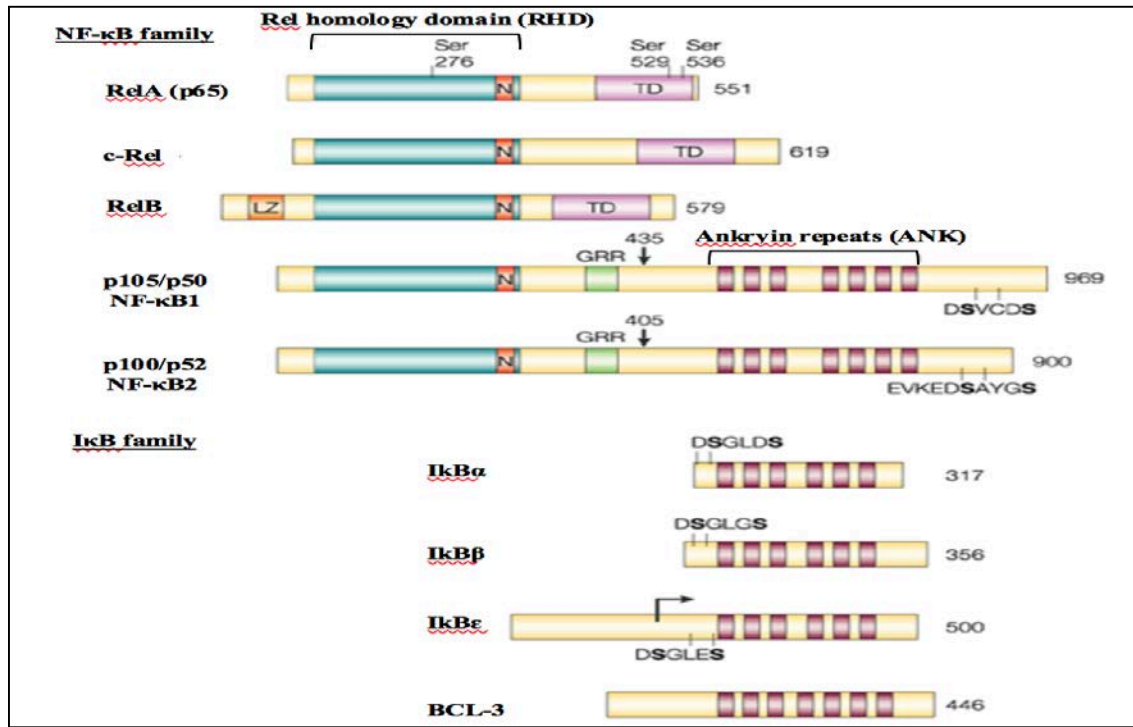
bağışıklık yetmezliği sendromu (HIV-AIDS) terapisiyle indüklenen ağrılı periferik nöropati gibi çeşitli etiyojilerin mekanik hiperaljesisinde temel bir rol oynar. Paklitaksel ile tedavi edilmiş farelerin DRG'sinde TRPV4 ekspresyonunda artış gösterilmiştir ve bu durum nöropatik ağrıya yol açmaktadır. Mekanik hiperaljezi TRPV4'e antisense oligodeoksinükleotitlerin (ODN) spinal intratekal uygulaması ile büyük ölçüde azalmıştır. Benzer şekilde, paklitaksel veya vinkristin ile indüklenen mekanik hiperaljezi TRPV4 knockout farelerde anlamlı olarak azalmıştır. TRPV4 knockout fare çalışmalarında nöropatik ağrıya iyileşme gösterilmiştir. Ayrıca, TRPV4'ün, duyuşal nöronlardaki çok çeşitli hiperaljezik durumlarda mekanik iletme aracılık eden ancak normal ağrısızlığa katkıda bulunmayan moleköl kompleksinde  $\alpha_2\beta_1$  integrin ve Src tirozin kinaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Alessandri-Haber ve ark. 2008).

#### **2.4. NF- $\kappa$ B, İnflamasyon ve CIPN**

NF- $\kappa$ B, Rel transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olarak kabul edilmiştir. NF- $\kappa$ B/Rel transkripsiyon faktörü ailesi homo- veya heterodimerler oluşturan yapısal olarak ilişkili çeşitli proteinlerden meydana gelir (Baldwin 1996, Ghosh ve ark. 1998, Chen ve Ghosh 1999). Memeli hücrelerinde, NF- $\kappa$ B/Rel ailesi beş üyeden oluşur: RelA (p65), c-Rel, RelB, NF- $\kappa$ B1 (p50 ve inaktif prekürsörü p105) ve NF- $\kappa$ B2 (p52 ve inaktif prekürsörü p100) (Baldwin 1996, Chen ve Ghosh 1999, Pahl 1999). NF- $\kappa$ B ailesi üyeleri işlevsel açıdan farklı iki protein sınıfına ayrılabilir; I) başlangıçta inaktif prekürsör proteinler olarak sentezlenenler ve DNA'ya bağlanma yeteneğine sahip proteinler elde etmek için proteolitik işlem gerektirenler: NF- $\kappa$ B1 (p105) ve NF- $\kappa$ B2 (p100) ve II) transkripsiyonel açıdan aktif formlar şeklinde üretilenler: RelA, RelB ve c-Rel (Mercurio ve Manning 1999).

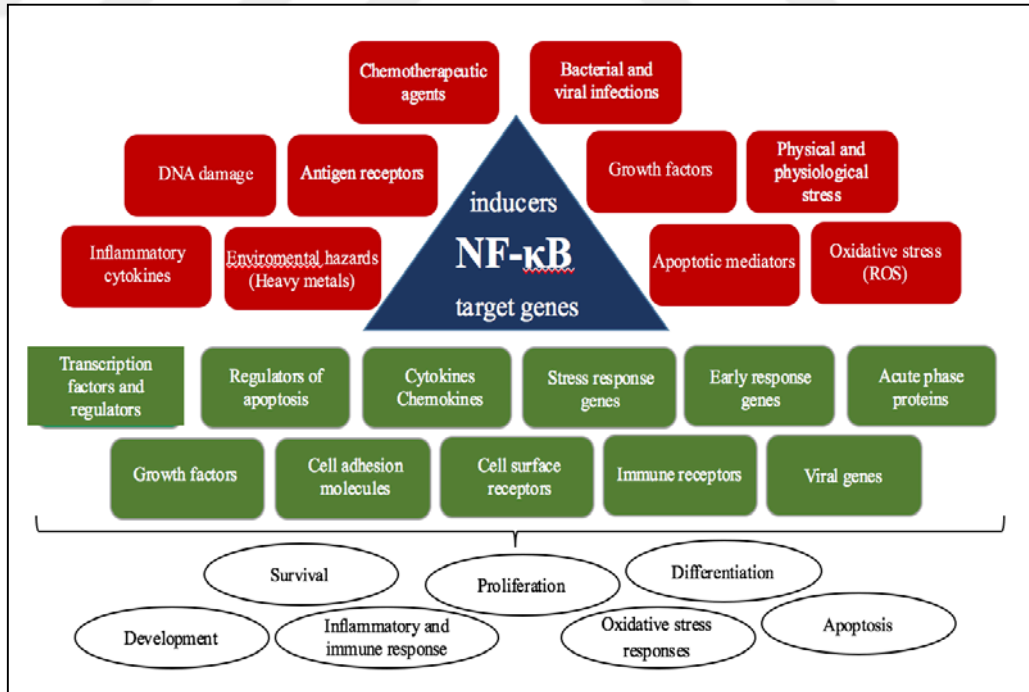
NF- $\kappa$ B ailesi; dimerizasyondan, nükleer lokalizasyondan (N), DNA bağlanmadan ve inhibitör kappa B (I $\kappa$ B) ile etkileşimden sorumlu sekansları içeren yüksek oranda korunmuş 300 amino asit Rel-homoloji domainin (RHD) varlığı ile karakterizedir (Baldwin 1996, Ghosh ve ark. 1998, Chen ve Ghosh 1999). RelA, c-Rel ve RelB ayrıca C-ucunda homolog olmayan bir transaktivasyon domaine (TD) sahiptir. RelB ayrıca RHD'nin amino ucunda tahmini bir lösin fermuarı motifi (LZ) içerir (Li ve Verma 2002) (Şekil 2.28).

NF- $\kappa$ B hemen hemen tüm hücre türlerinin sitoplazmasında eksprese edilir, burada aktivitesi NF- $\kappa$ B inhibitörleri (I $\kappa$ B) olarak adlandırılan bir düzenleyici protein ailesi tarafından kontrol edilir. I $\kappa$ B ailesi üyeleri (I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$  ve Bcl-3) ve işlenmemiş NF- $\kappa$ B1 (p105) ve NF- $\kappa$ B2 (p100) proteinleri; sitoplazmada RHD ile stabil olarak etkileşime giren ve sitoplazmada NF- $\kappa$ B dimerlerinin nükleer lokalizasyon sinyallerini (NLS'ler) maskeleyerek nükleer translokasyonunu önleyen her biri yaklaşık 30-33 amino asit uzunluktaki 5 ila 7 ankyrin tekrar bölgesi ile karakterizedir (ANK) (Baldwin 1996, Mercurio ve Manning 1999). NF- $\kappa$ B1 (p105) ve NF- $\kappa$ B2'nin (p100) işlenmesi için gerekli olan glisin açısından zengin bölge (GRR) de belirtilmiştir (Lin ve Ghosh 1996) (Şekil 2.28). NF- $\kappa$ B protein ailesinin üyeleri arasındaki etkileşim; uyaranda, hücre türlerinde veya sinyal iletimi yollarında varyasyonu yansıtan farklı bileşimdeki NF- $\kappa$ B dimerini oluşturur. Bu NF- $\kappa$ B dimerleri, DNA bağlanma bölgesi spesifiteleri/afiniteleri ve transkripsiyon aktivasyon potansiyelleri açısından değişiklik gösteren homodimerler veya heterodimerler olabilir (Chen ve Ghosh 1999, Mercurio ve Manning 1999). En baskın NF- $\kappa$ B formu p50/RelA heterodimeridir ve gen transkripsiyonunun kuvvetli bir aktivatörüdür (Schmitz ve Baeuerle 1991, Liu ve Malik 2006).



Şekil 2.28. Memeli NF- $\kappa$ B ve I $\kappa$ B ailesi üyeleri (Li ve Verma 2002)

NF-κB, dinlenme durumundaki hücrelerin çoğunun sitoplazmasında bulunan ancak aktivasyon üzerine hızlı nükleer translokasyona uğrayabilen ve gen ekspresyonunu indükleyebilen dimerik transkripsiyon faktörüdür. Organizma açısından bir tehdit oluşturabilecek sayısız birbiriyle ilgisiz ekzojen ve endojen ajan NF-κB aktivasyonunu indükleyebilmektedir (Baldwin 1996). Bu ajanların bazıları: inflamatuvar sitokinleri (TNF ve IL-1), bakteriyel (lipopolisakarit/LPS) ve viral enfeksiyonları, B veya T hücresi aktivasyonunu, çeşitli mitojenleri, antijen reseptörlerini, büyüme faktörlerini, fiziksel stres (UV veya γ ışınlanması), fizyolojik stres koşullarını (iskemi ve hiperozmotik şok), oksidatif stresi (serbest radikaller ve sigara dumanı), çevresel tehlikeleri, modifiye olmuş proteinleri, reseptör ligandlarını, apoptotik mediyatörleri, tümör promotörlerini, kemoterapötik ajanları ve DNA hasarını içermektedir (Baeuerle ve Henkel 1994, Baldwin 1999, Pahl 1999, Oeckinghaus ve Ghosh 2009) (Şekil 2.29). Bu bulgular NF-κB'nin hücrel stres mediyatörü/aracısı olarak yaygın önemini işaret etmektedir. NF-κB aktivasyonu; inflamatuvar yolağın uyarılması veya kemoterapötik uygulama sonucunda kanser hücreleri içerisinde artan oksidatif stres nedeniyle meydana gelebilir (Barrera 2012).



Şekil 2.29. NF-κB uyarıcıları ve NF-κB bağımlı hedef genler

Kemoterapötik ilaçların duyuşal nöronların duyarlılığını değiştirdiği bir diğer mekanizma, bağışıklık sisteminin aktivasyonu ve inflamasyonun indüksiyonudur. Çeşitli araştırmacılar kemoterapötik uygulamaların ardından DRG'deki uydu glia hücreleri (Warwick ve Hanani 2013) ve omuriliğin dorsal boynuzundaki mikroglialar gibi resident bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu gözlemlemiştir (Pevida ve ark. 2013). Ayrıca, NF-κB gibi bilinen inflamatuvar sinyal yollarının modülasyonu, klinik öncesi modellerde kemoterapi uygulamasının yan etkilerini (nöropatik ağrı gibi) azaltmaktadır (Fehrenbacher 2015).

NF-κB, ilk olarak B hücrelerinde immünoglobülin kappa hafif zincir genlerinin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır, ekzojen uyarılara yanıt olarak aktivitesinin indüklenebilirliği çeşitli hücre tiplerinde gösterilmiştir (Sen ve Baltimore 1986). NF-κB aktivasyonu çoğu hücrede indüklenebilir olmakla birlikte, NF-κB ayrıca olgun B hücreleri, makrofajlar, nöronlar, vasküler düz kas hücreleri ve çok sayıda tümör hücresi gibi belirli hücre türlerinde yapısal olarak aktif bir nükleer protein olarak da saptanabilir (Oeckinghaus ve Ghosh 2009). NF-κB keşfinden bu yana geçen 30 yıl boyunca, immün ve inflamasyon yanıtlarındaki ve tümörogenezdeki rolü kapsamlı şekilde araştırılmıştır (Nishikori 2005).

NF-κB; inflamatuvar ve immün yanıtlar, oksidatif stres yanıtları, belirli viral genlerin ekspresyonu, hücre siklusları, hücre proliferasyonu, büyümesi, gelişmesi, farklılaşması, sağkalımı ve apoptozu gibi pek çok kritik fizyolojik süreçte yer alan proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörü protein kompleksidir (Pahl 1999, Li ve ark. 2000, Li ve Verma 2002, Gilmore ve Herscovitch 2006, Oeckinghaus ve Ghosh 2009, Ledoux ve Perkins 2014). Ayrıca NF-κB'nin embriyo gelişimi, meme bezi, kemik, deri ve MSS dokuları dahil dokuların gelişiminde/fizyolojisinde hayati fonksiyonları bu transkripsiyon faktörünün önemini vurgulamıştır (Hayden ve Ghosh 2004). Çok sayıda önemli hücresel sürecin NF-κB bağımlı transkripsiyon yoluyla düzenleniyor olmasından dolayı, NF-κB yolunun yanlış regülasyonu, mutasyon veya epigenetik mekanizmalarla, özellikle kronik inflamasyon, immün yetmezlik veya kanser ile ilişkili birçok hastalığa yol açmaktadır (Courtois ve Gilmore 2006). NF-κB aktivasyonu çok çeşitli otoimmün/inflamatuvar hastalık ile ilişkiili bulunmuştur (izelge 2.9) (Tak ve Firestein 2001, Collins ve Cybulsky 2001,



Mattson ve Camandola 2001, Tak ve Firestein 2001, Courtois ve Gilmore 2006, Lawrence 2009, Shih ve ark. 2015). NF- $\kappa$ B, altta yatan inflamasyon sonucu veya kanser gelişimi sırasında inflamatuvar mikro ortam oluşması sonucu yalnızca lenfoid kanserlerde değil, pek çok solid tümörde de aktive edilmiştir (Karin 2009). Bu nedenle, NF- $\kappa$ B sinyal yolu, öncelikle kronik inflamasyon veya kanserde, yolun genellikle yapısal olarak aktif olduğu ve bu ciddi hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynadığı durumlarda, farmakolojik müdahale için odak noktasıdır (Mercurio ve Manning 1999, Li ve Verma 2002, Gilmore ve Herscovitch 2006, Lin ve ark. 2014).

**Çizelge 2.9.** NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile ilişkili inflamatuvar hastalıklar

---

**İnsan inflamatuvar hastalıklarında NF- $\kappa$ B aktivasyonu**

---

Astım

AIDS

Ateroskleroz

**Kanser**

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)

Kronik inflamatuvar demiyelinizan poliradikülonevrit

Diyabet

Helicobacter pylori ilişkili gastrit

İnflamatuvar bağırsak hastalığı (İBH) (başlıca tipleri Ülseratif kolit ve Crohn hastalığıdır)

Multipl skleroz

**Nörodejeneratif bozukluklar** (örneğin Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, nöropati)

Osteoporoz

Romatoid artrit

Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu

---

Çekirdekte, NF- $\kappa$ B/Rel dimerleri hedef DNA elementlerine bağlanır ve proinflamatuvar sitokinler [IL-1, IL-6, tümör nekroz faktörü (TNF), kemokinler], büyüme faktörleri, akut faz proteinleri, immün sistem reseptörleri (IL-2 reseptörü  $\alpha$ -zinciri, T hücresi reseptörü  $\beta$ 2), oksidatif stresle ilişkili enzimler, erken yanıt genleri, stres yanıt genleri, hücre siklusu regülatör molekülleri, hücre adezyon molekülleri (VCAM-, ICAM-1, E-selektin), hücre yüzeyi reseptörleri, viral genler (HIV-1, CMV), antijen sunumunda yer alan proteinler, transkripsiyon faktörleri ve apoptoz regülatörleri (anti-apoptotik Bcl ailesi üyeleri ve apoptoz proteinleri inhibitörleri/IAP) dahil çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenlerler (Chen ve Manning 1995, Kopp ve Ghosh 1995, Baeuerle ve Baichwal 1997, Pahl 1999, Oeckinghaus ve Ghosh 2009, Lin ve ark. 2014).

Rapor edilen hedef genlerin listesi Gilmore laboratuvarı internet sitesi tarafından belgelenmiştir (<http://www.bu.edu/nf-kb/gene-resources/target-genes/>). NF- $\kappa$ B; inflamasyonu, hücresel ölümsüzlüğü, anti-apoptozu/sağkalımı, anjiyogenezi, proliferasyonu, tümör promosyonunu ve metastazını yöneten tümör gelişimi ile ilişkili pek çok geni hedef alır (Aggarwal 2004, Nishikori 2005, Karin 2006, Gupta ve ark. 2010) (Çizelge 2.10). Dolayısı ile, NF- $\kappa$ B aktivasyonunun baskılanması kanserin önlenmesinde ve tedavisinde etkili olmalıdır (Aggarwal 2004).

**Çizelge 2.10.** Tümör progresyonunun artışıyla ilgili NF- $\kappa$ B hedef genleri (Nishikori 2005)

<b>Aktivite</b>	<b>Genler</b>
<b>İnflamasyon</b>	TNF, IL-1, kemokinler
<b>Hücre sel ölümsüzlük</b>	telomeraz
<b>Hücre sağkalımı</b>	BCL-xL, cIAP, XIAP, cFLIP
<b>Anjiyogenez</b>	VEGF, TNF, IL-1, IL-8
<b>Proliferasyon</b>	TNF, IL-1, IL-6, siklin D1, c-Myc
<b>Tümör promosyonu</b>	COX2, iNOS, MMP-9, uPA
<b>Metastaz</b>	ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1

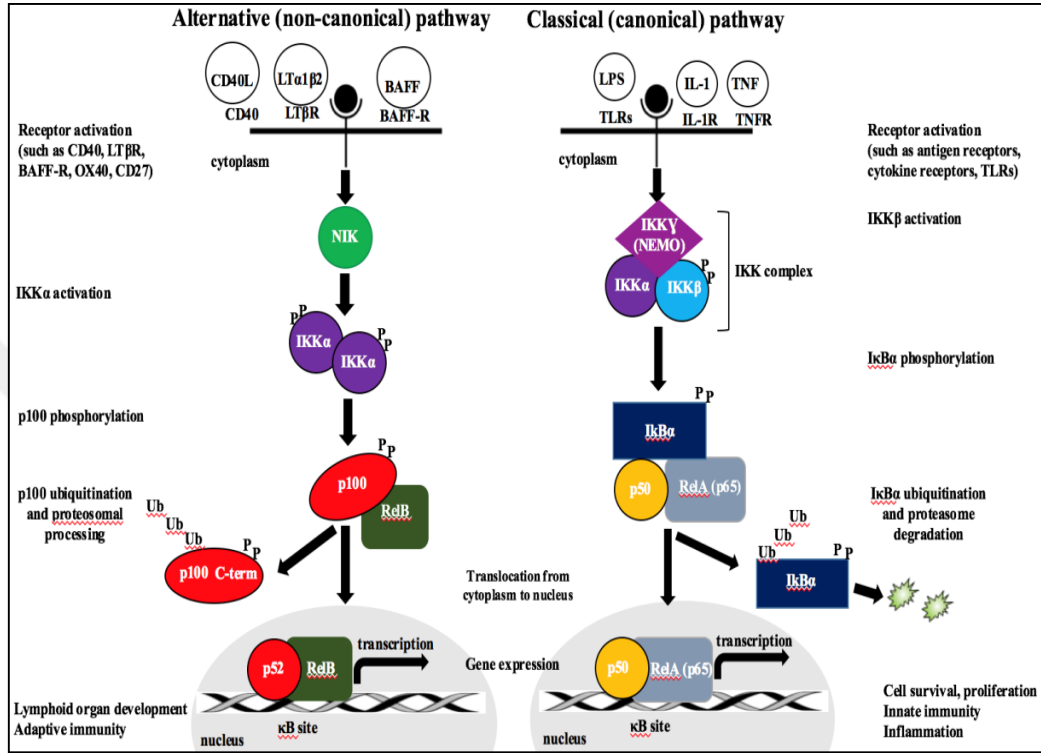
NF- $\kappa$ B/Rel regülasyonu birden fazla seviyede gerçekleşebilir: (1) dimerizasyon, (2) I $\kappa$ B ile inhibisyon (dolayısı ile nükleer translokasyonunun kontrolü), (3) DNA'ya bağlanma, (4) diğer transkripsiyon koaktivatörleri ile etkileşim ve (5) transkripsiyonel işleyiş (Chen ve Ghosh 1999). Uyarılmamış hücrelerin çoğunda, NF- $\kappa$ B dimerleri, NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe eden I $\kappa$ B proteinlerine bağlı şekilde sitoplazmada dolaşır. I $\kappa$ B'nin inhibe edici etkisi çeşitli mekanizmaları içerir; sitoplazmada dimerleri ayrıştırır, DNA'dan ayrışmasını kolaylaştırır ve NF- $\kappa$ B'yi nükleustan dışarı atar. Uyarıldığında, I $\kappa$ B, I $\kappa$ B-kinaz kompleksi (IKK) tarafından fosforillenir, ubiquitinlenir ve degrade olur. NF- $\kappa$ B dimerleri aktive edildiğinde, sitoplazmadan nükleusa translokasyonları gerçekleşir ve burada, hedef genlerin ekspresyonunu düzenlemek üzere DNA'nın promotör bölgesindeki (toplu olarak  $\kappa$ B bölgeleri olarak adlandırılan 10bp DNA bölgeleri) spesifik dizinlere bağlanırlar (Pahl 1999, Mercurio ve Manning 1999, Oeckinghaus ve Ghosh 2009, Lin ve ark. 2014).

NF- $\kappa$ B sinyal yolu iki tür sınıflandırılmıştır: klasik/kanonik ve alternatif/nonkanonik sinyal yolu (Hayden ve Ghosh 2004, Gilmore 2006).

**1. Klasik/kanonik NF- $\kappa$ B sinyal yolu:** tümör nekroz faktör reseptörleri (TNF1 ve TNF2), T hücresi reseptörleri (TCR), B hücresi reseptörleri (BCR), nükleotit oligomerizasyon domain benzeri reseptörler (NLR), interlökin-1 reseptör ailesine (IL-1R) ait Toll benzeri reseptörler (TLR) dahil çeşitli hücre yüzeyi reseptörlerine ligand bağlanması ile tetiklenir (Nishikori 2005, Lin ve ark. 2014, Yu ve ark. 2017). I $\kappa$ B $\alpha$  proteinleri, aktive edilmiş IKK kompleksi tarafından I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın Ser32 ve Ser36'ya eşdeğer spesifik bölgelerinde fosforillenirler. Fosforilasyon I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın Lys21 ve Lys22'ye eşdeğer bölgelerinde poli-ubikuinasyonu ve 26S proteazom tarafından bozunmayı tetikleyerek, serbest NF- $\kappa$ B dimerlerini açığa çıkarır (Alkalay ve ark. 1995, Traenckner ve ark. 1995, DiDonato ve ark. 1996, Karin ve Ben-Neriah 2000). I $\kappa$ B kinaz (IKK) kompleksi IKK $\alpha$  (IKK1 olarak da bilinir) ve IKK $\beta$  (IKK2 olarak da bilinir) katalitik alt birimlerinden ve IKK $\gamma$  düzenleyici alt biriminden (düzenleyici iskelet proteini NF- $\kappa$ B esansiyel modülatör/NEMO) oluşur. IKK $\beta$  bileşeni klasik NF- $\kappa$ B sinyal yolağı ile sinyal iletimi için gereklidir. Aktive edilmiş IKK $\beta$ , I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın bozunmasına ve p50/RelA dimerlerinin hücre nukleusuna translokasyonuna yol açar (Zandi ve ark. 1997, Gilmore 2006, Li ve ark. 1999, Lawrence 2009, Lin ve ark. 2014, Yu ve ark. 2017) (Şekil 2.30). Bu yol inflamasyonu, doğuştan gelen bağışıklığı, hücre sağkalımını, proliferasyonu, anjiyogenezi, tümör promosyonunu ve metastazı kodlayan hedef genlerin transkripsiyonundaki artış ile sonlanır (Nishikori 2005, Yu ve ark. 2017) (Çizelge 2.10).

**2. Alternatif/nonkanonik NF- $\kappa$ B sinyal yolu:** Lenfotoksin  $\beta$  reseptörü (LT $\beta$ R), TNF ailesi reseptörüne ait B hücresi aktive edici faktör (BAFF-R), NF- $\kappa$ B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL), CD40 (CD40L) ve CD30 dahil bazı TNF reseptör ailesi üyelerinin aktivasyonu tarafından tetiklenir. NF- $\kappa$ B indükleyici kinaz (NIK) upstreami IKK $\alpha$  homodimerini aktive eder; bu sinyal yolunda IKK $\beta$  ve IKK $\gamma$ 'nın her ikisi de gereksizdir. NF- $\kappa$ B2 (p100), IKK $\alpha$  homodimeri tarafından iki C-ucu serin kalıntılarında fosforillenir ve ubikuitinlenir. Bu modifikasyon inhibitör C-ucu, proteazomal bozunma ve p100'ün aktif p52 formuna dönüşümü için hedef almaktadır. Ardından, p52/RelB dimerlerinin nükleusa translokasyonu gerçekleşir ve burada transkripsiyonu aktive ederler (Hayden ve Ghosh 2004, Nishikori 2005, Gilmore 2006, Lawrence 2009, Yu ve ark. 2017).

Bu yol lenfoid organların gelişimini, adaptif bağışıklığı, anti-inflamatuvar özellikleri, B hücresi matürasyonunu ve osteoklastogenezi kodlayan hedef genlerin transkripsiyonundaki artış ile sonuçlanır (Nishikori 2005, Lawrence 2009, Yu ve ark. 2017) (Şekil 2.30).



Şekil 2.30. Klasik (kanonik) ve alternatif (nonkanonik) NF-κB yolları

İnsan inflamatuvar hastalıklarını tedavi etmekte kullanılan çeşitli bileşiklerin NF-κB aktivasyonu üzerinde etkileri vardır (Yamamoto ve Gaynor 2001). Bu bileşikler örneğin Th2 sitokinler (IL-4, IL-13 ve IL-10), interferonlar, endokrin hormonlar (LH, HCG, MSH ve GH), fitokimyasallar, kortikosteroidler, immünosüpresif ilaçlar (Shih ve ark. 2015), küçük moleküller (Ivanenkov ve ark. 2011), antioksidanlar, peptitler, proteazom inhibitörleri, küçük RNA/DNA, bakteriyel/fungal ve viral proteinler, tasarlanmış dominant-negatif veya yapısal olarak aktif polipeptitler, dominant-negative IKKβ gen terapisi, siklopentenon prostaglandinler; spesifik sinyal iletimini bloke ettiği ve NF-κB aktivasyonunu baskıladığı bilinen antiinflamatuvar ajanlar gibi çeşitli doğal veya sentetik ajanlardır (Yamamoto ve Gaynor 2001, Gilmore ve Herscovitch 2006, Gupta ve ark. 2010). Bu nedenle, NF-κB regülasyonu ve disregülasyonu hastalık kontrolünde çok önemli rol oynar (Shih ve ark. 2015).

Bu bileşiklerin birçoğu NF-κB indüksiyon genel inhibitörleri olarak etki ederken, diğerleri NF-κB indüksiyon spesifik yollarını inhibe etmektedir. Ek olarak, bazı bileşiklerin NF-κB yolundaki birden fazla adımı hedef aldığı görülmektedir. NF-κB aktivasyonunun inhibisyonu üç mekanizma ile gerçekleşebilir:

(1) gelen uyarıcı sinyalin erken bir aşamada bloke edilerek (örn., ligandın reseptörüne bağlanması) sinyalin etkisinin tamamen ortadan kaldırılması ile sonuçlanır,

(2) kaskadın spesifik bir bileşeninin bloke edilmesi yoluyla NF-κB aktivasyon yolundaki sitoplazmik bir adımın bozulması (örn., IKK kompleksinin inaktivasyonu veya IκB bozunması),

(3) NF-κB nükleer aktivitesinin bloke edilmesi, yani, nükleusa translokasyonunu, DNA'ya bağlanmasını, NF-κB'nin aktivitesini veya spesifitesini etkileyen nükleer modifikasyonunu veya NF-κB'nin DNA üzerinde spesifik veya bazal transkripsiyon işleyişiyle etkileşimini inhibe eder.

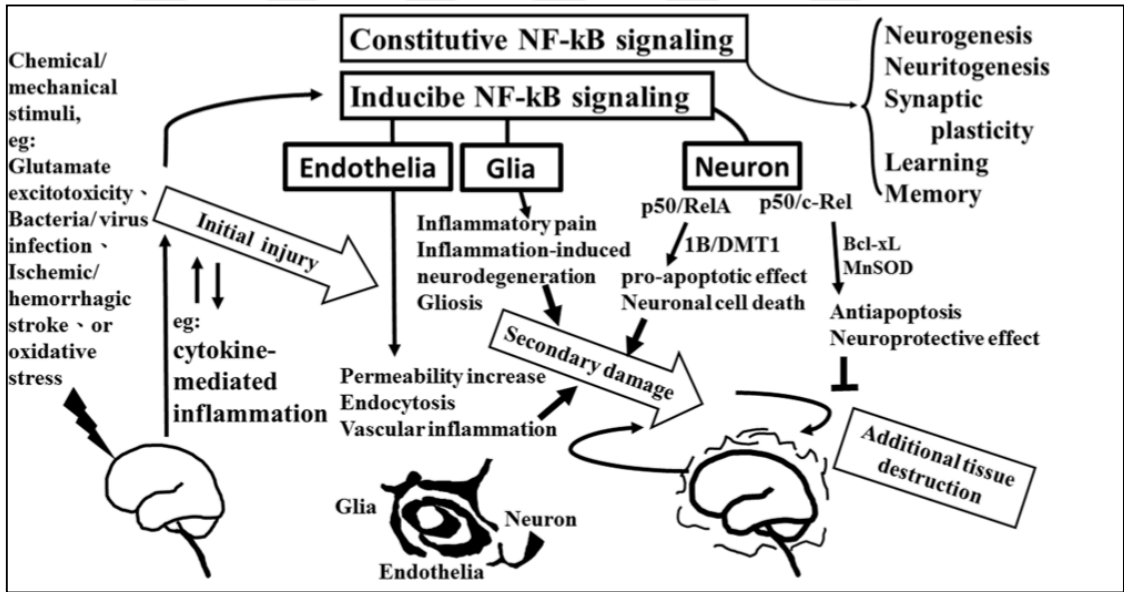
Ayrıca, spesifik NF-κB inhibitörleri olarak tasarlanan bileşikler henüz klinik kullanımda değildir ancak bunların belirli kanserler, inflamatuvar ve nörodejeneratif hastalıklar için tedaviler olarak geliştirilmesi olasıdır (Gilmore ve Herscovitch 2006).

#### **2.4.1. NF-κB'nin nörolojik hasardaki rolü**

NF-κB'nin inflamasyon patogenezindeki önemli rolünün belirlenmesi, NF-κB hedefli terapötiklerin nöroinflamasyonla ilişkili hastalıkların patogenezinde etkili olabileceğini göstermektedir. Beyindeki/omurilikteki kimyasal/mechanik stimülasyon (örneğin glutamat eksitotoksitesisi, bakteri/virüs enfeksiyonu, iskemik/hemorajik inme veya oksidatif stres gibi) nöroinflamatuvar yanıtla bağlantılı oksidatif stresi arttıran sitokin aracılı inflamasyon da dahil olmak üzere ilk hasarla sonuçlanır (Şekil 2.31) (Shih ve ark. 2015). Nöroinflamasyon CIPN'nin altında yatan başlıca mekanizmalardan biridir. CIPN modelleri, çeşitli periferik ve merkezi glial aktivasyonu ve pro-inflamatuvar sitokin ekspresyon artışını göstermektedir (Lees ve ark. 2017).

NF-κB transkripsiyon faktörleri beyinde bol miktarda bulunurlar ve burada nöron, glia ve endotelium (serebral kan damarları) arasında çeşitli fonksiyonlara sahiptirler. Yapısal NF-κB transdüksiyon faktörleri nörogenez, sinaptik plastisite, öğrenme ve hafızadan sorumludur. Glial veya endotelial indüklenebilen NF-κB aktivasyonu, sekonder nöron hasarıyla ilgili nöroinflamasyonla ilişkili patogeneizde yer alırken, aktive edilmiş NF-κB

dimerleri bünyesindeki p50/RelA ve p50/c-Rel alt birimleri nörondaki nöronal patogeneze farklı roller oynar (Shih ve ark. 2015). p50/RelA, hasar sonrasında nöronal hücre ölümüne katkıda bulunan divalent metal taşıyıcı-1 (1B/DMT1)'in 1B izoformunun ekspresyonunu indükleyerek hasarı artırır (Ingrassia ve ark. 2012). Ek olarak, p50/c-Rel, Bcl-xL geninin transkripsiyonunu veya mangan süperoksit dismutazı (MnSOD) indükleyerek hasara karşı koruma sağlar (Bernard ve ark. 2001, Pizzi ve ark. 2005). p50/c-Rel dimerlerinin inhibisyonu ve p50/RelA aktivasyonu beyin hasarının patogenezinde önemli olaylardır. NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörleri NF- $\kappa$ B kompleksinin bileşimine ve hücre tiplerine bağlı çeşitli fonksiyonlara sahiptir (Shih ve ark. 2015). Sisplatinin NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklediği yönünde kanıt vardır (Kim ve ark. 2006). Chung ve ark. (2008) sisplatin tedavisi sırasında, nükleusa translokasyonu ile NF- $\kappa$ B aktivasyonunu göstermişlerdir. Diğer bir çalışmada, NF- $\kappa$ B'nin sisplatin'e karşı tümör direncinde histon yapısını modifiye ettiği bulunmuştur (Almeida ve ark. 2014). CIPN'de önemli bir mediyatör olarak NF- $\kappa$ B'nin hedef alınması, muhtemelen kemoterapötikler ile sinerji oluşturarak anti-kanser aktivitesine ilave yarar sağlayarak gelişimini iyileştirir.



Şekil 2.31. NF- $\kappa$ B'nin nörolojik hasardaki rolü (Shih ve ark. 2015)

#### 2.4.2. Gemsitabin ve NF-κB ilişkisi

Gemsitabin terapisini optimize etmek ve başka kemoterapötik ilaçlar ile kombine ederek etkinliğini arttırmak amacıyla çok sayıda çalışma tasarlanmıştır. Kombinasyon tedavisi için değerlendirilen hedeflerden biri NF-κB'dir.

NF-κB, pankreas kanserleri de dahil çoğu kanserde yapısal olarak aktive edilir ve bu durum NF-κB'nin pankreas kanserinin tümör gelişimi ve kemoterapi direncinde kritik bir role sahip olduğunu gösterir (Fujioka ve ark. 2003, Long ve ark. 2011, Arlt ve ark. 2012). Warsame ve Grothey (2012), pankreas kanserinde NF-κB'nin gemsitabin direncini arttırdığını göstermiştir. Bu nedenle, NF-κB sinyal yolunun hedeflenmesi, gemsitabin terapisinin etkinliğinin artırılması açısından önemli bir stratejidir, aynı zamanda pankreas kanseri hastalarının tedavi sonuçlarını iyileştirir (Husain ve ark. 2011).

NF-κB aktivasyonunun apoptozu baskıladığı, hücre büyümesini ve anjiyogenezi arttırdığı, dolayısıyla kemoterapi direnci ve tümörögenез oluşumunu arttırdığı bilinmektedir (Wang ve ark. 1999a, Bharti ve Aggarwal 2002). NF-κB tarafından düzenlenen gen ürünleri kanser hücrelerinin invazyonunu ve metastazını arttırmaktadır (Rayet ve Gelinas 1999). Dolayısıyla, NF-κB aktivasyonunun inhibisyonu pankreas tümörögenезini, pankreas kanserinin anjiyogenik potansiyelini ve metastazını baskılamak için yeterlidir (Fujioka ve ark. 2003). Bütün bu bulgular, NF-κB aktivasyonunu baskılayan kemoprevantif ajanların, NF-κB sinyal yolunun inhibisyonu ile gemsitabine karşı kemorezistansı azaltabileceğini işaret etmektedir. Bu nedenle, kemoprevantif ajanların gemsitabin ile kombine kullanımı pankreas kanseri için yeni bir tedavi yaklaşımı sağlayacaktır (Qanungo ve ark. 2014).

Çeşitli çalışmalarda, NF-κB aktivasyonunu ve NF-κB tarafından düzenlenen gen ekspresyonunu inhibe eden, örn. resveratrol, genistein, kürkümün, fisetin, tokotrienoller, pristimerin, yeşil çay polifenoller (EGCG), sülforafan, sarımsak, benzil izotiyosiyanat ve piperlongumin gibi doğal bileşikler, pankreas kanseri tedavisinde sinerjiyi araştırmak amacıyla gemsitabin ile kombine edilmiştir (Yu ve Kim 2014, Singh ve ark. 2015).

Kunnumakkara ve ark. (2007) kürkümün'in, pankreas kanseri hücreleri (MIA PaCa-2) enjekte edilmiş ortotopik fare modelinde, proliferasyonu, anjiogenezi, NF- $\kappa$ B ve NF- $\kappa$ B tarafından düzenlenen gen ürünlerinin aktivasyonunu [örneğin: siklin D1, c-Myc, Bcl-2, Bcl-xL, hücrel apoptoz inhibitör protein-1 (cIAP-1), siklooksijenaz-2 (COX-2), matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve vasküler endotelyal büyüme faktörünü (VEGF)] baskılayarak gemsitabinin anti-tümör etkisini artırdığı göstermiştir.

Banerjee ve ark. (2005b) pankreas kanseri hücrelerinin (COLO 357 ve L3.6pl), esasen soya fasulyesinde ve soya fasulyesi ile zenginleştirilmiş ürünlerde bulunan doğal bir izoflavon olan genistein ile ön tedavisinin ardından gemsitabin ile tedavi edilmesinin, gemsitabinin tek başına kullanımı ile elde edilen %25 ila %30 büyüme inhibisyonuna kıyasla %60 ila %80 oranında büyüme inhibisyonuna yol açtığını göstermiştir. Araştırmacılar, büyüme inhibisyonunun NF- $\kappa$ B sinyal yolunun genistein tarafından inaktivasyonu ile doğrudan korele olduğunu ve bu durumun, ayrıca, gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu ortadan kaldırarak fare pankreas tümörlerinin gemsitabine karşı hassasiyet kazandığını bildirmişlerdir.

Mohammad ve ark. (2005) genisteinin, NF- $\kappa$ B'nin DNA'ya bağlanma aktivitesini inhibe ederek Bcl-2, Bcl-xL, VEGF, MMP-9 ve uPAR'ı (ürokinaz tipi plazminojen aktivatör reseptörü) down regüle ettiğini ve BxPC-3 insan pankreas kanseri hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Ek olarak, (-)-gossypol (pamuk tohumlarından izole edilen doğal bir polifenolik bileşik; Bcl-2 ve Bcl-xL proteinlerinin peptid olmayan küçük molekül inhibitörüdür) ile genistein kombinasyonu ajanların tek başına kullanılmasına kıyasla anlamlı olarak daha fazla büyüme inhibisyonu göstermiştir.

Husain ve ark. (2011), 4 doğal tokotrienolün ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -tokotrienol), doymamış doğal olarak bulunan vitamin E bileşiklerinin, pankreas kanserini ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu inhibe etmekteki biyoaktivitesini *in vitro* ve *in vivo* incelemiştir. Pankreas kanseri hücreleri ve tümörlerinde  $\delta$ -tokotrienolün gemsitabin aktivitesini arttırmasının, NF- $\kappa$ B aktivasyonunun ve NF- $\kappa$ B ile düzenlenen gen ürünleri (Bcl-xL, X-bağlı apoptoz inhibitörü/XIAP ve survivin) ekspresyonunun önemli derecede baskılanması ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir. Hussein ve Mo (2009), d- $\delta$ -tokotrienolün insan pankreas



kanseri hücrelerinin (Panc-1, MIA PaCa-2, BxPC-3) proliferasyonunu baskıladığını göstermiştir.

Kunnumakkara ve ark. (2010), yapısal olarak aktif NF- $\kappa$ B ve NF- $\kappa$ B ile düzenlenen gen ürünlerinin (örn. siklin D1, c-Myc, VEGF, MMP-9, CXCR4)  $\delta$ -tokotrienol tarafından inhibisyonunun;  $\delta$ -tokotrienolün gemsitabin ile indüklenen apoptozu güçlendirmesinin yanı sıra gemsitabinin, nude farelerde insan pankreas tümörlerine (MIA PaCa-2) karşı anti-tümör etkileri ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

Wang ve ark. (2012) pristimerinin, *Celastraceae* ve *Hippocrateaceae*'den izole edilen, doğal olarak oluşan bir kinonmetid triterpenoid bileşiği, G1-fazında hücre siklusunun durdurulmasını ve apoptozu indükleyerek pankreas kanseri hücrelerinin (BxPC-3, PANC-1 ve AsPC-1) büyümesini baskıladığını ve gemsitabin ile indüklenen hücre ölümüne karşı duyarlılaştırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar, pristimerinin pankreas kanseri hücrelerindeki etkilerinin NF- $\kappa$ B aktivasyonunun inhibisyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

Kurbitz ve ark. (2011), CG (kateşin gallat) ve ECG'nin (epikateşin gallat) pankreas kanseri hücrelerinde (PancTu-I) potansiyel antikanser ve anti-inflamatuvar özelliklerini EGCG (epigallokateşin gallat) ile karşılaştırmalı olarak göstermiştir. Kateşinlerin, özellikle ECG'nin TNF- $\alpha$  ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu neredeyse tamamen bloke ettiğini bulmuşlardır.

Banerjee ve ark. (2005a), timokinon, çörek otu (*Nigella sativa*) yağından ekstrakte edilen aktif bir bileşik, ön-tedavisinin gemsitabin ve/veya oksaliplatin ile kombinasyonunun, ilaçların tek başına verilmesine kıyasla daha fazla antitümör aktiviteye neden olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, fare pankreas tümörlerinde (HPAC) NF- $\kappa$ B aktivasyonunun, Bcl-2 ailesinin ve NF- $\kappa$ B-bağımlı antiapoptotik genlerin (örn. survivin, Bcl-xL, XIAP ve COX-2) down regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

NF- $\kappa$ B inhibisyonu NSCLC'yi gemsitabin ile indüklenen apoptozu maruz kalması için duyarlılaştırır (Jones ve ark. 2000). Önceki raporlarda NF- $\kappa$ B'nin, c-IAP'lerin (apoptoz proteinlerinin inhibitörü) ve Bcl-2 homologu A1'nin transkripsiyonel regülasyonu ile anti-apoptotik sağkalıma katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (Wang ve ark. 1998,

1999a, b). Buna karşın, NF- $\kappa$ B, Fas ve FasL dahil bazı apoptotik moleküllerin ekspresyonuna katıldığı için aynı zamanda bir pro-apoptotik faktör olarak da kabul edilmektedir (Kasibhatla ve ark. 1998).

Chang ve ark. (2004), gempitabininin insan NSCLC (H1299) hücrelerinde p53'ten bağımsız bir şekilde NF- $\kappa$ B bağlanma aktivitesini indüklediğini bulmuştur. NF- $\kappa$ B inhibisyonunun gempitabin ile tetiklenen apoptoz üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla, NF- $\kappa$ B inhibitörü olan pirolidin ditiyokarbamat (PDTC) etkisini incelemiştir (Wright ve ark. 2002). PDTC ile tek başına tedavi apoptoz insidansını değiştirmemiştir. Ancak, PDTC tedavisi hücreleri gempitabine duyarlı hale getirmiştir. Apoptotik hücrelerin fraksiyonu, PDTC/gempitabin kombinasyon tedavisinde tek başına gempitabin tedavisine kıyasla anlamlı olarak artmıştır. p53-bağımsız ERK (hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz) aktivasyonunun, H1299 ve H1299/p53 hücrelerinin gempitabin ile indüklenen apoptoza aracılık edilmesinde önemli rol oynadığını ve apoptotik sinyali başlatmak üzere Bcl-2 proteininin indirgenmesinin ve sitozolik sitokrom-c'nin birikmesinin öncesinde işlev gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca, Akt inaktivasyonu da gempitabin ile indüklenen apoptoz ile açıklanmıştır (Chang ve ark. 2004).

Arlt ve ark. (2003) pankreas karsinoma hücre hatlarının gempitabin ile indüklenen hücre ölümüne karşı direncinde NF- $\kappa$ B ve PI3K/Akt'nin rolünü araştırmıştır. Gempitabin (0,04–20  $\mu$ M) ile 24 saat süreyle tedavi, duyarlı hücre hatları PT45-P1 ve T3M4 hücrelerinde apoptozu indüklerken, BxPc-3, Capan-1 ve PancTu-1 hücrelerinde indüklememiştir. Bu dirençli hücre hatları duyarlı hücre hatlarının aksine yüksek bazal NF- $\kappa$ B aktivasyonu göstermiştir. Ayrıca, gempitabin doza bağımlı NF- $\kappa$ B indüksiyonu göstermiştir. NF- $\kappa$ B'nin MG132, sülfasalazin veya I $\kappa$ B- $\alpha$  super-repressor tarafından inhibisyonu gempitabine (0,04-20  $\mu$ M) karşı direnci önemli ölçüde azaltmıştır. NF- $\kappa$ B aktivasyonu ile gempitabin direnci arasındaki belirgin korelasyonun aksine, PI3K/Akt aktivasyonu pankreas kanseri hücre hatlarında gempitabin direnci ile korelasyon göstermemiştir.

Cascinu ve ark. (2007) pankreas kanserinde gempitabin ve oksaliptatin ile bağlantılı bir COX-2 inhibitörünün (selekoksib) kullanımına ilişkin olarak COX-2 ve NF- $\kappa$ B ekspresyonunun rolünü araştırmıştır. COX-2 inhibitörünün kullanılması, COX-2 ve NF-

$\kappa$ B'yi aşırı eksprese eden tümörleri olan hastalarda bile gemsitabin/oksaliplatin kombinasyonuna herhangi anlamlı bir etki katmamıştır.

Banerjee ve ark. (2009) turpgiller familyası bitkilerinden elde edilen doğal bir bileşik olan 3,3'-diindolilmetanın (DIM), konstitütif ve kemoterapötik ilaçla indüklenmiş NF- $\kappa$ B aktivasyonunu ve sonrasındaki genleri (survivin, Bcl-xL, XIAP ve c-IAP) down regüle ederek pankreas kanseri hücrelerinin ölümünü arttırdığı *in vivo* ve *in vitro* deneylerle gösterilmiştir.

Ortotopik fare modelinde (PANC-1), DIM oksaliplatin ile birlikte verildiğinde tümör boyutu monoterapiye kıyasla anlamlı olarak azalmıştır. İlave analizler DIM tedavisinin pankreas tümörlerinde phospho-p65 kaybına, NF- $\kappa$ B aktivasyonunun ve sonrasındaki genlerin down regülasyonuna neden olduğunu göstermiştir, bu durum hücre proliferasyonunda azalma ve apoptozda artış ile koreledir. Bu sonuçlar DIM'in kemoterapötik ilaçla (sisplatin, gemsitabin ve/veya oksaliplatin) indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu ortadan kaldırarak pankreas tümörlerinin alışlageldik terapilere kemosensitizasyonuna yol açtığını göstermektedir (Banerjee ve ark. 2009).

Arora ve ark. (2013), CXCR4 sinyallemesinin pankreas kanseri hücrelerinin gemsitabin direncinde önemli rol oynadığını göstermiştir. Gemsitabin tedavisinin, ROS'a bağımlı, NF- $\kappa$ B ve HIF-1 $\alpha$  aracılı CXCR4 upregülasyonu yoluyla pankreas kanseri hücrelerinin (MIA PaCa-2 ve Colo357) invazivliğini artırdığını göstermişlerdir.

Qanungo ve ark. (2014), glutasyon (GSH) prekürsörü olan *N*-asetil-L-sisteinin (NAC), insan pankreas kanseri hücrelerinde (MIA PaCa-2) p65-NF- $\kappa$ B'nin *S*-glutatyonylasyonu yoluyla NF- $\kappa$ B aktivasyonunu önlediğini ve gemsitabin tedavisinin pankreas tümörlerindeki etkinliğini artırdığını göstermişlerdir. Gemsitabin ve NAC tek başlarına *in vivo* MIA PaCa-2 tümör büyümesini azaltmakta etkili bulunmamıştır. Ancak, NAC ve gemsitabin ile kombinasyon tedavisi tümör büyümesini yaklaşık %50 oranında azalttığı ve NAC tedavisinin gemsitabin ile tedavi edilen farelerde apoptotik hücre ölümünü indüklediği gösterilmiştir.

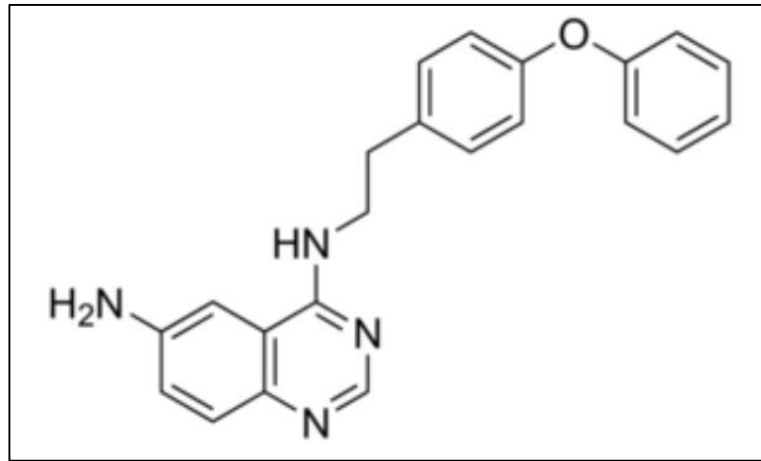
Yukarıda gösterilen çalışma sonuçlarına göre, gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu kemoterapi direncine neden olmaktadır. Yeni bir tedavi stratejisi olarak,

Horiuchi ve ark. (2016), kuvvetli bir NF-κB inhibitörü olan nafamostat mesilatın (NM), National Comprehensive Cancer Network guidelines (NCCN) tarafından önerilen metastatik pankreas duktal karsinomu tedavisinde birinci derecede tavsiye edilen gemsitabin (GEM) + nab-paklitaksele (nPTX) ilavesinin, metastatik pankreas duktal karsinomu tedavisinde NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek antitümör etkiyi arttırdığını göstermiştir.

Bütün olarak ele alındığında, bu gözlemler NF-κB'nin kimyasal koruyucu ve kimyasal hassaslaştırıcı etki için ideal bir hedef olduğunu işaret etmektedir (Bharti ve Aggarwal 2002). Bu nedenle, spesifik NF-κB inhibitörleri ve NF-κB yolunu hedef alan diğer moleküler terapiler pankreas kanseri için kuvvetli antikanser tedavi sağlayabilmektedir.

#### 2.4.3. NF-κB inhibitörü (QNZ EVP4593)

QNZ EVP4593, transkripsiyon faktörü NF-κB'nin aktivasyonunu inhibe etmektedir ve NF-κB sinyal yolağının araştırılması için kullanılmaktadır. QNZ, kalsiyum depoları tarafından işletilen Ca<sup>+2</sup> girişini (SOC, store-operated calcium) inhibe ederek etki gösteren, NF-κB sinyal yolu aktivasyonunun yüksek afiniteli kısmi bir antagonistidir (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/sml0579?lang=en&region=TR>, 2017) (Şekil 2.32).



**Şekil 2.32.** QNZ EVP4593 (6-amino-4-(4-fenoksifenetil-amino)kinazolin) kimyasal yapısı

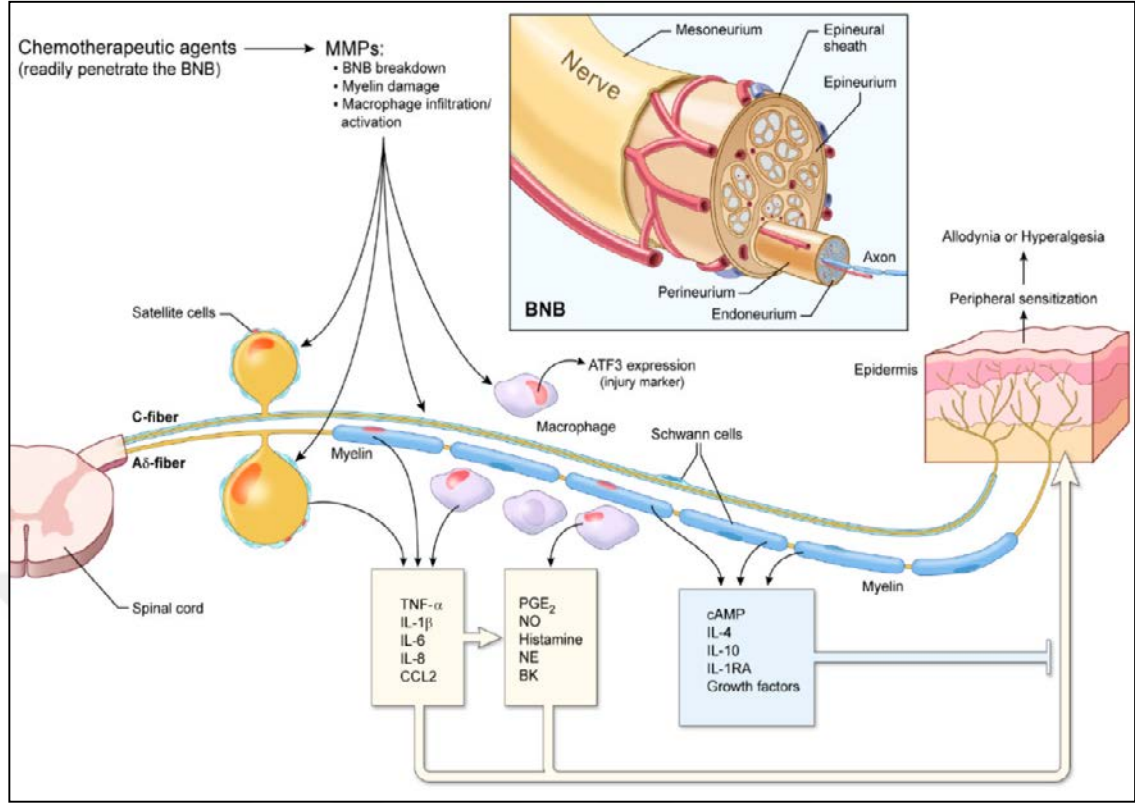
#### 2.4.4. Periferik nöropatiyle ilgili sitokinler

Birden çok klinik ve deneysel çalışma, pro-inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin kemoterapötik ajanlarla ilgili ağrılı periferik nöropatinin patogenezinde yer aldığına ilişkin kanıt sağlamaktadır. İnflamatuvar kaskad aktivasyonu, pro-inflamatuvar sitokin up regülasyonu ve nöro-immün iletişim CIPN'nin başlamasında ve ilerlemesinde önemli rollere sahiptir (Wang ve Lehy 2012).

Kemoterapötik ajanlarla indüklenen ağrı, büyük olasılıkla ajanın sinir dokuları üzerindeki doğrudan etkisinden veya kemoterapötik ajanlarla indüklenen inflamasyonun aracılık ettiği bir etkiden kaynaklanmaktadır. Kemoterapötik ajanlar Schwann hücrelerinde, DRG'lerde ve periferik sinirlerde matriks metalloproteinazların (MMP'ler) up regülasyonunu indükler. Çok sayıda çalışma, MMP'lerin sinir hasarını takiben inflamatuvar ve dejeneratif süreçlerde önemli rol oynadığını göstermektedir (Lakhan ve Avramut 2012, Wang ve Lehy 2012) (Şekil 2.33).

MMP'ler CIPN patogenezinde farklı roller uygularlar:

- i) MMP'ler bazal membranın hücre dışı matris bileşenlerini bozarak KSB'yi bozabilen tek proteazlardır,
- ii) MMP'ler miyelin kılıfını doğrudan bozarlar,
- iii) MMP'ler DRG ve periferik sinirlerde inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu, infiltrasyonunu ve aktivasyonunu indükler,
- iv) MMP'ler inflamatuvar hücreleri TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 inflamatuvar sitokinlerini ve CCL2 kemokini salmaları ve aktive etmeleri için indükler.
- v) MMP'ler primer afferent (duyusal) nöronlar üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak etki ederek, kemoterapi infüzyonu sonrası periferik nöropatik ağrının işlenmesine katkıda bulunan periferik sinirlerin aşırı duyarlılığını indüklerler (Wang ve Lehy 2012).



**Şekil 2.33.** CIPN patogenezindeki sitokin ağı için önerilen bir diyagram (Wang ve Lecky 2012)

Son yıllarda, bağışıklık hücreleri (örn., makrofajlar, lenfositler, nötrofiller, mast hücreleri) ve PSS'deki glia hücreleri (örn., Schwann hücreleri ve satellit hücreleri) ve MSS'deki glia hücreleri (örn., astrositler ve mikroglia) gibi nöronal olmayan hücrelerin de kronik nöropatik ağrı sürecinde kritik rol oynadığı giderek artan şekilde kabul görmektedir (McMahon ve ark. 2005, Moalem ve Tracey 2006, Thacker ve ark. 2007, Gao ve Ji 2010). Kemoterapötik ajanların uygulanmasından sonra periferik sinirler ve DRG'de nöronlar ve çevresindeki satellit hücreler; DRG, periferik sinirler ve Schwann hücrelerindeki aktif makrofaj sayısındaki artışa da yol açan belirgin patolojik değişiklikler gösterirler (Peters ve ark. 2007a, b).

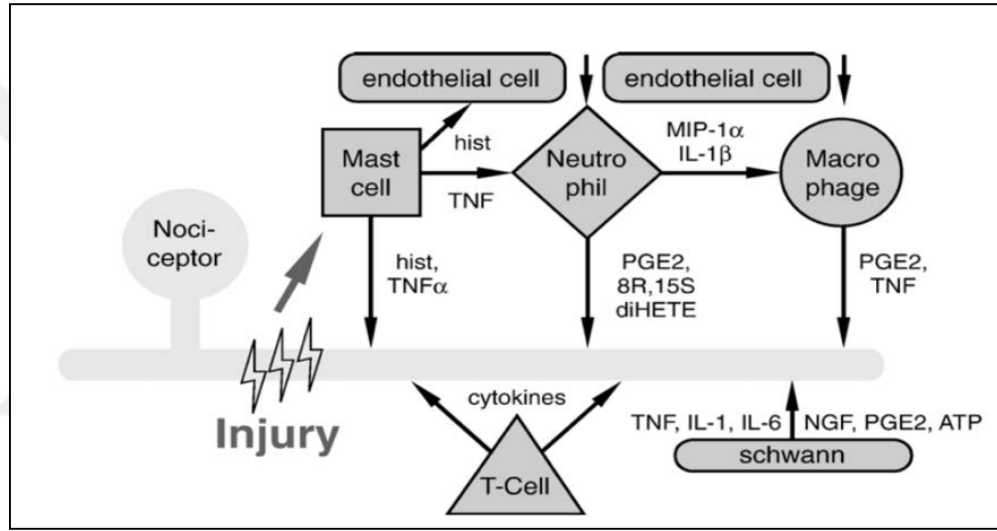
CIPN patogenezinde hem nöronal hem de nöronal olmayan hücrelerin yer almasına karşın, nöro-immün etkileşimin altında yatan moleküler mekanizmalar ve sitokinlerin/kemokinlerin CIPN bağlamındaki etkileri tam olarak anlaşılmamıştır. Bağışıklık sistemi ile sinir sistemi arasındaki fonksiyonel etkileşimin nöropatik ağrının altında yatan mekanizmalarda çok önemli rollere sahip olduğu yönündeki kanıtlar giderek

artmaktadır. Sinir hasarının ardından, inflamatuvar yanıt kademeli olarak başlatılır ve çeşitli inflamatuvar hücreler sinir hasarı bölgesine toplanır (Kim ve Moalem-Taylor 2011). Başıklık hücrelerinin PSS'ye girişine ek olarak, hem makrofajlar hem de T lenfositler, DRG'deki nöronlar ve satellite hücreleri ile ve ayrıca Schwann hücreleri ile iletişim kurar. Kemoterapi tedavisinin nöropatik ağrı modellerinde, aktive edici transkripsiyon faktörü 3 (ATF3; hücrel hasar markeri) makrofaj girişi ile aynı lokasyonlarda kuvvetli şekilde eksprese edilir (Peters ve ark. 2007b, Hunt ve ark. 2012). Genel olarak, nöronal olmayan hücrelerin/ağırlıklı olarak başıklık hücrelerinin ve glia hücrelerinin, pro-inflamatuvar sitokinler/kemokinler gibi kuvvetli nöromodülatörler üreterek ve salarak nöropatik ağrıyı artırdığı ve devam ettirdiği düşünülmektedir, bu nöron-immün iletişimini kolaylaştıran primer mekanizmalardan biridir (McMahon ve ark. 2005, Zhang ve An 2007, Gao ve Ji 2010, Wang ve Lehy 2012).

Kemoterapiyle indüklenen sinir hasarına yanıt olarak, inflamatuvar hücrelerin girişi aynı zamanda mevcut başıklık hücrelerinin aktivasyonu: pro-inflamatuvar sitokinler (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$ ), çeşitli kemokinler (CCL2, CXC ailesi), büyüme faktörleri ve örneğin bradikinin, prostaglandinler (PG), serotonin, histamin, eikosanoidler, ATP, ROS ve nitrik oksit (NO) gibi inflamatuvar aracı moleküller dahil çeşitli mediyatörlerin üretilmesine ve salgılanmasına yol açar (Scholz ve Woolf 2002, McMahon ve ark. 2005, Moalem ve Tracey 2006, Costigan ve ark. 2009, Gao ve Ji 2010, Wang ve Lehy 2012) (Şekil 2.34). Bu mediyatörler hasar görmüş sinirde artan inflamatuvar yanıt mekanizması olarak işlev görür, nöro-immün aktivasyonunu teşvik eder, primer afferent nöronları duyarlılaştırır ve nöropatik ağrı aşırı duyarlılığının oluşturulmasını ve sürdürülmesini sağlar (Moalem ve Tracey 2006). Bu mediyatörler doğrudan DRG nöronal hücre gövdeleri, periferik sinir uçları ve aksonlar üzerinde bulunan nöronal reseptörlere etki ederek periferik duyarlılaşmaya yol açabilir (Moalem ve Tracey 2006, Gao ve Ji 2010, Kim ve Moalem-Taylor 2011).

Pro-inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin ağrı üzerindeki aljezik etkileri, afferent lifler üzerinde doğrudan reseptör aracılı etkiler olabilir veya kendileri ağrı hissine yol açan ajanların (örn., PGE2) ekspresyonunu indüklemek gibi başka mediyatörleri içeren dolaylı etkiler olabilir (Sommer ve Kress 2004). Bir sitokin veya kemokin ligandının reseptörüne bağlanması reseptörün aktivasyonuna yol açar ve bu da sitokin salımı, hücre

adezyonu, fagositoz, hücre aktivasyonu, hücre proliferasyonu, hücre sağkalımı, hücre ölümü, apoptoz, anjiyogenez ve proliferasyon gibi çeşitli hücresel fonksiyonları düzenleyen bir dizi sinyal olayını tetikler (Ramesh ve ark. 2013). Bu nedenle, aktive edilmiş makrofajlar, DRG'deki satellite hücreleri ve Schwann hücreleri tarafından pro-inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin salınması CIPN'deki ağrı semptomunun primer nedeni olabilir, bu semptom kemoterapi tedavisi almakta olan çoğu kanser hastasındaki başlangıçtaki periferik nöropati bulgusudur. Ayrıca, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini hedeflemek, özellikle ağrı semptomu için CIPN'nin önlenmesi ve giderilmesinde umut verici bir terapötik strateji olabilir (Wang ve Lehky 2012).



**Şekil 2.34.** Periferik sinir hasarı mevcut bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve inflamatuvar hücrelerin sinir hüresine alınması (Moalem ve Tracey 2006)

Schwann hücreleri; TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, PGE2, adenozin trifosfatı (ATP), sinir büyüme faktörü (NGF), lösemi inhibitör faktörü (LIF) ve CCL2 salar (Moalem ve Tracey 2006). Bu moleküller, makrofaj girişini ve nöroinflamasyonu teşvik ederek periferik nöropatinin gelişimi için potansiyel mediyatörler olarak bilinmektedir. Schwann hücreleri, pro-inflamatuvar sitokinleri dengelemek ve aksonları daha fazla hasardan korumak için ayrıca anti-inflamatuvar faktörler IL-10, IL-4, TGF- $\beta$ , IL-1RA (interlökin-1 reseptör antagonisti), cAMP, büyüme faktörleri ve eritropoietin üretirler (Wang ve Lehky 2012). Bu bulgular; pro-inflamatuvar sitokinlerin, hiperaljezi (zararlı bir uyarandan uyarılmış ağrı) ve allodini (zararsız bir uyarandan uyarılan ağrı) dahil nöropatik ağrı ve inflamatuvar ağrıyı indüklediğine veya kolaylaştırdığına ancak anti-inflamatuvar



sitokinlerin (örneğin IL-10, IL-4, TGF- $\beta$ ) kanser kemoterapisi almakta olan hastalarda periferik nöropati gelişimini ve ilerlemesini yavaşlatma potansiyeline sahip olduğuna dair kanıt sağlamaktadır (Sommer ve Kress 2004, Schafers ve Sorkin 2008, Miller ve ark. 2009, Gao ve Ji 2010).

#### **2.4.5. Periferik sinir hasarında inflamatuvar sitokinlerin rolü**

Sitokinler; inflamasyonu ve metabolizmayı düzenlemek ve büyüme, sağkalım ve farklılaşma gibi hücrel aktiviteyi modüle etmek için pikomolar ( $10^{-12}$  M) veya nanomolar ( $10^{-9}$  M) konsantrasyonlarda hücre sinyali molekülleri olarak davranan küçük bir protein sınıfıdır (yaklaşık 5-20 kDa) (Ramesh ve ark. 2013, Roshani ve ark. 2014).

Sitokinler varsayılan fonksiyonlarına, salgılandıkları hücrelere veya etki hedeflerine göre kemokin, interferon, interlökin, lenfokin, monokin ve tümör nekroz faktörü (TNF) olarak sınıflandırılmıştır. Sitokinler makrofajlar, B lenfositler, T lenfositler, nötrofiller, bazofiller, eozinofiller ve mast hücreleri gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra endotelial hücreler, fibroblastlar ve çeşitli stromal hücreler tarafından salınır (Zhang ve An 2007). Sitokinler yapısal homolojilerine veya reseptörlerine göre familyalar şeklinde gruplandırılmış geniş ve çeşitli pro- veya anti-inflamatuvar faktör grubudur. Kemokinler, hücre migrasyonunu indüklemek için önemli işlevlere sahip ayrıca glia ve nöronlar tarafından salınan, sitokin ailesi içinde salgılanan proteinlerin bir grubudur (Ramesh ve ark. 2013).

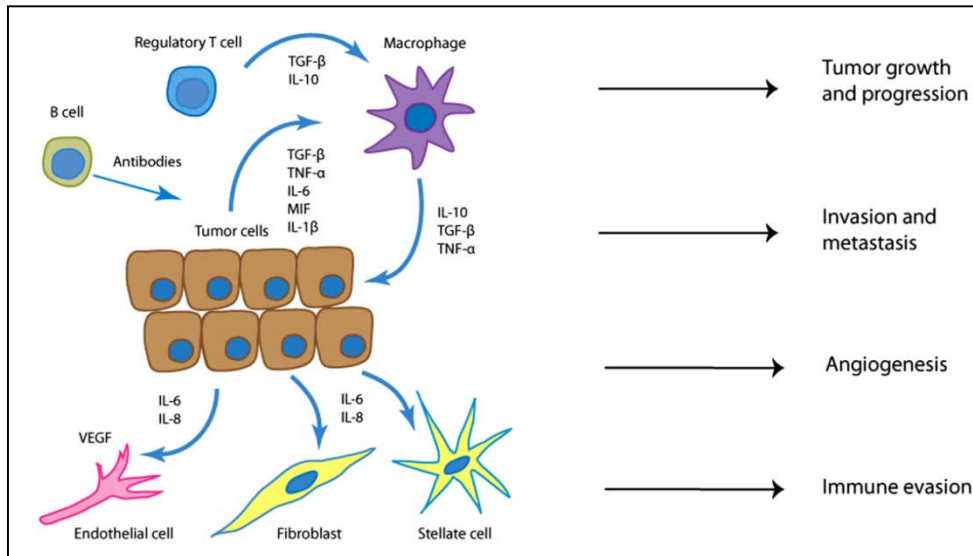
Sitokinler reseptörler aracılığı ile etki ederler ve özellikle bağışıklık sisteminde önemlidirler; hücrel ve hücrel immün yanıtları arasındaki dengeyi modüle ederler ve belirli hücre popülasyonlarının olgunlaşmasını, büyümesini ve cevap verme yeteneğini düzenlerler. Sitokinler sağlıkta ve hastalıkta önemlidir; enfeksiyona, immün yanıtlarına, inflamasyona, travmaya, sepsise ve kansere yanıt verir. Bu nedenle, sitokin ve kemokinlerin disregülasyonu hem merkezi hem de periferik sinir sisteminde nöroinflamasyon, nörodejenerasyon ve demiyelinasyon gelişiminin ve nöropatik ağrı patogenezinin merkezinde yer alan bir özelliktir (Ramesh ve ark. 2013).

Wang ve ark. (2009), sitokin (IL-6, IL-8) ve kemokin (CCL2) gen ekspresyonunun up regülasyonunun akut inflamasyon ve inflamatuvar ağrı gelişimine katkıda bulunduğunu göstermişlerdir. Uceyler ve ark. (2010) IL-6 ve IL-8 gen ekspresyonunun ağrılı periferik

nöropatisi olan hastalardan alınan etkilenmiş deri biyopsilerinde anlamlı olarak up regüle edilmiş olduğunu göstermiştir. Bu bulgular pro-inflamatuvar sitokinlerin/kemokinlerin insanlarda ve hayvanlarda akut ve kronik periferik ağrı patogenezinde yer aldığına ilişkin kanıt sağlamaktadır (Wang ve Lehy 2012).

Sinir hasarının, nöropatik ağrı sürecinde yer alan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  dahil bazı pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu ve salgılanmasını artırdığını gösteren çok sayıda kanıt vardır (Uceyler ve ark. 2007, Zhang ve An 2007, Costigan ve ark. 2009, Fregnan ve ark. 2012, Lees ve ark. 2013, Ramesh ve ark. 2013, Sykam ve ark. 2015, Allison ve ark. 2016).

Çeşitli çalışmalarda pankreas kanseri hastalarından elde edilen plazma ve/veya serum numunelerinde hem pro-inflamatuvar sitokinlerinin (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MIF (makrofaj migrasyonu inhibe edici faktör) hem de anti-inflamatuvar sitokinlerin (IL-10 ve TGF- $\beta$ ) sağlıklı kontrollere kıyasla aşırı eksprese edildiği gösterilmiştir (Friess ve ark. 1999, Wigmore ve ark. 2002, Li ve ark. 2008, Talar-Wojnarowska ve ark. 2009, Miron ve ark. 2010, Blogowski ve ark. 2014). Sitokinler, tümör mikro ortamını modüle ederek ve aynı zamanda büyüme, yayılma, metastaz, anjiyogenez ve bağışıklıktan kaçma için kanser hücreleri üzerinde doğrudan etki göstererek pankreas tümör hücresi ilerlemesini destekler (Roshani ve ark. 2014) (Şekil 2.35).



**Şekil 2.35.** Pankreas tümörü mikro ortamındaki sitokinlerin hücresel kaynağı (Roshani ve ark. 2014)

Tümör mikro ortamı içerisindeki çeşitli hücre tipleri çeşitli sitokinler üretirler. Bu sitokinler kompleks bir ağ üzerinden diğer hücre tipleri ile etkileşime girerler (Roshani ve ark. 2014). İnterlökinler (IL) ilk olarak beyaz kan hücreleri (lökositler) tarafından eksprese edildiği gözlenen bir grup sitokindir. Bağışıklık sisteminin fonksiyonu büyük ölçüde interlökinlere bağlıdır ve hepside otoimmün hastalıklar veya bağışıklık eksikliğinde ortaya çıkmaktadır. İnterlökinlerin büyük bir kısmı yardımcı CD4+ T lenfositler ve ayrıca monositler, makrofajlar ve endotelyal hücreler tarafından sentezlenmektedir. T ve B lenfositlerinin ve hematopoietik hücrelerin gelişimini ve farklılaşmasını destekler (<https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin>).

#### **2.4.5.1. IL-1**

İnterlökin-1 ailesi (IL-1 ailesi), bağışıklık ve inflamatuvar yanıtlarının düzenlenmesinde merkezi rol oynayan, 11 sitokinden oluşan bir gruptur. IL-1 hücre hasarı, enfeksiyon, invazyon ve inflamasyon sırasında yoğun olarak makrofajlar, monositler, fibroblastlar, dendritik hücreler tarafından üretilir, aynı zamanda B lenfositler, NK (doğal öldürücü) hücreler, endotelyal hücreler ve epitelyal hücreler tarafından eksprese edilir (Zhang ve An 2007, Dinarello 2009, Weber ve ark. 2010a, Contassot ve ark. 2012). Yapılan çalışmalar IL-1'in akut (örn. inme, travmatik beyin hasarı, epilepsi) ve kronik (örn. multipl skleroz, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı) nörodejeneratif MSS bozukluklarında yer aldığını göstermektedir (Allan ve Rothwell 2003, Allan ve ark. 2005, Lucas ve ark. 2006, Simi ve ark. 2007).

IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ , IL-1 reseptör tip I (IL-1RI) olarak adlandırılan aynı reseptör moleküle bağlanırlar. Üçüncü bir spesifik ligand, IL-1 reseptör antagonisti [(IL-1Ra, ticari olarak Anakinra olarak bilinmektedir (marka adı Kineret)] IL-1RI'ye benzer spesifite ve afinite ile bağlanır ancak reseptörü aktive etmez ve downstream sinyal oluşumunu tetiklemez. Dolayısı ile, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ile reseptörün bağlanma bölgeleri için yarıştığından, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  sinyal oluşumu için bir inhibitör olarak etki eder (Weber ve ark. 2010a, Dinarello 2011). Rekombinant IL-1Ra (Anakinra) insanlarda terapötik olarak kullanılır ve romatoid artrit tedavisi için onaylanmıştır (Dinarello 2004, Brzustewicz ve Bryl 2015).

IL-1 $\alpha$  veya IL-1 $\beta$ ; monositler, makrofajlar, epitelyal ve endotelyal hücreler, kondrositler veya fibroblastlar gibi çok sayıda farklı hücre tipinde yüzlerce genin mRNA ekspresyonunu hızla indükler. IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin güçlü pro-inflamatuvar etkileri üç ana kontrol düzeyinde kısıtlıdır:

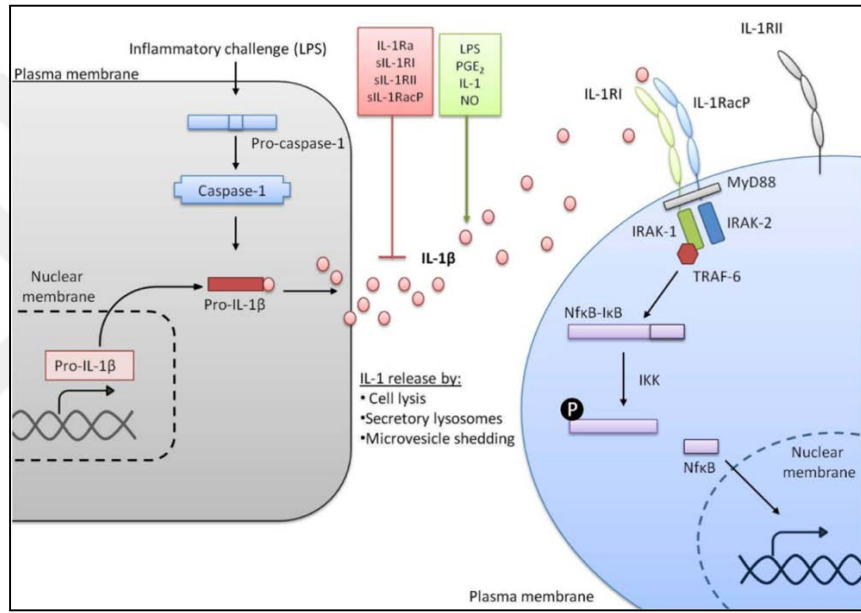
- (i) Başlangıçta interlökin-1 $\beta$  dönüştürücü enzim (ICE) olarak adlandırılmış olan, IL-1 $\beta$  sürecinde proteaz kaspaz-1 aktivasyonunu kontrol eden bir multiprotein kompleksi olan NALP3-inflamazom tarafından sentez ve salımın kontrolü, (*NALP3 PAMP'lerin yanı sıra DAMP'leri algılayan büyük NOD benzeri reseptör (NLR) ailesine aittir*) (Weber ve ark. 2010b).
- (ii) membran reseptörlerinin kontrolü,
- (iii) aktive edilmiş reseptörlerden sonra hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesi.

Bu yol, IL-1 yanıtını artıran veya sonlandıran pozitif ve negatif geri bildirim mekanizmaları dahil IL-1 $\alpha$  veya IL-1 $\beta$ 'nin hücre dışı ve hücre içi sinyal yolunu özetlemektedir (Weber ve ark. 2010a).

IL-1 tipi sitokinlerin esas fonksiyonu, patojenlerle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler, örneğin viral veya bakteriyel ürünler, LPS, viral DNA'lar, bakteriyel peptidoglikanlar ve toksinler) veya hasarla ilişkili moleküler paternler (DAMP'ler, örneğin ürik asit kristalleri, ATP, sitoplazmik DNA, ROS, ısı şok proteinleri/HSP90, alüminyum tuzları, amiloid, düşük potasyum, asbest ve silika kristalleri, deri iritanları, UV ışınlaması) ile doku hasarına yanıt olarak pro-inflamatuvar reaksiyonların kontrol edilmesidir (Dinarello 2009, Weber ve ark. 2010b, Contassot ve ark. 2012).

IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  aktivitesini neredeyse bütün hücre tipleri tarafından eksprese edilen IL-1RI'e bağlanma ve sinyal iletim yoluyla gerçekleştirir. Bunun ardından, IL-1/IL-1RI komplekslerinin sinyal iletimi için gerekli olan ko-reseptör IL-1RAcP (IL-1 reseptör aksesuar protein)'nin bağlanması izler. Reseptör heterodimerik kompleks IL-1, IL-1RI ve IL-1RAcP'den oluşur. Her IL-1RI'nin sitoplazmik kısmı bir Toll-IL-1 reseptör domaini (TIR) taşır, bu domain aynı zamanda bütün Toll benzeri reseptörlerde de (TLR'ler) bulunduğundan, IL-1'in inflamasyon ve doğuştan bağışıklıktaki önemli rolüne işaret eder. Heterodimerik kompleks, TIR bölgeleri olarak adlandırılan korunmuş sitoplazmik bölgeler aracılığıyla hızla iki hücre içi sinyal iletim proteinini, MyD88 (miyeloid

farklılaşma primer yanıt proteini 88) ve IRAK'ları (IL-1 reseptör ilişkili protein kinazlar) birleştirir ve ardından transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel mekanizmalarla IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , I $\kappa$ B $\alpha$ , INOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz), MCP-1 (monosit kemoatraktan protein 1), COX-2 (siklooksijenaz 2), MKP-1 (MAP kinaz fosfataz-1)] gibi çeşitli hedef genlerin ekspresyonunu up regüle eden hücre içi sinyal iletim yollarını (NF- $\kappa$ B, c-Jun N terminal kinaz (JNK) ve p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolları) aktive eder (Dinarello 2011, Pahl 1999, Simi ve ark. 2007, Weber ve ark. 2010a, Contassot ve ark. 2012, Murray ve ark. 2015) (Şekil 2.36).



**Şekil 2.36.** IL-1 sinyal iletim yolu (Murray ve ark. 2015)

IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonu, örneğin makrofajların ve dendritik hücrelerin TLR4 agonisti LPS'ye (lipopolisakkarit) maruz kalmasıyla aynı zamanda IL-1'in kendisi tarafından NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu ile indüklenir (Schindler ve ark. 1990). IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  proproteinler (pro-IL-1 $\alpha$  ve pro-IL-1 $\beta$ ) olarak eksprese edilir. IL-1 $\beta$  inflamatuvar yanıtın önemli bir mediyatördür ve hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoz gibi çeşitli hücrel aktivelere katılır. Pro-IL-1 $\beta$ 'nın reseptöre bağlanması ve aktivasyonu, propeptidin başlangıçta IL-1 $\beta$  dönüştürücü enzim (ICE) olarak keşfedilmiş proteaz kaspaz-1 (CASP1/ICE) tarafından öncelikle proteolitik işleme tabi tutulmasını gerektirdiğinden, IL-1RI'e bağlanamaz. Pro-IL-1 $\beta$  aktif formu üretmek ve hücrel salıma izin vermek için kaspaz-1 enzimi tarafından kesilmelidir. Kaspaz-1'in delesyonu, inhibisyonu veya

inaktivasyonu deneysel olarak indüklenmiş nöronal hücre ölümünü inhibe eder. Pro-IL-1 $\beta$ 'nin aksine pro-IL-1 $\alpha$ , her ne kadar pro-dizisinin proteolizi biyolojik aktivitesini artırabilecek olsa da, IL-1R1'e bağlanabilir ve onu aktive edebilir. (Simi ve ark. 2007, Weber ve ark. 2010a, Contassot ve ark. 2012, Murray ve ark. 2015).

Çeşitli çalışmalar, IL-1 sinyal yolunun nöropatik ağrıda önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir. IL-1, IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin her ikisi de hasar görmüş periferik sinirde up regüle edildiğinden, nöropatik ağrı ile ilişkilidir (Okamoto ve ark. 2001, Shamash ve ark. 2002). Nöropatik ağrı, sinir hasarı olan farelerde IL-1R'ye nötralize edici antikörlerin uygulanması ile (Sommer ve ark. 1999) ve sinir hasarı olan sıçanlarda anti-allodinik etki gösteren çözünür TNF reseptörü ile IL-1Ra'nın kombine intratekal uygulaması ile hafifletilmektedir (Sweitzer ve ark. 2001). Hem IL-1R knockout farelerde hem de IL-1Ra'yı aşırı eksprese eden transgenik farelerde spinal sinir hasarının ardından mekanik ve termal ağrı hassasiyetini azaltmaktadır (Wolf ve ark. 2006).

Çeşitli nöropatik ağrı hayvan modellerinde, hasar gören siyatik sinirde, DRG'de ve omurilikte IL-1 $\beta$  ekspresyonu artmıştır (Ren ve Torres 2009). Periferik sinir hasarının hemen ardından, Schwann hücreleri aktive edilir ve makrofajlar hasar bölgesine toplanır ve her ikisi de IL-1 $\beta$  salgılar (Scholz ve Woolf 2007).

Norman ve ark. (2010) tarafından farelerde spared nerve injury (SNI) modelinin (stres ile güçlendirilen bir etkidir) ardından frontal korteksteki IL-1 $\beta$  ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, SNI modeli ile indüklenen IL-1 $\beta$  ekspresyonunda artışın, artan depresyon benzeri davranış ile paralellik göstermesinden dolayı araştırmacılar sinir hasarı sonrasındaki nöroinflamasyonun, kronik nöropatik ağrının yaygın bir semptomu olan depresyona katkıda bulunabileceğini ileri sürmüştür (Norman ve ark. 2010).

IL-1 $\beta$ 'nin siyatik sinirdeki hasar bölgesinde up regülasyonu, kronik konstriksiyon hasarı (CCI, Chronic Constriction Injury) modeli farelerde 1 saat gibi kısa sürenin ardından saptanmıştır (Uceyler ve ark. 2007). Siyatik sinir transekte edilmiş sıçan modelinde, cerrahiden sonra 35 güne kadar IL-1 $\beta$  up regülasyonu saptanmıştır (Ruohonen ve ark. 2005). Farelerde CCI modelinde, IL-1R nötralize edici antikörlerin siyatik sinirine epinöral enjeksiyonlarının hem termal hiperaljeziyi hem de mekanik allodiniyi azalttığı gösterilmiştir, bu durum up regüle edilmiş IL-1 $\beta$ 'nin nöropatik ağrının indüksiyonunda

rol oynadığını göstermektedir (Sommer ve ark. 1999). Ek olarak, aynı CCI modelinde, mekanik allodini intratekal uygulanan IL-1 $\beta$  nötralize edici antikör tarafından azaltılmıştır (Kawasaki ve ark. 2008), bu durum çeşitli bölgelerde IL-1 $\beta$  aktivitesinin nöropatik ağrıya aracılık ettiğini göstermiştir. Copray ve ark. (2001) IL-1 $\beta$ 'nin nosiseptif DRG nöronlarda eksprese edildiğini bulmuştur. IL-1 $\beta$  ekspresyonu periferik sinirde ezici yaralanmanın ve MSS'de mikroglia ve astrositlerde travmanın ardından artmaktadır (Yan ve ark. 1992). Ayrıca, IL-1 $\beta$ 'nin bir dizi nöron ve glia hücresinde prostaglandin E2 (PGE2) seviyelerinin üretimini arttırdığı belirlenmiştir (Schweizer ve ark. 1988). MSS'de siklooksijenaz-2'nin (COX-2) IL-1 $\beta$  tarafından indüklenmesinin inflamatuvar ağrının aşırı duyarlılığına katkıda bulunduğu gözlenmiştir (Samad ve ark. 2001). Gui ve ark. (2016) periferik sinir hasarının ardından hasar görmüş siyatik sinirde IL-1 $\beta$ 'nin aşırı üretilmesinin, kemirgenlerde nöropatik ağrının, hafıza eksikliğinin ve depresyonun oluşmasının altında yatan mekanizmalar olabileceğini ileri sürmüştür. Ayrıca, nöropatinin hayvan modellerinde ağrıya aşırı duyarlılık IL-1Ra'nın (Milligan ve ark. 2001) veya IL-1 $\beta$ 'ya (Kiguchi ve ark. 2010) ve IL-1R'ye (Sommer ve ark. 1999) karşı nötralize edici antikörlerin uygulanması ile hafifletilmektedir.

Kuyruklyildiz ve ark. (2016) Anakinra'nın sıçanlarda paklitaksel ile indüklenen periferik nöropatik ağrıyla ilişkili IL-1 $\beta$ 'nin azaltılmasında faydalı olabileceğini göstermişlerdir. IL-1Ra'nın, Anakinra, kullanımı klinik olarak romatoid artrit tedavisi için onaylanmıştır (Nuki ve ark. 2002). IL-1R'yi hedef alan terapötikler, örneğin Anakinra, IL-1Ra'nın rekombinant formu, çözünür reseptör rilonasept ve anti-IL-1 $\beta$  nötralize edici antikör kannikumab gibi terapötikler bir takım inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanım için güncel olarak onaylanmış durumdadır (Lees ve ark. 2013). IL-1 $\beta$ , otoenflamatuvar hastalıklar olarak adlandırılan giderek artan sayıdaki sistemik ve lokal inflamatuvar durumlar için terapötik bir ajan olarak ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, IL-1 $\beta$ 'nin nötralizasyonu hastalık şiddetinde hızlı ve sürekli azalmaya yol açmaktadır (Dinarello 2011, Contassot ve ark. 2012). Ling ve ark. (2012) Kras<sup>G12D</sup>'nin IL-1 $\alpha$  sekresyonunu indüklediğini ve bunun TRAF6'nın ubikuitinasyonuna ve IKK $\beta$ 'nin aktivasyonuna yol açtığını göstermiştir. Bu durum p62 dahil hedef genlerini indüklemek için NF- $\kappa$ B'yi aktive edecektir. p62 proteini, TRAF6 ubikuitinasyonunu pozitif olarak düzenleyerek konstitütif NF- $\kappa$ B aktivasyonuna ve duktal pankreas adenokarsinomu gelişimine yol açacaktır.

#### 2.4.5.2. IL-6

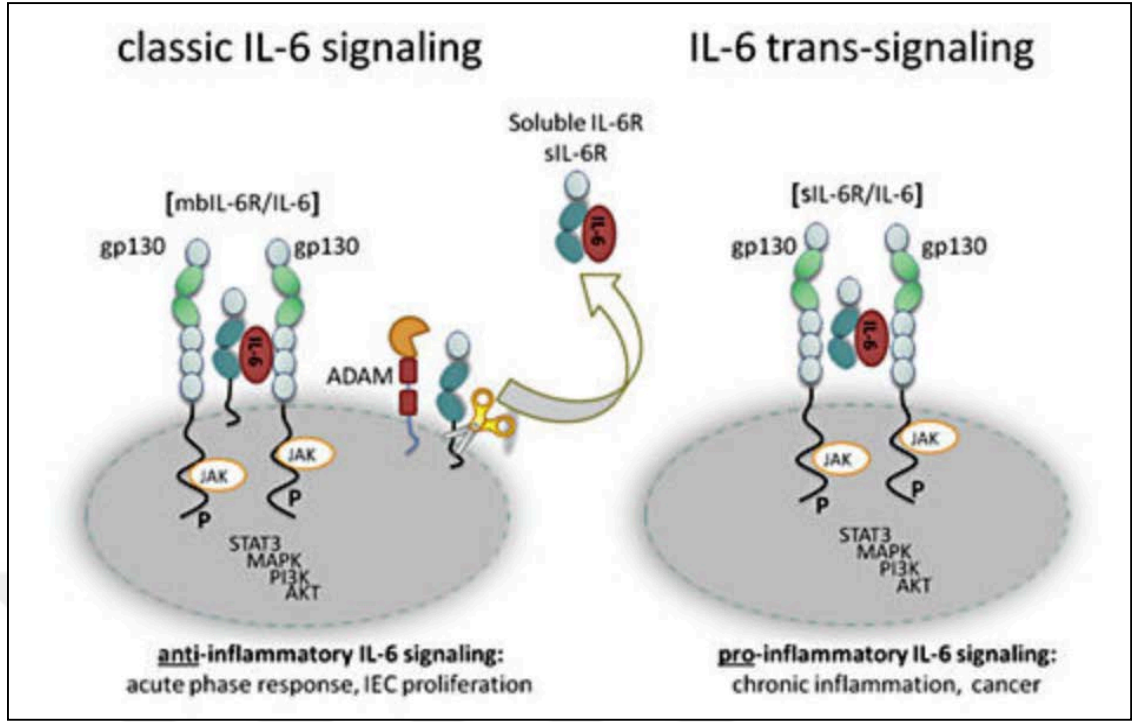
İnterlökin-6 (IL-6) çok çeşitli biyolojik etkileri olan inflamatuvar sitokindir (Zhou ve ark. 2016). IL-6 enfeksiyon ve inflamasyon sırasında rejeneratif ve koruyucu olabilir. Bağışıklık sisteminin ve sinir sisteminin düzenlenmesinde işlevleri vardır (Rose-John 2012). IL-6 sadece inflamasyon ve enfeksiyon yanıtlarında değil, metabolik, rejeneratif ve nöral süreçlerin düzenlenmesinde de yer alır. IL-6 çoğunlukla pro-inflamatuvar sitokin olarak değerlendirilmesine karşın, IL-6'nın pek çok rejeneratif veya anti-inflamatuvar aktiviteye de sahip olduğu kabul edilmektedir ve klinik müdahale için önemli bir hedef olarak değerlendirilmektedir (Scheller ve ark. 2011, Hunter ve Jones 2015).

IL-6 nöronlar, astrositler, mikroglia, mast hücreleri, monositler, lenfositler ve endotelial hücreler dahil pek çok hücre tipi tarafından sentezlenmektedir (Moalem ve Tracey 2006, Erta ve ark. 2012). IL-6; klasik sinyal yolunda membran-bağlı IL-6 reseptörüne (mIL-6R: hepatositler, nötrofiller, monositler/makrofajlar, diğer lökositler ve epitelyal hücreler gibi belirli hücrelerde eksprese olurlar) veya trans sinyal yolunda IL-6 reseptörünün çözümlü formuna (sIL-6R) bağlanır; bunların her ikisi de gp130 (glikoprotein 130, bütün hücreler üzerinde eksprese edilir) ile etkileşim sonucu sinyal yollayabilmektedir. IL-6 ve IL-6R gp130 için ölçülebilir bir afiniteye sahip değildir; gp130'a yalnızca kompleks bağlanır. IL-6, reseptörü ile etkileşime girdiğinde, bir kompleks oluşturmak üzere sinyal iletimi membran proteini gp130'a bağlanır ve böylece reseptörü aktive eder. Bu kompleksler gp130'un hücre içi bölgelerini bir araya getirerek (gp130'un dimerizasyonu) hücre içi sinyal kaskadlarını başlatır: örneğin Janus ile aktive edilen kinaz/sinyal iletimi transkripsiyon aktivatörü (JAK/STAT), mitojenle aktive edilen protein kinaz/hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (MAPK/ERK) ve fosfatidil inositol-3 kinaz/protein kinaz B (PI3K/AKT) sinyal yolları (Heinrich ve ark. 1998, Rose-John ve ark. 2006, Scheller ve ark. 2011, Chalaris ve ark. 2012, Erta ve ark. 2012, Rose-John 2012). IL-6 trans sinyal yolunda, sIL-6R, mIL-6R'nin sınırlı proteolizi ile üretilir (mIL-6R membran bağlı metalloproteaz ADAM17 tarafından sIL-6R oluşturacak şekilde kesilir) veya farelerde değil ancak insanlarda, sIL-6R aynı zamanda alternatif olarak kesilmiş mRNA'dan translasyonu yoluyla da üretilebilir. IL-6R eksprese etmeyen hücreler, gp130 tek başına IL-6 için ölçülebilir bir afiniteye sahip olmadığından sitokine yanıt veremez. İlginç bir şekilde, reseptörün hücre dışı bölümünü içeren sIL-6R, IL-6'yi mIL-6R ile benzer bir



afiniteyle bağlayabilmektedir. IL-6 ve sIL-6R kompleksi, IL-6R eksprese etmeyen ve IL-6'ya yanıt vermeyen hücreler üzerindeki gp130'ye bağlanabilir. Bu süreç trans sinyal yolu olarak adlandırılmıştır ve kanseri de içeren çeşitli patolojik pro-inflamatuvar durumlarda major IL-6 sinyal yolu işlevini görmektedir. IL-6 trans sinyal yolu pro-inflamatuvardır, bununla birlikte, sitokinin rejeneratif veya anti-inflamatuvar aktiviteleri için membran bağlı IL-6R yoluyla IL-6 klasik sinyal yolu gereklidir (Rose-John ve ark. 2006, Scheller ve ark. 2011, Chalaris ve ark. 2012, Rose-John 2012, Calabrese ve Rose-John 2014) (Şekil 2.37). Bu sonuçlar romatoid artrit, peritonit, diyabet, multipl skleroz, astım, inflamatuvar bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı) gibi otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalıkların yanı sıra inflamasyonla ilişkili kolorektal kanserde (Rose-John ve ark. 2006, Srirangan ve Choy 2010, Neurath ve Finotto 2011, Chalaris ve ark. 2012, Erta ve ark. 2012, Rose-John 2012), meme kanserinde (Starkweather 2010), yumurtalık kanserinde (Lo ve ark. 2011) ve pankreas kanserinde (Lesina ve ark. 2011) IL-6 sinyallemesini inhibe etmek amaçlı terapötik stratejiler açısından önemlidir.

mIL-6R'ye ek olarak, sIL-6R insan serumu ve idrarı gibi vücut sıvılarında da bulunmuştur (Rose-John 2012). Pek çok nöronal hücre tek başına IL-6 ile stimülasyona yanıtızsızdır ancak sIL-6R'nin etkisi nöronların farklılaşmasına ve sağkalımına aracılık edebilir. sIL-6R/IL-6 kompleksi nöritlerin büyümesini uyarabilir ve nöronların sağkalımını teşvik edebilir ve dolayısı ile, remiyelinasyon yoluyla sinir rejenerasyonunda önemli olabilir ([https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin\\_6](https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_6)). gp130'un çözünür formu (sgp130) biyolojik sıvılarda da bulunabilir, bu form IL-6 trans sinyal yolu üzerinde inhibe edici etkiler uygularken, mIL-6R yoluyla IL-6 klasik sinyal yolunu etkilemez (Rose-John ve ark. 2006, Chalaris ve ark. 2012, Erta ve ark. 2012, Calabrese ve Rose-John 2014).



Şekil 2.37. IL-6 klasik ve trans-sinyal iletim yolu (Chalaris ve ark. 2012)

IL-6'nın periferik sinir hasarı, omurilik hasarı, CIPN ve kanserle ilişkili patolojik ağrıda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Zhou ve ark. 2016). IL-6 sinir sistemi hasarı olan farelerde nöronların, astrositlerin ve mikroglialının aktivasyonunda yer alır (Klein ve ark. 1997). IL-6 knockout farelerde, termal ve mekanik uyarılara verilen nosiseptif yanıtlar wild-tip farelerdekiyle aynıdır (Bianchi ve ark. 1999) ancak spinal sinir lezyonunun ardından mekanik allodini gelişimi IL-6 knockout farelerde wild-tip farelere kıyasla azalır ve gecikir (Ramer ve ark. 1998). Benzer sonuçlar CCI modeli kullanılan IL-6<sup>-/-</sup> farelerde bildirilmiştir (Murphy ve ark. 1999). Endojen IL-6 periferik nöropatik ağrıyı karakterize eden kütanöz uyarılara karşı aşırı duyarlılığa bir ölçüde katkıda bulunur ve farelerde konstriksiyon hasarıyla ilişkili nöronal peptid ekspresyonunu etkiler (Murphy ve ark. 1999). IL-6'nın periferik nöropatide yer aldığı ilk olarak siyatik kriyonöroliz (SCN-sciatic cryoneurolysis) sıçan modelinde bulunmuştur; bu sempatik olarak bağımsız nöropatik ağrı modeli, siyatik sinirin bir kesitinin tekrarlı olarak dondurulması ve çözülmesi ile ilgilidir ve bu durum omurilikte normal sıçanlara kıyasla IL-6 immünoreaktivitesinde bir artışa yol açar. Ek olarak, intratekal rekombinant insan IL-6 uygulaması, normal sıçanlarda dokunmayla uyarılan allodiniyi ve daha önce lezyonu olan SCN sıçanlarda termal hiperaljeziyi indükler (DeLeo ve ark. 1999).

IL-6 knockout farelerden elde edilen sonuçlar IL-6'nın sinir hasarıyla indüklenen ağrı ve DRG'deki sempatik filizlenmede kolaylaştırıcı bir rol oynadığını göstermektedir (Ramer ve ark. 1998).

*In vivo* çalışmada, IL-6'nın ağırlı CIPN'deki periferik rollerini araştırmak amacıyla üç CIPN hayvan modeli (sisplatinle ve vinkristinle tedavi edilen sıçanlar ve paklitaksel ile tedavi edilen fareler) kullanılmıştır. Bu çalışmada ilk önce IL-6 tedavisinin CIPN'nin ağırlı davranışını bu kemoterapötik rejimlerin antitümör aktivitesini bozmadan önleyebildiği bildirilmiştir, bu durum IL-6'nın CIPN üzerindeki potansiyel nöroprotektif etkisini göstermektedir (Callizot ve ark. 2008). Kigushi ve ark. (2008) periferik makrofaj türevli IL-6'nın farelerde vinkristinle indüklenen mekanik allodinide önemli rol oynadığını ileri sürmüştür. Yakın zamanda, Starkweather (2010) IL-6 ve sIL-6R düzeylerinin kemoterapinin ardından CIPN'si olan meme kanseri hastalarında CIPN semptomları olmayan kadınlara kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirerek IL-6'nın CIPN'de yer almasına ilişkin ilk klinik kanıtı sağlamıştır.

Anti-IL-6R antikorların uygulanması ile IL-6 ve IL-6R baskılanması farelerde rejeneratif etkilerin azalmasına yol açmıştır (Hirota ve ark. 1996). IL-6R'ye karşı humanize monoklonal antikor olan tocilizumab, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, Food and Drug Administration) tarafından onaylanmış immünsüpresif ilaçtır ve çoğunlukla romatoid artrit (RA), castleman hastalığı ve sistemik juvenil idyopatik artrit (Yokota ve ark. 2008, Singh ve ark. 2010, Brzustewicz ve Bryl 2015, Ogata ve ark. 2015) tedavisinde kullanılmaktadır. IL-6R nötralize edici antikor, omurilik hasarı ağrısıyla (SCIP, spinal cord injury pain) ilişkili mekanik allodiniyi tek bir intraperitoneal enjeksiyondan 2 hafta sonra ortadan kaldırmıştır (Guptarak ve ark. 2013). Başka bir çalışmada, Murakami ve ark. (2013) anti-IL-6R antikorunun farelerde omurilik hasarı (SCI) sonrasındaki nöropatik ağrı üzerindeki yararlı etkilerini bildirmiştir. SCI'den sonraki 24 saat ile 72 saat arasındaki IL-6 düzeylerinin anti-IL-6R antikoruyla tedavi edilen farelerde anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Ek olarak, elde ettikleri davranışsal veriler anti-IL-6R antikorunun SCI farelerde hiperaljeziyi hafifletebildiğini göstermiştir. Bu iki çalışmadan elde edilen bulgular IL-6/IL-6R trans sinyal yolunun SCIP tedavisi için potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, anti-IL-6R antikoru tocilizumabın, optik nöromiyelit (Araki ve ark. 2013) ve siyatik (Ohtori ve ark. 2012a) ile ilişkili ağrının

azaltılmasında etkili olduğu bildirilmiştir. Anti-IL-6 terapisi başlangıçta otoimmün hastalıkların tedavisi için geliştirilmiştir ancak IL-6'nın kronik inflamasyondaki rolünden dolayı, IL-6 blokajı kanser tedavisi için de değerlendirilmiştir (Anestakis ve ark. 2015, Korneev ve ark. 2017).

İlerlemiş/metastatik kanser hastalarının kanında yüksek düzeylerde IL-6 bulunur. Buna örnek olarak, hastalarda düşük sağkalım oranlarıyla korele belirgin IL-6 yükselmesinin görüldüğü pankreas kanseri gösterilebilir (Bellone ve ark. 2006).

Lesina ve ark. (2011) IL-6 trans-sinyal yolunun aktivasyonuna bağımlı Stat3/Socs3 aktivasyonunun pankreas intraepitelyal neoplazilerin (PanIN) progresyonunu inhibe ettiğini ve pankreas duktal adenokarsinomun (PDAC) gelişimini azalttığını göstermiştir. Masoumi-Moghaddam ve ark. (2015) epitelyal yumurtalık kanseri (EOC) olan hastalarda IL-6'nın önemli ölçüde upregülasyonunu gözlemlemişlerdir. Lo ve ark. (2011) yumurtalık kanseri hastalarından elde edilen malign asitlerde bulunan artmış sIL-6R düzeylerinin IL-6 trans sinyal yolunu endotelyal hücreler üzerinde sürdürmesinin kanserin ilerlemesine katkıda bulunduğunu bildirmiştir. IL-6 trans sinyal yolunun sgp130 ile seçici blokajı intraperitoneal yumurtalık kanseri fare modelinde malign asit oluşumunu azaltmış ve tümörün Taxol'e (paklitaksel) duyarlılığını artırmıştır.

IL-6 düzeyi CIPN'li farelerde siyatik sinirde ve DRG'de yükselmiştir ve siyatik sinire IL-6 antikorlarının uygulanması mekanik allodiniyi büyük ölçüde azaltmıştır. Ek olarak, kemoterapiyle indüklenen mekanik allodini IL-6 knockout farelerde wild-tip farelere kıyasla daha düşüktür (Kiguchi ve ark. 2008).

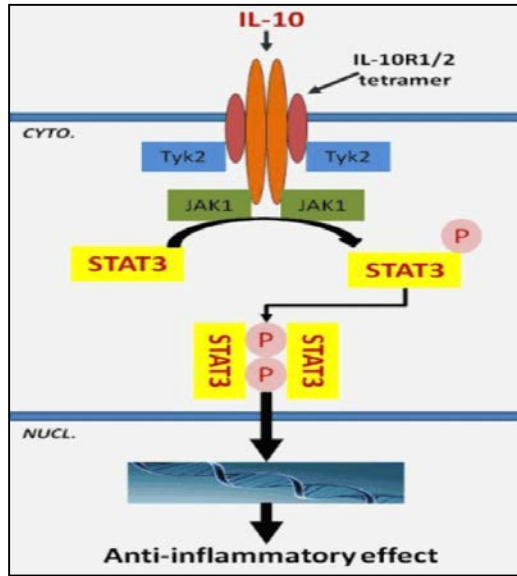
Şu anda sirukumab antikoruna majör depresif bozukluklara karşı klinik çalışmalarda araştırılmaktadır (<https://www.clinicaltrials.gov/show/NCT02473289>). Sirukumab anti-sIL-6 monoklonal antikoruna ve Sarilumab anti-IL-6R monoklonal antikoruna klinik açıdan test edilmektedirler ve faz II klinik çalışmalarda anlamlı etkililik gösterdiği belirlenmiştir. Kanakinumab IL-1'i hedef alan yeni bir moleküldür, tamamen insan anti-IL-1 $\beta$  monoklonal antikorudur (Brzustewicz ve Bryl 2015). Bu nedenle, hem IL-6'yı hem de onun reseptörünü hedef alan terapötik antikorların geliştirilmesi belirli nöropatik rahatsızlıkların hedeflenmesinde faydalı olabilir.

### 2.4.5.3. IL-10

İnterlökin-10 (IL-10), aktive edilmiş T hücrelerinden, B hücrelerinden, Doğal öldürücü (NK) hücrelerden, makrofajlardan, monositlerden, mast hücrelerinden, granülositlerden ve dendritik hücrelerden salınan kuvvetli bir anti-inflamatuvar sitokin olarak kabul edilmektedir. IL-10 bağışıklık hücreleri dışında keratinositler, epitelyal hücreler ve hatta tümör hücrelerinden de salınmaktadır (Mosser ve Zhang 2008, Ogawa ve ark. 2008, Uceyler ve ark. 2009, Austin ve Moalem-Taylor 2010, Verma ve ark. 2016). Bu hücrelerin; lipopolisakkaritler (LPS), katekolaminler ve cAMP'yi arttıran ilaçlar gibi endojen ve ekzojen mediyatörler tarafından aktivasyonları üzerine salınır (Verma ve ark. 2016). IL-10 endojen anti-sitokinleri up regüle eder ve TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-1 $\beta$  gibi pro-inflamatuvar sitokinleri down regüle eder (Poole ve ark. 1995, Austin ve Moalem-Taylor 2010, Fioranelli ve Roccia 2014), makrofajları deaktive eder, Th1 sitokinler IL-2 ve IFN- $\gamma$  salgılanmasını inhibe eder ve makrofajların, T hücrelerinin ve B hücrelerinin farklılaşmasını ve proliferasyonunu kontrol eder (Fregnan ve ark. 2012). Bunlar göz önüne alındığında, IL-10 inflamatuvar ve otoimmün bozukluklarda ve ayrıca nöropatik ağrı durumlarında önemli bir role sahiptir (Austin ve Moalem-Taylor 2010). IL-10 ayrıca Burkitt lenfoma, Hodgkin dışı lenfoma ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri gibi çeşitli kanserlerin sağkalım, proliferasyon ve anti-apoptotik etkileri ile de ilişkilidir. Çalışmalarda IL-10'un aşırı eksprese edilmesinin antitümör immun yanıtı baskılayarak belirli lenfomalarda ve melanomlarda tümör gelişimini teşvik ettiği bildirilmiştir (Verma ve ark. 2016).

IL-10, her biri IL-10R1 ve IL-10R2'nin ikişer kopyasından oluşan bir reseptör kompleksi yoluyla sinyal verir. IL-10R1, yüksek afiniteli IL-10 bağlanmasına ve sinyal iletimine aracılık ederken, IL-10R2 yalnızca sinyal vermek için gereklidir. Sonuç olarak, fonksiyonel reseptör dört IL-10 reseptör molekülünden oluşur. IL-10 bağlanması, IL-10R1 ve IL-10R2'nin sitoplazmik domainlerinin sırasıyla Janus tirozin kinaz JAK1 ve Tyk2 tarafından fosforilasyonu yoluyla JAK1/STAT3 sinyal yolunu indükler. Bu STAT3'ün IL-10R1'e bağlanmasına yol açar. STAT3 homodimerlerinin nükleus içerisine translokasyonu gerçekleşir ve IL-10'un kendisi ve SOCS3 (sitokin sinyal süpresörleri 3) genleri dahil olmak üzere çeşitli immün yanıt genlerindeki STAT elemanlarına bağlanırlar ve sonuç olarak anti-inflamatuvar aktiviteye yol açarlar (Mosser ve Zhang

2008, Milligan ve ark. 2012, Fioranelli ve Roccia 2014, Verma ve ark. 2016) (Şekil 2.38). IL-10R'den aşağı sitokin süpresyonu mekanizması, normalde JAK/STAT3 yolu tarafından aktive edilen genleri inhibe eden SOCS3'ün indüksiyonu ve ayrıca, transkripsiyon faktörü NF- $\kappa$ B'nin inhibisyonu yoluyla (Driessler ve ark. 2004, Austin ve Moalem-Taylor 2010). IL-10 tedavisi; makrofajlar, dendritik hücreler, NK hücreler ve Th-1 ve Th-2 hücreleri tarafından pro-inflamatuvar sitokin (örn. IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$ ) ve kemokin (CCL2) üretimi için gerekli olan immün yanıt genlerinin üretiminin azalmasına yol açan NF- $\kappa$ B aktivasyonunda azalmaya neden olur. Gerçekten de, IL-10'un en geniş çaplı karakterize edilmiş biyolojik fonksiyonu, immün yanıtlarını baskılayabilme özelliğidir (Milligan ve ark. 2012, Verma ve ark. 2016). Bu durum inhibitör NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) kinaz (IKK) aktivitesinin IL-10 tarafından baskılanarak NF- $\kappa$ B alt birimlerinin sitoplazmada alıkonması sonucu oluşabilir. IL-10 ayrıca NF- $\kappa$ B'nin nükleusa translokasyonunu ve DNA'ya bağlanmasını da inhibe edebilir ve bu inhibisyon p65 alt birimine spesifik olabilir. Ayrıca, p65 gibi spesifik Rel ailesi üyelerinin inhibisyonu, IL-10'un inflamatuvar genleri inhibe ederken diğerlerini aktive edebilmesini açıklayabilir. İnsan monositlerinde, IL-10 inhibisyonu NF- $\kappa$ B inhibisyonu düzeyinde etki göstermeyebilir ve bu nedenle, başka moleküler mekanizmaların yer alıyor olması mümkündür. Bu olasılıklar MAPK'lerin inhibisyonunu ve/veya inhibitör PI3K/AKT yolunun aktivasyonunu içerebilir (Mosser ve Zhang 2008).



Şekil 2.38. IL-10 sinyal iletim yolu (Fioranelli ve Roccia 2014)

Periferik sinir hasarının ardından, IL-10 ekspresyonu, siyatik sinirdeki hasardan 1 saat sonra ve DRG'lerdeki hasardan 24 saat sonra olmak üzere hızlı bir şekilde artar (Taskinen ve ark. 2000, Uceyler ve ark. 2007, Austin ve Moalem-Taylor 2010). Ancak, Okamoto ve ark. (2001) bir nöropatik ağrının kronik konstriksiyon hasar (CCI) modelinde önemli pro- ve antiinflamatuvar sitokinlerin rolünü bildirmişlerdir ve CCI hasarını takiben sıçan siyatik sinirinde IL-10 ekspresyonunun en az 6 hafta boyunca kademeli ve giderek arttığını bulmuşlardır. Sıçanlarda CCI takiben, CCI lezyonu bölgesinde tek bir intranöral IL-10 dozu termal hiperaljeziyi, endonöral TNF- $\alpha$  ekspresyonunu ve makrofaj alımını anlamlı olarak azaltmaktadır (Wagner ve ark. 1998). Ayrıca, IL-10'un adeno-viral vektör tarafından intratekal veya spinal uygulaması, çeşitli nöropati modellerinde nöropatik ağrıya karşı aşırı duyarlılığın önlenmesine ve tersine çevrilmesine yol açmaktadır, bu durum IL-1 $\beta$  ekspresyonundaki azalma ile ilişkilendirilmiştir (Milligan ve ark. 2005a, b). Zhou ve ark. (2008) sıçanların IL-10 eksprese eden bir herpes simpleks virüsü (HSV) vektörü ile 10 günlük subkütan inokülasyonunun ardından ağrı hassasiyetinde düşüşe ve spinal TNF- $\alpha$  ekspresyonunda azalmaya yol açtığını göstermişlerdir. Bu nedenle, kanıtların çoğunluğu IL-10'un nosiseptif ağrıyı baskılayabildiğini göstermektedir. Adenozin  $2_A$  reseptörü ( $A_{2A}R$ ) agonistlerinin periferik immün hücreleri üzerinde, pro-inflamatuvar sitokinlerin baskılanması ve anti-inflamatuvar sitokinlerin (IL-10) üretimindeki artış dahil olmak üzere güçlü anti-inflamatuvar etkilere sahip olduğu bildirilmektedir. CCI modeli oluşumu sonrası, tek bir intratekal  $A_{2A}R$  agonisti enjeksiyonu, IL-10 salımının indüksiyonu yoluyla ağrı hipersensivitesini uzun süre etkili olarak tersine çevirebilir (Loram ve ark. 2009).  $A_{2A}R$  aktivasyonu IL-10 ekspresyonunu artırabilir ve TNF- $\alpha$  ekspresyonunu azaltabilir (Hasko ve ark. 1996), IL-10'u nötralize edici antikorların intratekal uygulamasının,  $A_{2A}R$  agonistleri tarafından elimine edilen ağrıya karşı aşırı duyarlılığın yeniden ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Loram ve ark. 2009, Austin ve Moalem-Taylor 2010). Bir arada değerlendirildiğinde, IL-10 ekspresyonunun gen terapisiyle veya farmakolojik olarak artırılması hayvan modellerinde akut ağrı ve ağrılı nöropati üzerinde inhibe edici etkilere sahiptir. IL-10'un etki mekanizması, ağırlıklı olarak, pro-inflamatuvar sitokinlerin baskılanmasına ve bunun sonucunda diğer immün ve immün benzeri glia hücrelerinin hasarlı bölgede ve omurilikte toplanmasında ve aktivasyonunda meydana gelen azalmaya dayanmaktadır (Austin ve Moalem-Taylor 2010). İnanöral ve intratekal IL-10, immün hücre infiltrasyonundaki

azalma ve TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonundaki azalma ile ilişkili sinir hasarıyla indüklenen ağrıya karşı aşırı duyarlılığı önemli ölçüde azaltabilmektedir. Bu sonuçlar talidomidin (aktive olmuş makrofajlarda TNF- $\alpha$  üretimini bloke edici ilaç), CCI sinir lezyonu olan sıçanlarda, endonöral TNF- $\alpha$  düzeylerini düşürdüğü, endonöral IL-10 düzeylerini yükselttiği ve hiperaljeziyi hafiflettiği bulgularıyla uyumludur (Sommer ve ark. 1998b, George ve ark. 2000). Klinik çalışmalar, IL-10'un ve diğer bir anti-inflamatuvar sitokin olan IL-4'ün düşük düzeylerinin kronik ağrının anahtarı olabileceğini, kronik yaygın ağrısı olan hastalarda bu iki sitokinin konsantrasyonları düşük olmasından yola çıkarak göstermiştir (Uceyler ve ark. 2006).

Khan ve ark. (2015) dört farklı sinir hasarı modelinde sıçan DRG ve siyatik sinirindeki IL-10 düzeylerini araştırmıştır. Hasarı indüklemek için kullanılan modellerden ikisi kısmi sinir hasarı modelini: kısmi siyatik ligasyon (PSL) ve kronik konstriksiyon hasarı (CCI), tam siyatik sinir transeksiyonu (CST) modelini ve minimal sinir hasarı ile perinöral inflamasyon modelini (nevrit) içerir. Tam sinir transeksiyonu ilgili sinirdeki ve DRG'deki IL-10 düzeylerini yükseltirken, kronik ve kısmi sinir hasarı bu düzeyleri düşürmektedir. IL-10'un nöropatik ağrı etiyolojisindeki rolünün sinir hasarı tipine özgü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Shao ve ark. (2015) IL-10'un ve IL-1 $\beta$ 'nin sıçan ventrolateral orbital korteksteki (VLO) sinir hasarı modeli (SNI, Spared nerve injury) tarafından indüklenen allodini üzerindeki rollerini incelemiştir. Sonuç olarak; IL-10 ve IL-1 $\beta$  nöropatik ağrı benzeri davranışa serebral korteks düzeyinde aracılık etmektedir. VLO'daki aktive edilmiş glia hücrelerinden salınan IL-10 allodiniyi potansiyel olarak azaltabilirken, VLO'daki aktive edilmiş glia hücrelerinden salınan IL-1 $\beta$  allodiniyi potansiyel olarak sürdürebilir veya kolaylaştırabilir. Bu nedenle, bu sonuçlar nöropatik ağrı durumlarında serebral korteks düzeyinde tedavi için yeni bilgiler ve bölgeler sağlamaktadır. İnsanlarda nöropatik ağrının tedavi edilmesinde anti-inflamatuvar terapilerin etkinliğine ilişkin veriler sınırlıdır ve bugüne kadar daha çok IL-10 üzerine odaklanılmıştır. Rekombinant insan IL-10 (örneğin Ilodecakin/Tenovil) psoriasis (sedef hastalığı) (Asadullah ve ark. 2013, Kimball ve ark. 2002), Crohn hastalığı (Schreiber ve ark. 2000) ve romatoid artrit (Lees ve ark. 2013) gibi kronik inflamatuvar durumların tedavisinde klinik açıdan incelenmektedir ve sinir hasarı sonrasındaki aşırı inflamasyonun endojen baskılayıcısı olarak etki edebileceği düşünüldüğünde, nöropatik ağrının tedavisinde de faydalı olabilir.

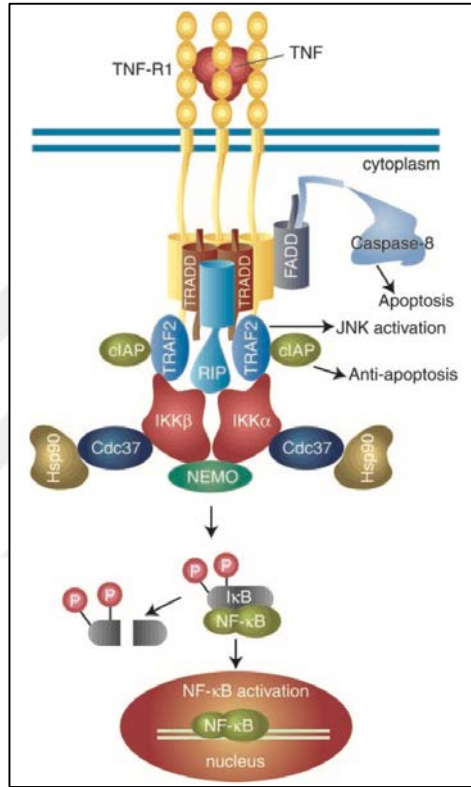


#### 2.4.5.4. TNF- $\alpha$

Tümör nekroz faktörü (TNF, daha önce TNF- $\alpha$ ) diğer sitokinlerin (örn. IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8) aktivasyon kaskadını indükleyebilen önemli bir pro-inflamatuvar sitokin olarak bilinmektedir ve kronik nöropatik ağrının hemen ortaya çıkan ve devam eden evreleri ile ilişkilendirilmiştir (Austin ve Moalem-Taylor 2010, Leung ve Cahill 2010). En çok aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir ancak CD4+ lenfositler, NK-hücreler, endotelial hücreler, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller ve nöronlar gibi pek çok farklı hücre tipi tarafından da üretilebilir. TNF; LPS, diğer bakteriyel ürünler ve IL-1'e yanıt olarak büyük miktarlarda salgınır. TNF'nin başlıca rolü immün hücre yanıtının düzenlenmesidir. Endojen pirojenik sitokin olan TNF; ateş, apoptotik hücre ölümü, kaşeksi ve inflamasyonu indükleyebilir ve tümörogenezi ve viral replikasyonu inhibe edebilir ve IL-1 ve IL-6 üreten hücreler yoluyla sepsise yanıt verebilir ([https://en.wikipedia.org/wiki/Tumor\\_necrosis\\_factor\\_alpha](https://en.wikipedia.org/wiki/Tumor_necrosis_factor_alpha)).

TNF etkilerini iki ayrı reseptör aracılığıyla ortaya çıkarır: konstitütif olarak eksprese edilen TNFR1 (TNF reseptörü tip 1; CD120a; p55/60) ve indüklenebilir olarak eksprese edilen TNFR2 (TNF reseptörü tip 2; CD120b; p75/80). TNFR1 55 kDa büyüklüğündedir ve TNFR2 75 kDa büyüklüğündedir (Locksley ve ark. 2001, Chen ve Goeddel 2002, MacEwan, 2002). TNFR1 hücre ölümü yollarıyla bağlantılıyken TNFR2 bağlantılı değildir. TNFR1 bir hücre içi "ölüm bölgesine" sahiptir ve nöronal ölümünün kontrolünden sorumludur. TNFR2 T hücresi gelişimi ve proliferasyonu ile ilişkili olmasından dolayı nöronal korumaya katkıda bulunur (Fregnan ve ark. 2012). Ligandları ile temasa geçtiklerinde, TNF reseptörleri trimerler oluştururlar, bu bağlanma reseptörde bir konformasyonel değişiklik meydana gelmesine neden olarak, inhibitör protein ölüm bölgesi susturucusunun (SODD, Silencer of Death Domain) TNFR1'in hücre içi ölüm bölgesinden (ICD) ayrışmasına yol açar. Bu ayrışma adaptör protein 'TNF reseptör ilişkili ölüm bölgesinin (TRADD)'ın ölüm bölgesine (DD) bağlanmasını ve 'reseptör etkileşimli protein (RIP)', 'TNFR ilişkili faktör 2 (TRAF2)' ve 'Fas ilişkili ölüm bölgesi (FADD)' dahil adaptör proteinlerin ölüm bölgesine bağlanmasını sağlar (Chen ve Goeddel 2002, Wajant ve ark. 2003). TNF'nin DRG'lerdeki ve omuriliğin dorsal boynuzundaki reseptörlerine bağlanması NF- $\kappa$ B'yi aktive eder; NF- $\kappa$ B de pro-inflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu indükler ve bu nedenle,

ağrının hissedilmesi sağlar. TNF reseptörünün DRG nöronlarındaki diğer downstream (aşağı yönde) hedefleri örn. ERK, JNK, p38-MAPK ve PI3K gibi kinaz yollarının aktivasyonunu içerir (Shubayev ve Myers 2000, Chen ve Goeddel 2002, Pollock ve ark. 2002, Schafers ve ark. 2003a, Wajant ve ark. 2003, Ledeböer ve ark. 2005, Liu ve ark. 2007, Wei ve ark. 2007, Zhang ve An 2007, Austin-Moalem Taylor 2010, Leung ve Cahill 2010) (Şekil 2.39).



Şekil 2.39. TNF sinyal iletim yolu (Chen ve Goeddel 2002)

**1) NF-κB aktivasyonu:** TRADD, TRAF2 ve RIP'i bağlar. Ardından TRAF2 çok bileşenli protein kinaz IKK'yi toplayarak, serin-treonin kinaz RIP'in onu aktive etmesini sağlar. Normalde NF-κB'ye bağlanan ve onun translokasyonunu inhibe eden inhibe edici bir protein olan IκBα, IKK tarafından fosforillenir ve ardından degrade olarak NF-κB'yi serbest bırakır. NF-κB, heterodimerik transkripsiyon faktörü, nükleusa transloke olur ve hücre sağkalımı, hücre proliferasyonu, inflamatuvar yanıt ve anti-apoptotik faktörler ile ilgili proteinlerin transkripsiyonuna aracılık eder.

**2) MAPK yollarının aktivasyonu:** TNF stress ile ilgili JNK grubunun aktivasyonunu indükler, p38-MAPK yolunun yanıtını uyarır ve ERK'lerin en düşük düzeydeki

aktivasyonundan sorumludur. JNK hücre nükleusuna doğru yer değiştirir ve c-Jun ve ATF2 gibi transkripsiyon faktörlerini aktive eder. JNK yolu hücre farklılaşması ve proliferasyonunda yer alır ve genel olarak pro-apoptotiktir.

**3) Ölüm sinyal yolunun indüksiyonu:** TNFR süperailisinin ölüm bölgesi içeren bütün üyeleri gibi, TNFR1 de ölüm sinyal yoluna katılır. Ancak, TNF tarafından indüklenen hücre ölümü, onun inflamatuvar süreçlerdeki baskın fonksiyonları ile karşılaştırıldığında yalnızca ufak bir roldür. Hücre ölümünü indükleme yeteneği ailenin diğer üyelerine (örneğin Fas) kıyasla daha zayıftır ve sıklıkla NF- $\kappa$ B'nin anti-apoptotik etkileri tarafından maskelenir. Bununla birlikte, TRADD FADD'yi bağlar ve FADD'da sistein proteaz kaspaz-8'i aktive eder. Yüksek kaspaz-8 konsantrasyonu otoproteolitik aktivasyonunu ve daha sonra efektör kaspazların kırılmasını indükleyerek hücrenin apoptozuna yol açar.

TNF- $\alpha$  nöropatik ağrının periferik mekanizmasında rol oynar. Kemoterapi, serumda yoğun TNF- $\alpha$  salınımı ile periferik nöropati oluşturur (Tonini ve ark. 2002) ve klinikte antikanser tedavi olarak kullanılan TNF- $\alpha$  periferik nöropatiye yol açar (Drory ve ark. 1998). Sıçan siyatik sinirinde CCI hasarı ardından, duyuşal nöronda TNF ekspresyonu artmaktadır, bu durum bu inflamatuvar mediyatörün hasar bölgesine anterograd aksonal transportunun (Schafers ve ark. 2003b) ve omuriliğin dorsal boynuzuna retrograd transportunun artışı ile ilişkili bulunmuştur (Shubayev ve Myers 2002). Sacerdote ve ark. (2008), periferik nöropati fare CCI modelinde, artan TNF mRNA ekspresyonunun zamansal değişimini ilk önce siyatik sinirde ardından DRG'de göstermiştir.

Naive (işlem uygulanmamış) sıçanlarda TNFR1'in (TNFR2'nin değil) spinal aktivasyonu, *in vivo* ağrıya karşı aşırı duyarlılığı ve *in vitro* DRG nöronların ektopik ateşlemesini indükler (Schafers ve ark. 2008). Sinir hasarı olan hayvanlarda hem TNFR1 hem de TNFR2 aktivasyonu ağrıya karşı aşırı duyarlılığa ve ektopik ateşlemeye yol açar (Austin ve Moalem-Taylor 2010). Sıçan/fare siyatik siniri hasarı, sinirde TNF'nin ve reseptörlerinin (TNFR1/TNFR2) upregülasyonuna yol açar (Sommer ve ark. 1998a, George ve ark. 1999, Shubayev ve Myers 2000, George ve ark. 2005, Sacerdote ve ark. 2008); bu upregülasyon esasen Schwann hücrelerinde ve endotelial hücrelerde görülür (Wagner ve Myers 1996). İnsanlarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir, ağrılı nöropati olan hastalardan elde edilen sinir biyopsilerinde, özellikle Schwann hücrelerinde yüksek düzeylerde TNF ekspresyonu görülmüştür (Empl ve ark. 2001).

Sinir hasarı ayrıca beynin bölgelerinde (örn. hipokampus, locus coeruleus, kırmızı çekirdek), DRG'lerde, omuriliğin dorsal boynuzunda, RVM'de (rostral ventromedial medulla), muhtemelen aktive edilmiş astrositlerden ve mikroglıadan TNF ekspresyonunda artışa yol açar (Gahring ve ark. 1996, Ignatowski ve ark. 1999, Schafers ve ark. 2003a, Ohtori ve ark. 2004, Sacerdote ve ark. 2008, Wei ve ark. 2008, Leung ve Cahill 2010, Jancalek ve ark. 2010). Sinir hasarı ayrıca DRG'de sensory nöron hücre gövdelerinin yüzeyini kaplayan uydu glia hücreleri (SGC) tarafından TNF ekspresyonunda artışa ve makrofaj işgaline yol açar (Dubovy ve ark. 2006). TNF'nin sıçan siyatik sinirine fizyolojik dozlarda intranöral enjeksiyonu nöropatik ağrı davranışlarının yanı sıra termal hiperaljezi ve mekanik allodiniyi de indükler (Wagner ve Myers 1996, Sorkin ve Doom 2000, Zelenka ve ark. 2005).

TNF sinyalinin, nötralize edici antikörler veya reseptör antagonistleri yoluyla bozulmasının; periferik ağrı modellerinde, ağrı oluşumundan sonra tedavi verildiği durumlarda bile ağrıya karşı aşırı duyarlılığı tersine çevirebildiği gösteren çok sayıda çalışma vardır (Sommer ve ark. 1998a, 2001, Milligan ve ark. 2001, Onda ve ark. 2003). TNF üretiminin disregülasyonunun sepsis, serebral malarya, diyabet, Alzheimer hastalığı (Swardfager ve ark. 2010), kanser, majör depresyon, astım, osteoporoz, allogreft reddi ve otoimmün hastalıklardan psoriasis, inflamatuvar bağırsak hastalığı (Crohn hastalığı), romatoid artrit, multipl skleroz gibi çeşitli insan hastalıklarında yer aldığı gösterilmiştir (Chen ve Goeddel 2002, Lees ve ark. 2013).

Bu bozukluklar bazen TNF inhibitörü kullanılarak tedavi edilir. Bu inhibisyon piyasaya sürülen ilaçlarla örneğin, İnfliksimab (Remicade), adalimumab (Humira), golimumab, certolizumab pegol (Cimzia) gibi humanize monoklonal anti-TNF antikörleri ve TNF'ye, TNFR'ye göre daha yüksek afinite ile bağlanan Etanersept (Enbrel, çözünür TNF reseptörü) gibi TNF reseptörü füzyon proteini ile sağlanabilir (Sfikakis 2010, Lees ve ark. 2013, Brzustewicz ve Bryl 2015). TNF'nin nöropatik ağrıdaki önemli rollerinden biri, sinir hasarı olan sıçanlarda veya farelerde TNF düzeylerinin azaltılması ile belirtilir. TNF sentezinin talidomid veya sinir hasarı sırasında anti-TNF nötralize edici antikörlerle tedavi edilerek inhibe edilmesi CCI ve PST (kısmi siyatik sinir transeksiyonu) gibi çeşitli nöropati hayvan modellerinde hiperaljezi ve allodini gelişimini bloke eder (Sommer ve ark. 1998a, b, 2001a). Onda ve ark. (2003) sinir köküne anti-TNF antikörlerin

uygulanmasının nucleus pulposus tarafından indüklenen anormal ağrı yanıtını kısmen önlediğini göstermiştir. Bu nedenle, anti-TNF tedavi lomber disk hernisinin (bel fıtığı) ardından siyatik üzerinde terapötik bir etkiye sahip olabilir.

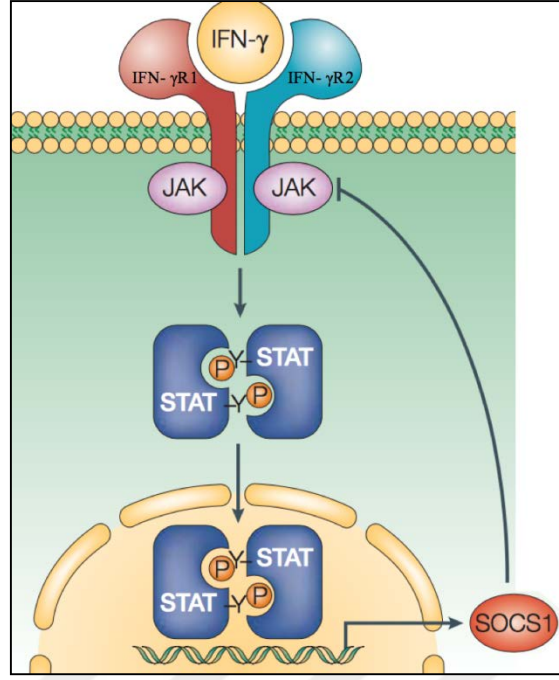
TNF antagonisti olarak etki eden bir rekombinant TNF reseptörü (p75)-Fc füzyon proteini olan etanersept ile tedavi, siyatik sinir CCI'si olan farelerde belirlenmiş hiperaljeziyi tersine çevirmiştir (Sommer ve ark. 2001b). TNF reseptörlerine karşı nötralize edici antikörlerin endonöral enjeksiyonu, nöropatik hiperaljezinin TNFR1 reseptörüne bağımlı olduğunu gösterir (Sommer ve ark. 1998b). DRG nöronlara ekzojen TNF uygulaması hasarlı ve bitişindeki hasarsız sıçan primer duyuşal nöronların duyarlılığını artırır ve spinal sinir ligasyonundan (SNL) sonra erken dönemde allodini ve spontan ağrı davranışının ortaya çıkmasını hızlandırır (Schafers ve ark. 2003c). Etanerseptin spinal sinir üzerine epidural uygulaması, spinal stenozun neden olduğu ağrının azaltılmasında etkilidir (Ohtori ve ark. 2012b).

TNF sinir hasarının ardından ağrı mediyatörü p38'i aktive eder, bu yol ağrı iletimine aracılıkta önemli olduğu düşünölen bir sinyalleme yoludur. SNL (spinal sinir ligasyonu) hasarı olan sıçanlarda p38 inhibitörleri (SB203580) veya etanersept ile ön tedavi mekanik allodiniyi anlamlı olarak azaltır (Schafers ve ark. 2003d). TNF inhibitörlerinin ve inhibitörlerinin farklı nöropatik ağrı formlarının tedavisinde etkili olabileceğini gösteren kanıtlar mevcuttur (Lees ve ark. 2013).

SNL modelinde, mekanik ağrı davranışları, aksotomize DRG'de sempatik filizlenme, pro-inflamatuvar sitokinlerde artış ve duyuşal nöronlarda spontan aktivite ve uyarılabilirliğinde artış gözlemlenmektedir (Li ve ark. 2007). Bu model L5 ve L6 veya tek başına L5 spinal sinirlerin ligasyonunu içerir, bu şekilde, L5-L6 DRG'deki aksotomize nöronların, uyarılmış ağrı davranışlarına aracılık eden L4'teki sağlam nöronlardan ayrılması mümkün olur (Kim ve Chung 1992). Nöropatik ağrı modeli olarak yaygın şekilde kullanılmasına karşın (Kim ve Chung 1992), diğere sinir hasarı modelleri gibi (örneğin CCI), makrofajların ve T hücrelerinin, aksotomize ve bitişik DRG'ye infiltrasyonunu indüklediğini gösterilmiştir (Hu ve McLachlan 2002).

#### 2.4.5.5. IFN- $\gamma$

İnterferon gama (IFN- $\gamma$ ), interferonların tip II sınıfının tek üyesi olan dimerize çözünen bir sitokindir (Gray ve Goeddel 1982) ve birçok kronik ağrı durumunda rol oynadığı gösterilmiştir (Austin ve Moalem-Taylor 2010). IFN- $\gamma$  antiviral, immünoregülatör ve antitümör özellikler taşımaktadır (Schroder ve ark. 2004). IFN- $\gamma$ , çeşitli hücre içi patojenlere (viral, bazı bakteriyel ve parazitik enfeksiyonlar) karşı doğal/doğuştan gelen ve edinsel bağışıklık yanıtları ve tümör baskılayıcı yolların kontrolünde rol oynayan pro-inflamatuvar bir sitokindir (Schroder ve ark. 2006, Schoenborn ve Wilson 2007). Ancak, anormal IFN- $\gamma$  ekspresyonu bir takım otoinflamatuvar ve otoimmün hastalık ile ilişkilendirilmiştir. IFN- $\gamma$ , ağırlıklı olarak doğuştan bağışıklık yanıtının bir parçası olarak doğal öldürücü (NK) hücreler ve doğal öldürücü T (NKT) hücreler tarafından üretilir, antijen-spesifik bağışıklık geliştikten sonra Th1 (T yardımcı hücreler) CD4 ve CD8 sitotoksik T lenfosit (CTL) efektör T hücreleri tarafından üretilir (Hu ve ark. 2003, Schoenborn ve Wilson 2007). Erişkin omuriliğinde, periferik sinir hasarının ardından dorsal boynuzda T hücresi infiltrasyonu ve aktivasyonu, nöropatik ağrı benzeri aşırı duyarlılığın evrilmesine katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, IFN- $\gamma$  sinyal yolunun, yetişkin nöropatik aşırı duyarlılığının tam ekspresyonu için gerekli olduğunu da göstermişlerdir (Costigan ve ark. 2009). IFN- $\gamma$ 'ya verilen hücresel yanıtlar, interferon gama reseptör 1 (IFN-  $\gamma$ R1) ve interferon gama reseptör 2 (IFN-  $\gamma$ R2) den oluşan heterodimerik reseptör ile etkileşim yoluyla aktive edilmektedir. IFN- $\gamma$ 'nın reseptöre bağlanması JAK-STAT yolunu aktive eder. Sitokin stimülasyonunun ardından JAK'ların (JAK1 ve JAK2) aktivasyonu STAT'ların (STAT1) fosforilasyonuna yol açar, dimerize olur ve nukleusa transloke olurlar ve ardından, STAT1 hedef genlerin transkripsiyonunu modüle etmek için spesifik DNA dizinlerine (GAS, gamma activated sequence) bağlanırlar (Şekil 2.40). IFN- $\gamma$ , SOCS1 (sitokin sinyalleme süpresörü 1) ekspresyonunu JAK-STAT yolu üzerinden indükler. SOCS1, IFN- $\gamma$  sinyal yolunun negatif bir regülatörüdür. Sitokin reseptörlerinin downstream kaskadlarını aktive etmesi sonucu SOCS1 geni tarafından kodlanan protein, sitokin sinyalini zayıflatmak için negatif bir geri bildirim döngüsüne katılır. Farelerdeki SOCS1 eksikliği bu genin, normal postnatal büyüme ve sağkalım için gerekli olan IFN- $\gamma$  etkisinin bir modülatörü olarak önemli rolünü göstermiştir (Meyer ve ark. 2002, Shuai ve Liu 2003, Schroder ve ark. 2004, Hu ve Ivashkiv 2009).



**Şekil 2.40.** IFN- $\gamma$  sinyal iletim yolu (Shuai ve Liu 2003)

IFN- $\gamma$ , ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından kronik granümatöz hastalık (Todd ve Goa 1992) ve osteopetrosis (Key ve ark. 1992) tedavisi için onaylanmıştır ve kansere karşı bir immünoterapötik ajan olarak uygulanma olasılığı da giderek artmaktadır. IFN'nin kronik miyelojenik lösemi (CML), Kaposi sarkomu, lenfomalar, tüylü hücreli lösemi, multipl miyelom, gliomalar, yumurtalık karsinomu, renal hücre karsinomu, melanoma ve multipl skleroz tedavisindeki etkinliği kanıtlanmıştır (Kalvakolanu 2003). IFN- $\gamma$  mesane karsinomu ve melanom kanserleri olan hastalara uygulanmıştır. IFN- $\gamma$ 'nın kanser hücrelerindeki *in vitro* çalışması daha kapsamlıdır ve sonuçlar IFN- $\gamma$ 'nın antiproliferatif aktivitesinin büyüme inhibisyonuna veya genellikle apoptoz bazen de otofaji tarafından indüklenen hücre ölümüne neden olduğunu göstermektedir (Razaghi ve ark. 2016). Rekombinant hIFN'nin *in vitro*, *in vivo* veya klinik çalışmalarda mesane, kolon, karaciğer, akciğer, melanom, yumurtalık, pankreas, böbrek ve yumuşak doku sarkomu gibi farklı kanser tipleri üzerindeki bazı etkileri özetlenmiştir (Razaghi ve ark. 2016).

Kanser hastalarında IFN- $\gamma$  tedavisinin spontan ağrıyı indüklediği bildirilmiştir (Quesada ve ark. 1986, Mahmoud ve ark. 1992). Wild-tip farelerde intratekal IFN- $\gamma$  uygulaması ağrıya karşı aşırı duyarlılığı indüklemiştir, ancak IFN- $\gamma$ R (IFN- $\gamma$ R $^{-/-}$ ) fonksiyonel gen bozukluğu olan fareler yanıt vermemiştir (Robertson ve ark. 1997).

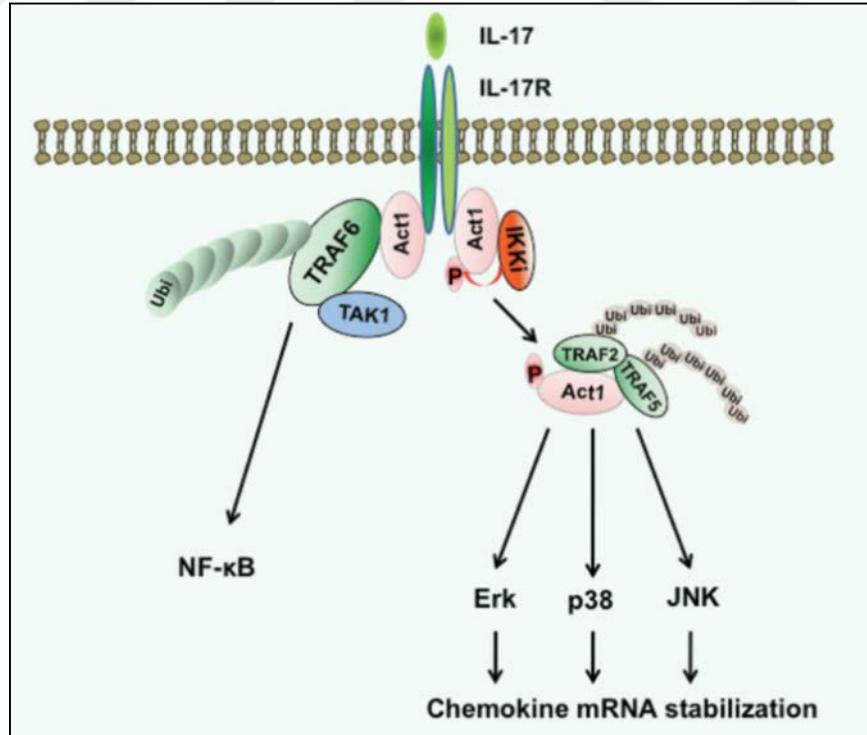
IFN- $\gamma$ 'nın intratekal uygulaması dorsal boynuz nöronlarında spontan ve uyarılmış yanıtla, ayrıca siyatik sinirin elektriksel uyarımına yanıt olarak aksiyon potansiyel değişimlerinin anlamlı artışına neden olabilir (Vikman ve ark. 2005). MSS'de, artmış IFN- $\gamma$  düzeylerinin uzun süreli varlığı, dorsal boynuzdaki inhibitör tonusu azaltarak merkezi duyarlılaşmaya ve persistan ağrıya katkıda bulunabilir (Vikman ve ark. 2007). Mikroglia içerisinde IFN- $\gamma$  reseptör sinyali, başta iNOS (indüklenebilir nitrik oksit sentaz), CCR2 (kemokin reseptör), Lyn tirozin kinaz ve pürinerjik P2X<sub>4</sub> reseptörü (Racz ve ark. 2008, Tsuda ve ark. 2009) olmak üzere hepsi nöropatik ağrı durumlarının gelişmesine katkıda bulunan çeşitli proteinlerin up regülasyonuna neden olur. CB<sub>2</sub> reseptörü sinyalinin downstreaminde kannabinoidlerin analjezik özellikleri kısmen IFN- $\gamma$  ile iNOS ve CCR2 indüksiyonunun tersine çevrilmesi ile ilgilidir (Racz ve ark. 2008). Allison ve ark. (2016) omurilik hasarı (SCI) sonrasındaki nöropatik ağrının tedavi yolu olarak, pro-enflamatuvar sitokinlerin (IFN- $\gamma$ , IL-2) ve eikosanoid PGE<sub>2</sub>'nin azalmasıyla ilgili potansiyel mekanizma ile inflamasyonun hedef alınmasının etkililiğini göstermiştir.

#### **2.4.5.6. IL-17**

IL-17, yardımcı T hücreleri olarak kabul edilen T<sub>h</sub>17 hücreleri adı verilen aktive edilmiş CD4<sup>+</sup> T hücreleri, CD8<sup>+</sup> T hücreleri, nötrofiller, eozinofiller, monositler, NK hücreler ve MSS hücreleri (örneğin astrositler, mikroglia/glia hücreleri, oligodendrositler) tarafından üretilen pro-inflamatuvar sitokindir (Ferretti ve ark. 2003, Kleinschnitz ve ark. 2006, Kawanokuchi ve ark. 2008, Austin-Moalem-Taylor 2010, Kim ve Moalem-Taylor 2011) ve multipl skleroz (Kawanokuchi ve ark. 2008, Tzartos ve ark. 2008), psoriasis (Martin ve ark. 2013) ve romatoid artrit (Kellner 2013) gibi sinir sistemi inflamatuvar hastalıklarında önemli bir rol oynamaktadır. IL-17'nin inflamasyona katılımı eklemlere nötrofil migrasyonu indüksiyonunu ve IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, kemokinler ve metalloproteinazların (MMP) üretiminde artışı içerir (Brzustewicz ve Bryl 2015). IL-17 sinir sisteminin geniş bir yelpazesinde yer alan inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda ve inflamatuvar hücrelerin hasar bölgelerine alınmasında rol almaktadır (Hu ve ark. 2011, Kim ve Moalem-Taylor 2011). IL-17 ailesi romatoid artrit, astım, lupus, allogreft reddi, antitümör bağışıklık ve yakın zamanda da psoriasis ve multipl skleroz dahil pek çok immün/otoimmün ilişkili hastalık ile bağlantılıdır (Kim ve Moalem-Taylor 2011, [https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin\\_17](https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_17)).



IL-17'nin heteromerik IL-17 reseptör kompleksine (IL-17RA ve IL-17RC'den oluşur) bağlanması adaptör molekül ve E3 ubikuitin ligaz Act1'in alınmasına yol açar. Act1 olarak bilinen adaptör molekül, IL-17R sinyal yolunda önemli bir mediyatördür. Moleküler düzeyde Act1, korunmuş SEFIR bölgesi yoluyla IL-17R ile etkileşime girer, TRAF proteinlerine bağlanır, E3 ubikuitin ligaz aktivitesi uygular ve inflamatuvar yanıtı merkezi olan sitokin ve kemokin genlerinin indüksiyonunu koordine eden NF- $\kappa$ B ve MAPK sinyal yollarının aktivasyonunu tetikler (Qian ve ark. 2007, Liu ve ark. 2009, Shembade ve Harhaj 2011, Wu ve ark. 2012). TRAF6 ve TAK1, Act1 ile işbirliği yaparak NF- $\kappa$ B'yi aktive ederler, bu pro-inflamatuvar genlerin indüksiyonu için önemlidir. Ek olarak, kinaz IKKi (indüklenebilir I $\kappa$ B kinaz, Act1'in önemli bir regülatörüdür) Ser 311 üzerinde Act1'i fosforile ederek Act1'in TRAF6 (TNF reseptör ilişkili faktör 6) afinitesini azaltır ve TRAF2/5 etkileşimlerini teşvik eder. Act1'in TRAF2/5'e bağlanması MAPK sinyal yolunu aktive ederek belirli kemokin mRNA'larının stabilizasyonuna yol açar. IL-17'nin NF- $\kappa$ B'yi ve MAPK'lerin 3 alt grubunu, I) hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (Erk1 ve Erk2), II) Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinazlar (JNK) ve III) p38 çeşitli hücre tiplerinde aktive ettiği bilinmektedir (Shembade ve Harhaj 2011) (Şekil 2.41).



Şekil 2.41. IL-17 sinyal iletim yolu (Shembade ve Harhaj 2011)

IL-17'ye karşı humanize monoklonal antikorlar, örn. Secukinumab (ticari adı Cosentyx), ixekizumab (ticari adı Taltz) ve anti-IL-17 reseptör alt birimi A monoklonal antikor Brodalumab (AMG-827) şiddetli psoriasis, prosiyatik artrit, romatoid artrit ve multipl skleroz dahil bir dizi inflamatuvar rahatsızlığın tedavi edilmesindeki etkililikleri açısından değerlendirilmektedir (Kellner 2013, Lees ve ark. 2013, Brzustewicz ve Bryl 2015, Wei ve Duan 2016). Anti-IL-23 antikor ustekinumab aynı zamanda IL-17'yi azaltarak psoriasis etkin şekilde tedavi etmek amacıyla da kullanılabilir (Leonardi ve ark. 2008).

Fare siyatik sinirinde CCI'nin ardından, dejenere olan sinirlerde IL-17 ekspresyonunda artış vardır, söz konusu artış 7 günün ardından en üst noktaya çıkar ve IL-17 pozitif T hücreleri hasar gören sinirin endonevriyumu içerisinde ko-lokalle olmuştur. T hücresi inflamasyonunun çok önemli rolünü destekler şekilde, T hücresi eksik Rag-1<sup>-/-</sup> farelerde hasarlı sinirde IL-17 eksprese edilmedi, ayrıca CCI'nin ardından T hücresi eksikliği; termal hiperaljezide, makrofaj marker molekül F4/80 için mRNA düzeylerinde ve kemokin MCP-1 (makrofaj kemoatraktan protein-1) ekspresyonunda azalmalar ile ilişkilendirildi. T hücrelerinin ve T hücrelerinden türevlenen sitokinlerin periferik sinir hasarından sonraki inflamatuvar yanıtta katkıda bulunduğu görüşünü desteklemiştir (Kleinschnitz ve ark. 2006).

Kim ve Moalem-Taylor (2011), IL-17'nin nöroinflamasyon ve ağrıya karşı aşırı duyarlılığa aracılık edilmesindeki rolünü, farelerde kısmi siyatik sinir ligasyonu (PSNL) nöropatik ağrı modelini kullanarak incelemiştir. Kısmi siyatik sinir ligasyonu (PSNL) hasarı olan IL-17<sup>-/-</sup> knockout farelerin wild tipe kıyasla mekanik ağrıya karşı aşırı duyarlılıkta ve MSS glia aktivasyonunda anlamlı azalma gösterdiğini göstermiştir.

IL-17 uygulamasının işlem görmemiş farelerde sinir sisteminin çeşitli düzeylerinde ağrılı davranışlar indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca, rekombinant IL-17'nin sırasıyla arka ayağa ve siyatik sinirine intraplantar ve intranöral enjeksiyonu hem mekanik allodiniyi hem de termal hiperaljeziyi indüklerken, intratekal enjeksiyon termal hiperaljeziye yol açar. Ayrıca, IL-17<sup>-/-</sup> knockout farelerde, T hücrelerinin ve makrofajların hasarlı siyatik sinirlere ve DRG'lere infiltrasyonuna karşılık gelen azalma ve omurilikteki mikroglia ve astrositlerin aktivasyonunda azalma gözlenmiştir (Kim ve Moalem-Taylor 2011).

IL-17'nin periferik sinir hasarının ardından hasar bölgesinde bağışıklık hücresi infiltrasyonu ve aktivasyonuna ve omurilikte glia aktivasyonuna katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar artmaktadır, bunların hepsi nöropatik ağrı gelişimine ve sürdürülmesine katkıda bulunur (Austin ve Moalem-Taylor 2010).

IL-17 aracılı hiperaljezinin nötrofil migrasyonuna ve TNF'nin TNF-R1'e bağlandığı sinyal yoluna bağımlı olduğu gösterilmiştir (McNamee ve ark. 2011). IL-17'ye karşı bir monoklonal antikorun intraperitoneal uygulaması, antijen ile indüklenen artrit (AIA) olan sıçanlarda paw guarding davranışını ve hiperaljeziyi azaltır (Richter ve ark. 2012).

Day ve ark. (2014) IL-17<sup>-/-</sup> knockout farelerin kısmi siyatik sinir ligasyonundan sonra davranışsal hipersensitivitesinin daha düşük olması, hasar gören bölgeye inflamatuvar hücre infiltrasyonunun azalmasının sonucu olabilir, bu durum periferik hasarlı sinirde pro- ve antiinflamatuvar sitokin mikro-çevresinin modülasyonu ile sonuçlanır. Bu nedenle, IL-17 nöropatik ağrı patogenezinin kritik bir bileşeni olabilir ve hayvan modellerinden elde edilen sonuçlara göre bu biyolojik ürünler nöropatik ağrı tedavisi için insanlardaki klinik çalışmalarda test edilebilir (Lees ve ark. 2013).

Sonuç olarak, sitokinler, kemokinler ve bunların reseptörleri ve sinyal yolları CIPN gelişiminde yer alırlar. Bu nedenle, kemoterapiden sonra sitokin ve kemokin ekspresyonunun karakterizasyonu CIPN gelişimine yeni bir anlayış kazandırabilir ve CIPN'yi etkin şekilde önleme veya tedavi stratejilerinin gelişimine yol açabilir.

#### **2.4.6. CIPN'nin önlenmesi ve tedavisi**

Kemoterapötik ajanların CIPN'ye neden olduğu nörotoksik mekanizmalar hala tam olarak bilinmemektedir, ancak mekanizmaların her ajan için farklı ve spesifik olması olasıdır ve bu nedenle, tedavilerin ajana özgü olması gerekebilir. Şu anda CIPN'nin meydana gelmesini önlemek için herhangi bir farmakolojik veya başka tedavi mevcut değildir. Dolayısıyla ile, doz azaltımı, kemoterapinin geçici olarak kesilmesi, sonunda sorumlu ajanın kesilmesi ve alternatif kemoterapi kullanımı CIPN yönetiminde uygulanan başlıca stratejiler olmuştur ve bu durumun optimum tedaviyi etkilemesi mümkündür (Grisold ve ark 2012, Brewer ve ark. 2016, Zhang ve ark. 2016).

Ancak, kemoterapinin hastalardaki nörolojik yan etkilerinin yönetimi ve kemoprotektif ajanların geliştirilmesi için gösterilen yoğun çabalara karşın şu anda genel olarak kabul görmüş bir terapi mevcut değildir. Bu nedenle, pek çok araştırma klinik öncesi ve klinik ortamlarda kemoterapi ilaçlarının toksisitesini azaltmak amacıyla kullanılan nöroprotektanların moleküler ve hücresel mekanizmalarının belirlenmesi ve anlaşılmasına odaklanmıştır (Cavaletti ve ark. 2008). Yapılan çalışmaların çoğu kanser hücrelerinin tedavisiyle ilgili genlerin nörotoksisite açısından da önemli olabileceği hipotezine dayanmaktadır. Bu, araştırmanın hücre içi detoksikasyon, DNA onarımı ve ilacın hücreye girişi ve çıkışı için önemli genlere odaklanmasına yol açan, kanıtlanmamış bir varsayımdır (Grisold ve ark. 2012).

CIPN kemoterapötik ajanlarda doz uygulamasını sınırlayan ciddi bir yan etkidir ve şu anda doğrudan FDA tarafından onaylanmış bir tedavi seçeneği yoktur. Hastanın yaşam kalitesini, kemoterapi tedavisinin antikanser etkisini bozmaksızın iyileştirmek amacıyla nöroprotektif ajanlar geliştirilmiştir. Tedaviler için önerilen birinci seçenek analjezik ajanlar trisiklik antidepresanlar (amitriptilin, nortriptilin, imipramin, desipramin), kalsiyum kanalı alfa-2-delta ligandları (gabapentin ve pregabalin), serotonin noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI) (venlafaksin, duloksetin) ve topikal lidokaindir (%5 lidokain yama). Yaygın olarak kullanılan diğer ikinci tedaviler seçeneği opioid analjezikler/narkotikler (morfin, kodein, tramadol, fentanil, oksikodon, oksimorfon, hidrokodon, hidromorfon, meperidin, metadon, levorfanol), antiepileptikler (gabapentin, karbamazepin, okskarbazepin, pregabalin, lamotrijin, fenitoin), meksiletin, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistleri ve topikal kapsaisindir (Dworkin ve ark. 2007, Walker ve Ni 2007, Wolf ve ark. 2008, Kaley ve DeAngelis 2009, Abramowski 2010, Park ve ark. 2013, Hershman ve ark. 2014, Moulin ve ark. 2014, Park 2014, Piccolo ve Kolesar 2014, Avan ve ark. 2015, Trivedi ve ark. 2015, Schloss ve ark. 2016). CIPN için yeni bir tedavi seçeneği olabilecek kannabinoidler üçüncü tedavi seçeneği olarak önerilmektedir ve sağlam randomize kontrollü çalışmalarda (RCT) değerlendirilmelidir (Lynch ve ark. 2014), bununla birlikte, önerilen dördüncü tedavi seçeneği daha az etkililik kanıtına sahip olan antikonvülsanları (lamotrijin, lakosamid), tapentadolü, botulinum toksinini içerir (Moulin ve ark. 2014).

Hayvan çalışmaları Asetil-L-karnitin (ALC) CIPN'nin önlenmesinde ve/veya azaltılmasında faydalı olabileceğini göstermektedir (Flatters ve ark. 2006). Diğer bir tedavi seçeneği, CIPN çalışmalarında kesin olmayan sonuçlar vermiş, bileşiminde baklofen, amitriptilin HCL ve ketamin bulunan topikal jel gibi analjezik ajanların topikal uygulamasını içerir (Barton ve ark. 2011, Hershman ve ark. 2014, Piccolo ve Kolesar 2014). Bununla birlikte, küçük bir molekül anjiyotensin II tip 2 (AT2) reseptör antagonisti, nöropatik ağrı için yeni bir tedavi seçeneği olabilir (Park ve ark. 2013, Smith ve ark. 2016). Sulu krem içerisindeki mentolün (%1) topikal uygulamasını inceleyen çalışmalarda bunun kanser tedavisi ile ilgili nöropatik ağrı için yeni bir analjezik terapi olarak faydalı bulunmuştur (Storey ve ark. 2010, Fallon ve ark. 2015). Ek olarak, yüksek doz topikal kapsaisin lokal uygulaması ağrı duyarlılığında fayda gösterebilmektedir ancak CIPN için herhangi bir çalışma gerçekleştirilmemiştir (Evangelista 2015). Duloksetin CIPN tedavisi için en etkili farmasötik ajan olmuştur (Park 2014, Schloss ve ark. 2016). İyi tasarlanmış randomize kontrollü çalışmalarda günde 60 mg dozunda duloksetinin CIPN'nin hafifletilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Smith ve ark. 2013). CIPN tedavisindeki etkililikleri açısından incelenmiş olan bir dizi farmakolojik ajan Çizelge 2.11'de gösterilmiştir (Brewer ve ark. 2016).

**Çizelge 2.11.** CIPN tedavisi açısından değerlendirilen seçili farmasötik ajanlar (Brewer ve ark. 2016)

<b>Farmakolojik ajan</b>	<b>Nörotoksik kemoterapi</b>
<b>Asetil-L-karnitin</b>	Taksanlar
<b>Duloksetin</b>	Taksanlar, platin
<b>Gabapentin</b>	Vinka alkaloidleri, platin veya taksanlar
<b>Lamotrijin</b>	Vinka alkaloidleri, platin veya taksanlar
<b>Nortriptilin/amitriptilin</b>	Vinka alkaloidleri, platin (sisplatin) veya taksanlar
<b>Topikal (amitriptilin, ketamin, ± baklofen)</b>	Vinka alkaloidleri, platin, taksanlar veya talidomid

RCT'ler bu ilaçların tamamen etkili olmadığını kanıtlamıştır. Nedeninden bağımsız olarak, nöropatik ağrı genellikle farmasötik tedaviyle başarılı bir şekilde yönetilmez. Nöropatik ağrının farmasötik yönetimi için kanıta dayalı önerilerin sistematik bir incelemesinde, ilaçların hastaların yalnızca %40'ı ila %60'ında ağrıyı kısmen giderdiği belirlenmiştir (Dworkin ve ark. 2007). Nöroprotektanlar CIPN'nin önlenmesi açısından yalnızca çok düşük bir etki göstermektedir ancak farmakoterapötiklere alternatif olarak nutrasötikler CIPN'nin tedavisinde ve önlenmesinde daha ümit verisi sonuçlar göstermiştir (Park 2014). Daha önceki incelemeler çoğunlukla farmakolojik müdahalelere odaklanmaktadır ancak CIPN için doğal ürünler ve tamamlayıcı terapiler gibi farmakolojik olmayan müdahaleler de değerlendirilmiştir.

İntegratif Onkoloji Derneği (SIO, Society for integrative oncology) kılavuzları (Deng ve ark. 2009) tamamlayıcı terapi aralığını; besin takviyeleri (pek çok doğal ürünü içerir), akupunktur, dokunma terapisi, akıl-vücut yöntemleri ve fiziksel aktivite içerecek şekilde kategorize etmiştir. Vitamin E, glutamin, glutatyon (GSH), Asetil-L-karnitin (ALC), N-asetilsistein (NAC), dietilditiyo-karbamat (DDTC), Org 2766, BNP7787,  $\alpha$ -lipoik asit (ALA), amifostin (WR-2721), amitriptilin, karbamazepin/okskarbazepin, pregabalın, venlafaksin, lamotrijin, ksaliproden, nimodipin, eritropoietin, retinoik asit (all-trans retinoik asit), omega-3 yağ asitleri, vitamin B6, vitamin B12, kalsiyum-magnezyum infüzyonu, rekombinant insan lösemi inhibitör faktör (rhuLIF/AM424), dimesna, bitkisel ilaçlar (Goshajinkigan/GJG/Kampo ilaçları) ve yanı sıra örneğin masaj, akupunktur, dokunma terapisi, akıl-vücut uygulamaları, yoga, meditasyon, Tai-Chi, fiziksel aktivite veya egzersiz de CIPN'nin önlenmesine yardımcı olabilir (Walker ve Ni 2007, Wilkes 2007, Cavaletti ve ark. 2008, Park ve ark. 2008, Wolf ve ark. 2008, Paice 2009, Abramowski 2010, Schloss ve ark. 2013, 2016, Park ve ark. 2013, Argyriou ve ark. 2014, Hershman ve ark. 2014, Piccolo ve Kolesar 2014, Avan ve ark. 2015, Trivedi ve ark. 2015, Brami ve ark. 2016). Bir takım farmakolojik ajanın CIPN'nin önlenmesindeki etkileri açısından araştırılmış olmasına ve birkaç minimum düzeyde pozitif çalışmanın bulunmasına karşın, bunların hiç biri klinik uygulamada standart kullanım için yeterli faydayı göstermemiştir (Brewer ve ark. 2016) (Çizelge 2.12).

**Çizelge 2.12.** CIPN'nin önlenmesi açısından test edilen farmakolojik ajanlar (Brewer ve ark. 2016)

<b>Farmakolojik ajan</b>	<b>Nörotoksik kemoterapi</b>
<b>Amifostin</b>	Platin ve taksan (spesifik olarak karboplatin + paklitaksel)
<b>Glutamin:</b>	Oksaliplatin
<b>Glutatyon</b>	Platin
<b>Okskarbazepin</b>	Oksaliplatin
<b>Venlafaksin</b>	Oksaliplatin
<b>Asetil-L-karnitin</b>	Platin
<b>Amitriptilin</b>	Vinka alkaloidleri, platin veya taksanlar
<b>Kalsiyum ve Magnezyum</b>	Oksaliplatin
<b>Dietilditiyokarbamat (DDTC)</b>	Platin
<b>Glutatyon</b>	Özel olarak paklitaksel + karboplatin için
<b>Nimodipin</b>	Sisplatin
<b>Org 2766</b>	Sisplatin veya vinka alkaloidleri
<b>Retinoik asit</b>	Sisplatin + paklitaksel
<b>Rekombinant insan lösemi inhibitör faktör (rhuLIF)</b>	Paklitaksel + sisplatin
<b>Vitamin E</b>	Taksan veya platin

Çeşitli kemoprotektif ajanlar sisplatinle indüklenen PN'yi sınırlandırabilme veya önleyebilme özellikleri açısından test edilmiştir. Potansiyel kemoprotektanlar (asetilsistein, amifostin, dietil-ditiyo-karbamat, glutatyon, Org 2766, kalsiyum ve magnezyum, okskarbazepin ve vitamin E) ile ilgili yakın tarihli iki Cochrane Library incelemesinde, bunların insan hastalarda sisplatinle indüklenen PN'deki etkinliğini destekleyecek verilerin yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır (Albers ve ark. 2011, 2014). Bu nedenle, sonuçların daha geniş bir test ortamında konfirme edilmesi gereklidir. O zamana kadar, doz azaltımı veya sikluslar arasında daha uzun bir aralık sisplatinle indüklenen PN'nin iyileştirilmesi için tek yoldur (Argyriou ve ark. 2012).

Nöron onarımı mekanizmaları iyi anlaşılmamıştır ancak DRG nöronlarının korunmasında rol oynayan sinir büyüme faktörünün (NGF) dolaşımdaki düzeylerini kapsayabilir. NGF nörotoksik sisplatin kemoterapisinin ardından azalır (Cavaletti ve ark. 2002). Ekzojen NGF uygulaması sisplatinle indüklenen davranışsal/yapısal değişiklikleri önler veya azaltır ve farelerde sisplatinle indüklenen PN'nin iyileşmesini teşvik eder (Aloe ve ark. 2000, Quasthoff ve Hartung 2002). Sisplatin, oksalipatin ve vinkristin ile tedavi edilmiş farelerin değerlendirildiği klinik öncesi çalışmalar poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörlerinin CIPN'nin önlenmesinde terapötik ajan olarak bir role sahip olabileceğini göstermiştir (Ta ve ark. 2013). Glutamat taşıyıcılarının down regülasyonunu içeren nörotransmitter değişiklikler potansiyel koruyucu etkilere sahip olabilir. Değerlendirebilecek olası ajanlar örn. donepezil, galanatamin ve takrin gibi Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılan asetilkolinesteraz inhibitörleri gibi, fenil pirimidin bileşiklerini içermektedir (Takada-Takatori ve ark. 2006). Bu ilaçların nöronları koruduğu ve glutamat nörotoksitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu durum araştırmacılara CIPN'den korunma için dikkate alınacak yeni bir yol sunmaktadır (Schloss ve ark. 2016). Yukarıda gösterildiği üzere, şu anda CIPN için yalnızca sınırlı sayıda tedavi mevcuttur. Ancak, bu bileşiklerin hiçbiri şu anda kanıtlanmış klinik bir role sahip değildir ve daha büyük prospektif klinik çalışmaları gerekçelendirecek faydalı kanıtların gerekeceği açıktır. CIPN'nin önlenmesi ve yönetimi ile ilgili 2014 ASCO kılavuzlarında nörotoksik ajanlar ile tedavi altına alınan kanser hastalarında CIPN'nin önlenmesi için herhangi bir ajan önerilmemiştir (Hershman ve ark. 2014). Uzun dönemde kanserden sağ kalanların sayısı arttıkça, uzun dönem etkiler de daha önemli hale gelmektedir. Bu nedenle, CIPN'nin önlenmesine veya tedavi edilmesine yardımcı olabilecek potansiyel terapötik ajanların belirlenmesi çok büyük önem taşımaktadır.

Bu amaçla bu tez çalışmasında, laboratuvarımızda daha önceden antikanser etkin integrin antagonistleri ve antioksidanların, pankreas kanseri hücrelerinde sisplatine karşı oluşan ilaç direncini azaltarak, sisplatin etkinliğini arttırması sonucu kanser hastalarında sağkalım sürelerinin arttırılmasına yönelik olacağı düşünülen ilaç ve ilaç adaylarının test edilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca, kanser hastalarının kemoterapi sonrası maruz kaldıkları yaşam kalitesini olumsuz etkileyen sisplatin kaynaklı periferik nöropatin bu bileşikler ile etkili bir şekilde iyileştirilmesi ve/veya azaltılması potansiyeli de *in vitro* ve *in vivo* olarak değerlendirilmiştir.



### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bileşikler ve reaktifler

- DAT (diamino-tetrac) ve NDAT (Nano-diamino-tetrac, tetraiyodotiroasetik asit (tetrac) ile konjüge poli (laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) olarak), PRI'de (Pharmaceutical Research Institute, Albany College of Pharmacy and Health Sciences Rensselaer, NY, ABD) sentezlenmiş olan patentli kimyasal formülasyonlardır.
- XT199 ( $\alpha\beta3$  integrin antagonisti), DuPont Pharmaceutical Company (Wilmington, DE, ABD) tarafından sentezlendi ve karakterize edildi.
- OT-404 (Tempol'den (4-hidroksi-2,2,6,6-tetrametilpiperidin) elde edilen küçük bir molekül), Othera Pharmaceuticals (Exton, PA, ABD) tarafından sentezlendi.
- EGCG (Epigallokateşin gallat) (E4143), LPS (Escherichia coli 0111:B4'ten elde edilen lipopolisakkaritler) (L4391), sisplatin (cis-diamin-platin (II) diklorür) (479306), QNZ EVP4593 (6-amino-4-(4-fenoksifenetil-amino)kinazolin) (NF- $\kappa$ B inhibitörü olarak biliniyor) (SML0579), Sigma (Saint Louis, MO, ABD) firmasından satın alındı. Gemsitabin hidroklorür (122111-03-9), Chemiceuticals LLC (Apex, NC, ABD) firmasından satın alındı.
- Lusiferaz test sistemi (E1500), Promega (Madison, WI, ABD) firmasından satın alındı.
- Quanti-luc (koelenterazin bazlı bir lüminesans test reaktifi), InvivoGen (San Diego, California, ABD) firmasından satın alındı.

##### 3.1.2. Bileşiklerin stok çözeltilerinin hazırlanması

*In vitro* testlerde kullanım amaçlı, bileşiklerin stok konsantrasyonları 1 mM olarak PBS (gemsitabin, EGCG, NDAT ve DAT) ve DMSO (OT-404, XT199 ve QNZ EVP4593) içerisinde hazırlandı. Sisplatinin 1 mM stok konsantrasyonu, %0,9 Sodyum klorür (NaCl) (Sigma, S3014) ve %10 D-mannitol (Sigma, M9546) ilave edilmiş steril su (Sigma, W3500) içerisinde tedavi öncesi taze hazırlandı.

*In vivo* testlerde kullanım amaçlı, bileşiklerin dozları 20 gr ağırlığındaki bir fareye 200  $\mu$ l çözücü içerisinde tedavi uygulanması yönünde NDAT ve XT199 0,3 mg/ml, OT-404 3 mg/ml, EGCG 5 mg/ml ve sisplatin 0,1 mg/ml olarak yukarıda belirtilen çözücüler içerisinde hazırlandı.

Test bileşiklerinin *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda kullanım amaçları, uygulandıkları hücre hatları ve kombine edildikleri ajanların özeti Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Test bileşiklerinin *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanım planı

Test Bileşikleri	Özellikleri	<i>In vitro</i> testler		<i>In vivo</i> testler
		Hücre hatları		
		HeLa	THP1	SUIT2-luc
<b>NDAT</b>	$\alpha\beta3$ integrin antagonisti	+sisplatin +gemsitabin	+LPS	+sisplatin
<b>DAT</b>	$\alpha\beta3$ integrin antagonisti	+sisplatin +gemsitabin	+LPS	+sisplatin
<b>XT199</b>	$\alpha\beta3$ integrin antagonisti	+sisplatin +gemsitabin	+LPS	+sisplatin
<b>OT-404</b>	NF- $\kappa$ B/ROS inhibitörü	+sisplatin +gemsitabin	+LPS +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	+sisplatin
<b>EGCG</b>	antioksidan	+sisplatin +gemsitabin	+LPS +H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	+sisplatin
<b>QNZ EVP4593</b>	NF- $\kappa$ B inhibitörü	+sisplatin +gemsitabin	+LPS	-

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. *In vitro* çalışmalar

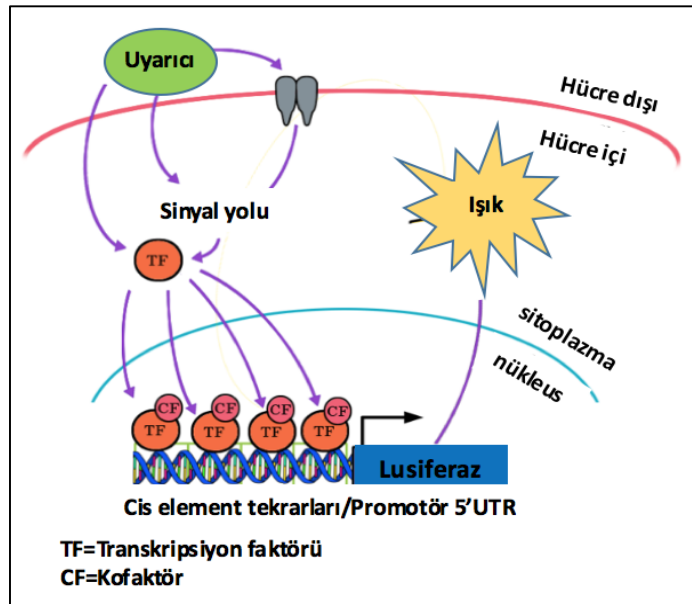
#### 3.2.1.1. Hücre hatları ve hücre kültürü

##### 3.2.1.1.1. HeLa NF- $\kappa$ B lusiferaz raportör stabil hücre hattı ve hücre kültürü

İnsan serviks kanseri hücre hattından elde edilen HeLa hücreleri, Signosis Inc. (Santa Clara, CA, ABD) firmasından satın alındı. HeLa hücreleri, ateş böceği lusiferaz kodlayan bölgenin yukarısında NF- $\kappa$ B bağlanma bölgelerinin 4 tekrarını içeren minimal bir promotörü olan pTA-NF- $\kappa$ B-lusiferaz raportör vektörü ile birlikte higromisin ekspresyon vektörü ile stabil olarak transfekte edildi ve ardından higromisin seleksiyonu gerçekleştirildi. Daha sonra, higromisine dirençli klonlar kemoterapötik ajanlar tarafından indüklenen lusiferaz aktivitesi açısından tarandı. Bu nedenle, HeLa hücre hattı, gen aşırı ekspresyonu ve gen knockdown'a zorlanmış uyarıcı tedavi ile tetiklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunun izlenmesi için bir raportör sistem olarak kullanılabilir. HeLa hücre hattı, farklı sitokinler (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ ) ve diğer birçok uyarıcı tarafından aktive edilen NF- $\kappa$ B sinyal yollarının araştırılması için kullanılmaktadır. Çalışmamızda HeLa hücre hattı sisplatin ve gemsitabin gibi kemoterapötik ajanlar tarafından aktive edilen NF- $\kappa$ B sinyalizasyonunu izlemek amaçlı *in vitro* model olarak kullanıldı (Şekil 3.1).

HeLa hücreleri, %10 Fetal bovin serumu (FBS) (Sigma, F0926), %1 penisilin (100 U/mL)/streptomisin (10 mg/mL) (Sigma, P0781) ve Higromisin B (son konsantrasyonu 200 µg/ml) (Sigma, H3274) içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Sigma, D6429) içerisinde çoğaltıldı ve 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kültüre edildi.

HeLa hücreleri 25 cm<sup>2</sup>'lik flask (Celltreat, 229331) içerisinde konfluent olduklarında tripsinizasyon işlemi için hücre besiyeri aspire edildi. Hücrelerin serumdan arındırılması için Dulbecco's tuzlu fosfat tamponu (PBS, Dulbecco's Phosphate Buffered Saline) (Sigma, D8537) ile hücre yüzeyi yıkandı. PBS aspire edildikten sonra hücrelere 1x Tripsin/EDTA solüsyonu (Sigma, T3924) eklenerek hücreler 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 5 dk inkübe edildi. Mikroskop ile bakıldığında flask yüzeyinden ayrıldığı gözlenen hücrelere, tripsinin inaktive edilebilmesi için hücre besiyeri ilave edildi. Flask içerisindeki hücre süspansiyonu, içerisinde taze hücre besiyeri bulunan 15 ml'lik falkon tüp (Celltreat, 229411) içerisine alındı. 800 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldıktan sonra supernatant kısım aspire edildi ve elde edilen hücre peleti hücre besiyerinde iyice resüspanse edildikten sonra üzerine hücre besiyeri eklendi. Hücre süspansiyonu 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklara (Celltreat, 229341) alınarak 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda kültüre edildi. Bu şekilde hücrelerin istenilen sayıya ulaşınca kadar çoğalmaları sağlandı.



Şekil 3.1. HeLa lusiferaz raportör sistem

### 3.2.1.1.2. THP1-Lucia™ NF-κB hücre hattı ve hücre kültürü

THP1 hücreleri InvivoGen Inc. (San Diego, CA, ABD) firmasından satın alındı ve fizyolojik olarak ilgili hücre hattında NF-κB sinyal iletimi yolunu izlemek için özel olarak tasarlandı. THP1 hücreleri insan THP1 monositik lösemi hücre hattından, NF-κB ile indüklenebilen Lucia raportör yapısının stabil entegrasyonu ile elde edildi. THP1 hücreleri, NF-κB konsensus transkripsiyonel yanıt elemanının beş kopyası ve c-Rel bağlanma bölgesinin üç kopyası ile kaynaşmış bir IFN-β minimal promotörü tarafından kontrol edilen yeni salgılanan lusiferaz raportör geni olan Lucia genini taşır. Sonuç olarak, THP1 hücreleri, salgılanan lusiferazın (Lucia) aktivitesini değerlendirerek NF-κB aktivasyonunun izlenmesini mümkün kılar. Lucia lusiferaz aktivitesi deteksiyon reaktifi olan QUANTI-Luc™ kullanılarak doğrudan hücre kültürü süpernatantından kolayca ölçülebilir. QUANTI-Luc™ lusiferaz reaksiyonu için koelenterazin substratını ve stabilize edici ajanları içermektedir. Bu substrat luminometre kullanılarak nicelleştirilen ve relatif luminesans birimi (RLU) olarak ifade edilen ışık sinyalini üretmektedir. Üretilen sinyal, eksprese olan lusiferaz protein miktarı ile koreledir, bu durum raportör testinde protein aktivitesini gösterir.

Çalışmamızda THP1 hücre hattı lipopolisakkarit (LPS) tarafından aktive edilen NF-κB sinyalizasyonunu izlemek amaçlı *in vitro* model olarak kullanıldı. Pro-inflamatuvar sitokinlerin ve diğer çözünür faktörlerin salımı dahil çeşitli inflamatuvar reaksiyonları tetikleyebilen Gram-negatif bakterilerin dış membranının önemli yapısal bileşenlerinden olan LPS, THP1 monositlerdeki NF-κB genlerini kuvvetli şekilde up regüle eder (Akisue ve ark. 2002). THP1 hücreleri ayrıca CIPN'de önemli role sahip olan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile indüklenen oksidatif strese karşı OT-404 ve EGCG bileşiklerinin potansiyel antioksidan aktivitesini araştırmak amacıyla kullanıldı.

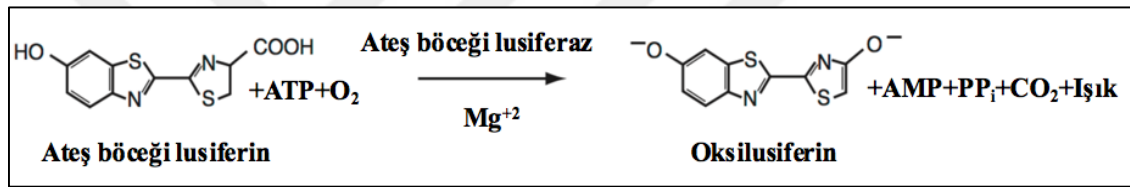
THP1 hücreleri, %10 FBS, penisilin (100 U/mL)/streptomisin (10 mg/mL), Normocin (InvivoGen, ant-nr-1) (son konsantrasyon 100 µg/ml) ve Zeocin (InvivoGen, ant-zn) (son konsantrasyon 50 µg/ml) içeren RPMI 1640 (Sigma, R8758) içerisinde çoğaltıldı ve 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde kültüre edildi.

THP1 süspansiyon hücreler 25 ml'lik flask (Celltreat, 229500) içerisinde konfluent olduğunda flask içerisindeki tüm hücre süspansiyonu doğrudan içerisinde taze besiyeri bulunan 15 ml'lik falkon tüp içerisine alındı. 800 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldıktan sonra

süpernatant kısım aspire edildi ve elde edilen hücre peleti hücre besiyerinde iyice resüspanse edildikten sonra üzerine hücre besiyeri eklendi. Hücre süspanسیونu 250 ml'lik süspanse flaklara (Celltreat, 229520) alınarak 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda kültüre edildi. Bu şekilde hücrelerin istenilen sayıya ulaşınca kadar çoğalmaları sağlandı.

### 3.2.1.2. Lusiferaz yöntemi

Lusiferaz test sisteminde (E1500), lusiferin oksidasyonunun kimyasal enerjisinin elektron transisyonu ile reaksiyon ürün molekülü oksilusiferin oluşumuna dönüştürülmesi ile ışık üretilir. Monomerik 61 kDa bir protein olan ateş böceği lusiferaz, ko-substrat olarak ATP.Mg<sup>+2</sup> kullanarak lusiferin oksidasyonunu katalize eder (Şekil 3.2). Geleneksel lusiferaz yönteminde, enzim ve substratların birleşmesinin ardından hızla sönen parlak bir ışık oluşur.



Şekil 3.2. Ateş böceği lusiferaz tarafından katalize edilen biyoluminesans reaksiyonu

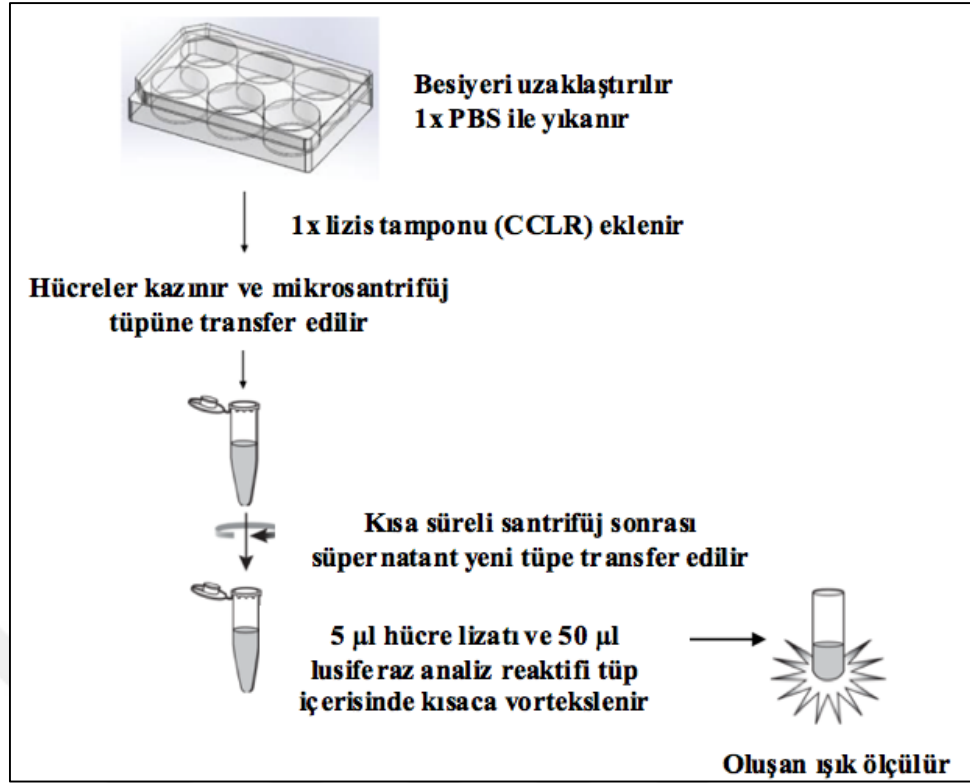
#### 3.2.1.2.1. HeLa hücreleri için lusiferaz yöntemi

HeLa hücreleri platerin (Celltreat, 229106) her kuyusunda hücre besiyeri içerisinde 1x10<sup>5</sup> hücre olacak şekilde ekildi ve 24 saat süreyle 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. Sonraki gün, hücre besiyeri %0,5 FBS içeren hücre besiyeri ile değiştirildi ve hücreler optimal yanıtları belirlemek amaçlı pilot çalışmalara dayanan uygun konsantrasyonlardaki test bileşikleri (NDAT, DAT, XT199, OT-404, EGCG ve QNZ EVP4593) ile ön tedavi edildi. Tedaviden üç saat sonra, transkripsiyonu indüklemek ve promotörlerin biyolojik yanıtını test etmek amacıyla HeLa hücreleri kemoterapötik ajanlar (sisplatin ve/veya gemsitabin) ile stimüle edildi (her iki ajan için de son konsantrasyon 10 µM) ve hücreler 24 saat 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübasyona bırakıldı.

Plate kuyuları dört 4 farklı tedavi grubuna ayrıldı (her tedavi grubu için plate de iki kuyu kullanıldı):

1. Kontrol grubu
2. NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemek amaçlı kemoterapötik ajanlar
3. NF- $\kappa$ B inhibitörleri, antioksidanlar ve  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin antagonistleri tek başına
4. NF- $\kappa$ B inhibitörleri, antioksidanlar ve  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin antagonistleri, kemoterapötik bir ajan ile birlikte

İnkübasyon süresi sonunda hücre besiyeri aspire edildi ve kuyular 1x PBS ile yıkandı. Ardından, PBS her kuyudan aspire edildi ve hücreler 1x lizis tamponu (Cell Culture Lysis Reagent (CCLR) (Promega, Madison, WI, ABD) ile lize edildi. Plate kuyularının tabanına tutunan hücreler kuyulardan hücre kazıyıcı (Sigma, CLS3008) yardımı ile kazındı ve tüm hücre süspansiyonu mikrosantrifüj tüplerine aktarılarak 15.000 rpm'de (oda sıcaklığında) 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Bu hücre lizatından 5  $\mu$ l yeni bir mikrosantrifüj tüpüne alındı ve her tüpe 50  $\mu$ l lusiferaz test reaktifinden (Promega, Madison, WI, ABD) ilave edildi. Lüminesans, Glomax 20/20 Luminometre cihazı (Promega) kullanılarak hemen ölçüldü (Şekil 3.3). Luminometre, lusiferaz aktivitesi için 10 saniyelik ölçüm okumasını gerçekleştirecek şekilde programlandı. Her test bileşiğinin lusiferaz ekspresyonu relatif lüminesans birimi (RLU, Relative Luminescence Unit) cinsinden verildi ve relatif NF- $\kappa$ B raportör aktivitesi cinsinden ifade edildi. Bileşiklerin ortalama % inhibitör etkileri hesaplandı.



**Şekil 3.3.** HeLa hücreleri için standart lusiferaz yöntemi

### 3.2.1.2.2. THP1 hücreleri için lusiferaz yöntemi

THP1 hücreleri platelerin (Celltreat, 229196) her kuyusunda hücre besiyeri içerisinde  $1 \times 10^5$  hücre olacak şekilde ekildi ve  $37^\circ\text{C}$ 'de %5  $\text{CO}_2$ 'li ortamda kısa süreli inkübe edildi. Test bileşikleri (NDAT, DAT, XT199, OT-404, EGCG ve QNZ EVP4593) belirlenen final konsantrasyonlarda ilgili kuyulara ilave edildi ve  $37^\circ\text{C}$ 'de %5  $\text{CO}_2$ 'li ortamda 3 saat süreyle inkübe edildi. Bileşiklerin kullanılan konsantrasyonları optimal sonuçları belirlemek amaçlı pilot çalışmalara dayanmaktadır.

Plate kuyuları dört 4 farklı tedavi grubuna ayrıldı (her tedavi grubu için plate de üç kuyu kullanıldı):

1. Kontrol grubu
2. NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemek amaçlı LPS ve/veya  $\text{H}_2\text{O}_2$
3. NF- $\kappa$ B inhibitörleri, antioksidanlar ve  $\alpha\text{v}\beta 3$  integrin antagonistleri tek başına
4. NF- $\kappa$ B inhibitörleri, antioksidanlar ve  $\alpha\text{v}\beta 3$  integrin antagonistleri, LPS ve/veya  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile birlikte

İnflamasyonu ve dolayısı ile NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemek amacıyla hücrelere LPS (son konsantrasyon 1  $\mu$ g/ml) ve/veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (son konsantrasyon 500  $\mu$ M) ilave edildi ve hücreler 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 3 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin ardından 10  $\mu$ l THP1 hücre besiyeri (süpernatant) mikrosantrifüj tüpüne alındı ve lusiferaz aktivitesi 50  $\mu$ l QUANTI-Luc™ test solüsyonu (InvivoGen, San Diego, California, ABD) ilave edilerek hemen ölçüldü (Şekil 3.4). Hücre kültürü süpernatantındaki NF- $\kappa$ B tarafından indüklenen Lucia düzeyleri bir Lucia deteksiyon reaktifi olan QUANTI-Luc™ kullanılarak hemen değerlendirildi. Üretilen ışık sinyali Glomax 20/20 luminometre (Promega) kullanılarak belirlendi ve relatif lüminesans birimi (RLU) cinsinden ifade edildi. Luminometre lusiferaz aktivitesi için 4 saniyelik bir ölçüm okuması gerçekleştirecek şekilde programlandı. Her test bileşiğinin lusiferaz ekspresyonu RLU cinsinden verildi ve relatif NF- $\kappa$ B raportör aktivitesi cinsinden ifade edildi. Bileşiklerin ortalama % inhibitör etkileri hesaplandı.



Şekil 3.4. THP1 hücreleri için standart lusiferaz yöntemi



### **3.2.2. *In vivo* çalışmalar**

*In vivo* çalışmalarda, farelerde insan pankreas kanseri hücrelerinin (SUIT2-luc) oluşturdukları tümörlerin tedavisinde kemoterapötik ilaç olarak sisplatin kullanılmıştır. Sisplatin kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir kanser ilacı olmasına rağmen, doz sınırlayıcı ciddi nörotoksik yan etkilerinden dolayı terapötik kullanımı sınırlıdır. Sisplatinin periferik sinir sistemine zarar vererek çoğunlukla duyuşal nöropatiye ve nadiren duyuşal-motor nöropatiye neden olduğu bilinmektedir (Park et al. 2013). Gemsitabin ile tedavi edilen hastalarda yan etki olarak periferik nörotoksisitenin gelişimine dair bilgiler bulunmamaktadır. Bu nedenle, fare pankreas tümörlerinde sisplatin tedavisi ile ilaç direncinin gelişmesine bağılı NF-κB aktivasyonunun indüklenmesi üzerine, sisplatin ve test bileşikleri kombinasyon tedavisinin anti-tümör ve anti-inflamatuar etkileri araştırılmıştır.

*In vivo* çalışmalar, “Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)” tarafından 545017 nolu Animal Component of Research Protocol (ACORP)’ün onaylanması ile gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.2.1. Ortotopik pankreas tümörü implantasyonu için kanser hücre hattı ve kültür koşulları**

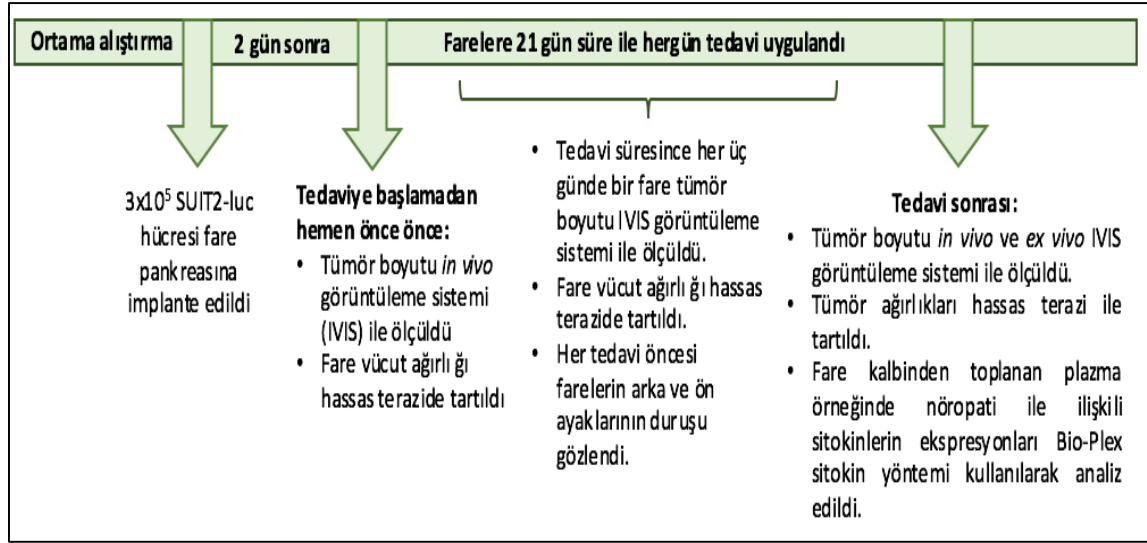
Ateş böceğı lusiferaz eksprese eden insan pankreas kanseri hücre hattı SUIT2-luc, Dr. Arumugam (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, ABD) tarafından sağlandı. SUIT2-luc hücreleri % 10 FBS, % 1 penisilin ve % 1 streptomisin içeren DMEM içerisinde çoğaltıldı ve 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda inkübe edildi. Hücreler flask yüzeyini kapladıklarında (konfluent olduklarında) %0,25 tripsin/EDTA solüsyonu ile tripsinizasyon işlemine tabi tutuldu. Flask içerisine hücre besiyeri ilave edilerek tripsin inaktive edildi ve tüm hücre süspansiyonu 15 ml'lik falkon tüp içerisine toplandı. Canlı memeli hücresi sayım cihazı ‘Chemometec NucleoCounter® NC-100™’ (ChemoMetec, Kopenhag, Danimarka) kullanılarak 1 ml'de ki canlı hücre sayısı belirlendi. Sayım işlemi sonucunda falkon tüp 800 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant kısım aspire edildi. Hücre peleti implantasyon için gerekli olan hücre sayısını elde etmek için DMEM (fenol kırmızısı ve FBS içermeyen) ile resüspanse edildi.

### 3.2.2.2. Hayvan türü

İmmün yetmezliği olan, 5-6 haftalık ve 18-20 g ağırlığında dişi NCr-Foxn1 tüysüz homozigot fareler Taconic Biosciences, Inc. (Hudson, NY, ABD) firmasından satın alındı. Hayvanlar spesifik patojen içermeyen koşullarda tutuldu ve her kafeste 5 hayvan olacak şekilde, kontrollü sıcaklık (20-24°C) ve nem (%60-70) koşullarında ve 12 saatlik ışık/karanlık siklusunda barındırıldı. Su ve yem *ad libitum* olarak sağlandı. Hayvan çalışmaları Veterans Affairs (VA) Medical Center, Albany, NY, ABD tıp merkezinin deney hayvanları tesisinde gerçekleştirildi ve deney protokolü VA-IACUC tarafından onaylandı. Fareler tedavilerin başlatılmasından önce 5 gün süreyle ortama alıştırdı.

### 3.2.2.3. Pankreas tümörünün ortotopik implantasyonu ve tedaviler

Ortotopik pankreas tümörü modeli için, SUIT2-luc hücreleri yukarıda tarif edilen şekilde harvest edildi ve izofluran (Henry Schein, 050033) (Rochester, NY, ABD) ile anestezi uygulanmış atimik tüysüz farelerin pankreasına ortotopik olarak implante edildi (her fare pankreasına 30 µl DMEM içerisinde süspanse edilmiş  $3 \times 10^5$  hücre). Tedavi başlangıcından hemen önce hayvanlar *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS, *In vivo* Imaging System, Perkin Elmer, Boston, MA, ABD) ile tümör kütlelerine göre 10 gruba (her grupta n=5) randomize edildi. Bütün tedaviler tümör hücresi implantasyonundan 2 gün sonra başlatıldı ve 21 gün boyunca günlük olarak uygulandı. Bu *in vivo* çalışma için deney planı düzeneği Şekil 3.5'de ve tedavi planı Çizelge 3.2'de özetlenmiştir. Tedavi grupları arasındaki olası bir ağırlık farkı ve genel morbidite bulgusunu saptamak amacıyla her farenin vücut ağırlığı 3 günde bir hassas tartı kullanılarak ölçüldü. Tedavi sonucunu değerlendirmek için kullanılan bütün farelere 21 günün ardından ötenazi uygulandı.



şekil 3.5. *In vivo* deney planı

Çizelge 3.2. İmm¼n yetmezliği olan, dişi NCr-Foxn1 t¼ys¼z homozigot farelerin tedavi planı

Tedavi grubu	Doz (mg/kg)	Tedavi sıklığı	Fare sayısı
Kontrol	PBS (s.c.)	g¼nl¼k	5
NDAT	3 mg/kg (s.c.)	g¼nl¼k	5
XT199	3 mg/kg (s.c.)	g¼nl¼k	5
OT-404	30 mg/kg (s.c.)	g¼nl¼k	5
EGCG	50 mg/kg (s.c.)	g¼nl¼k	5
Sisplatin	1 mg/kg (i.p.)	g¼nl¼k	5
NDAT + Sisplatin	3 mg/kg (s.c.) NDAT 1 mg/kg (i.p.) Sisplatin	g¼nl¼k	5
XT199 + Sisplatin	3 mg/kg (s.c.) XT199 1 mg/kg (i.p.) Sisplatin	g¼nl¼k	5
OT-404 + Sisplatin	30 mg/kg (s.c.) OT-404 1 mg/kg (i.p.) Sisplatin	g¼nl¼k	5
EGCG + Sisplatin	50 mg/kg (s.c.) EGCG 1 mg/kg (i.p.) Sisplatin	g¼nl¼k	5

s.c = subkutan, i.p.= intraperitoneal

#### **3.2.2.4. *In vivo* görüntüleme sistemi (IVIS) kullanılarak tümör büyümesi tayini**

Tümör büyümesini izlemek amacıyla haftada iki defa IVIS görüntüleme sistemi ile görüntüleme gerçekleştirildi. SUIT2-luc tümörleri taşıyan fareler izofluran ile anestezi edildikten sonra farelere 200 µl D-lusiferin (30 mg/ml stok solüsyon steril su ile hazırlandı) s.c. enjekte edildi ve tümör görüntüleme gerçekleştirildi. D-lusiferin potasyum tuzu (115144-35-9) Regis Technologies, Inc. (Morton Grove, Illinois, ABD) firmasından satın alındı. Fotografik ve lüminesan görüntüler sabit pozlama süresinde alındı. İlgili bölgelerde satüre olmayan biyoluminesansı belirlemek için Xenogen IVIS® Living Image yazılımı versiyon 4.5 kullanıldı.  $5,5 \times 10^6$ - $7,0 \times 10^{10}$  foton arasındaki ışık emisyonunun lusiferaz ile işaretlenmiş canlı tümör hücrelerini gösterdiği kabul edilirken, bu değer altındaki emisyonlar arka plan olarak değerlendirildi. Biyoluminesans ilgili her bölge için foton/saniye olarak değerlendirildi. *In vivo* tümör kinetik büyümesi ve metastazı sinyal yoğunluğu ile izlendi. Çalışmanın sonlanmasından sonra tümörlerdeki sinyal yoğunluğunu konfirme etmek amacıyla *ex vivo* görüntüleme gerçekleştirildi. Hayvanlara ötenazi uygulanması sırasında, tümör kütleleri IVIS görüntüleme için toplandı ve tartıldı.

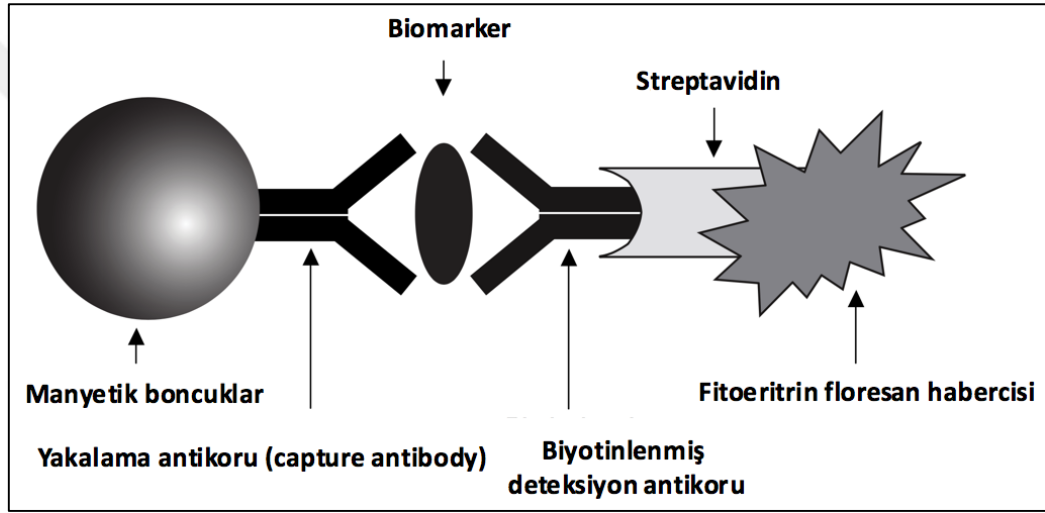
#### **3.2.2.5. Akut ağrı yanıtının değerlendirilmesi: arka ve ön ayakların duruşu**

NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG bileşikleri ve bu bileşiklerin sisplatinle kombinasyonları şeklinde uygulanan günlük tedavinin ardından, fareler kuyruklarından tutularak periferik nöropatinin motor belirtileri için postüral değerlendirme yapıldı. Normalde fareler kuyruklarından tutulduklarında arka ayakları ile kaçış davranışı göstermektedirler. Farelerin arka ve ön ayaklarında; tedavi sonrası olası kas zayıflığı, kol ve bacakların kesişmesi (çaprazlaşması), arka ayaklarını vücuda yakın tutması şeklindeki gözlemler duruş bozuklukları olarak değerlendirilir.

#### **3.2.2.6. Sitokin yöntemi**

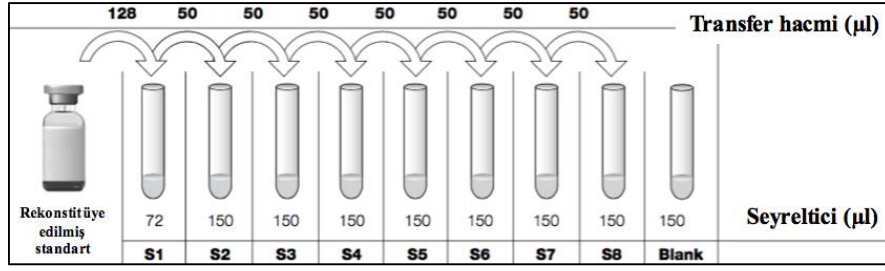
Çalışmanın sonunda (21. gün) hayvanlara izofluran kullanılarak anestezi uygulandı, Bio-Plex Mouse Cytokine Group 1, 6-plex express assay (Y6000007NY, Bio-Rad Laboratories Inc.) (Berkeley, California, ABD) gerçekleştirmek için farelerin kalbinden kan alındı ve hayvanlara ötenazi uygulandı. Nöropatik ağrı ile ilişkili sitokinleri (Lees ve ark. 2013) ve deney süresine kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

Bio-Plex analizleri esas olarak manyetik boncuklar üzerinde formatlanmış immün yöntemlerdir. Testin prensibi, sandviç ELISA yöntemine benzerdir. İstenilen biomarkera karşı yönlendirilen yakalama antikorları (capture antibody), manyetik boncuklara kovalent olarak bağlıdır. Birleştirilen boncuklar, istenilen biomarkeri içeren numuneyle reaksiyona girer. Bağlanmamış proteinleri uzaklaştırmak için bir dizi yıkamadan sonra, bir sandviç kompleksi oluşturmak için biyotinlenmiş deteksiyon antikorları eklenir. Son deteksiyon kompleksi streptavidin-fitoeritin konjugatı (SA-PE, streptavidin-phycoerythrin) ilavesiyle oluşturulmuştur. Fitoeritin, floresan göstergesi veya habercisi görevini görmektedir (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6.** Bio-Plex sandviç immünolojik test yöntemi

Bio-Plex sistemi üretici kılavuzuna göre başlatıldı/ısıtıldı, valide ve kalibre edildi. Plazma numuneleri oda sıcaklığında çözüldü. Çizelge 3.3'de her gruptaki fare sayısı ve tedavi bileşikleri gösterilmektedir. Liyofilize standart 500 µl standart seyrelticisi ile rekonstitüye edildi ve 30 dakika süreyle buz üzerinde inkübe edildi. İnkübasyon sırasında dokuz adet 1,5 ml eppendorf tüp S1'den S8'e kadar ve blank (kör) olarak etiketlendi. Tüp S1'e 72 µl ve kalan tüplere 150 µl standart seyrelticisi ilave edildi. İnkübasyon süresinin ardından, tüp S1'e rekonstitüye edilmiş standarttan 128 µl ilave edildi. S1'den 50 µl S2'ye ve seri olarak S8'e kadarki tüplere aktarılarak seri dilüsyon gerçekleştirildi (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Sitokin standartlarının seri dilüsyon ile hazırlanması

Çizelge 3.3. Plazma sitokin analizi için hayvanların dağılımı

Tedavi grupları	Hayvan sayısı (farenin plazma numunesi çift tekrar olarak kullanıldı)
Kontrol	4
NDAT (3 mg/kg)	4
NDAT + Sisplatin	4
XT199 (3 mg/kg)	4
XT199 + Sisplatin	4
OT-404 (30 mg/kg)	4
OT-404 + Sisplatin	4
EGCG (50 mg/kg)	3
EGCG + Sisplatin	3

Plazma numuneleri çözüldükten sonra, numune seyreltici kullanılarak 1:4 dilüsyon gerçekleştirildi. Her plazma numunesinden 30 µl, 90 µl numune seyreltici ile karıştırıldı. Konjüge boncuklar (kit ile birlikte verilmiştir, yakalama antikörlerine bağlıdır) 10x konsantrasyonda verilmiştir ve 575 µl boncuk 5.175 µl test tamponu ile karıştırılarak 1x konsantrasyona seyreltildi. Mikrofiltre plate 100 µl test tamponu ile öncelikle ıslatıldı ve plate nemlendirildikten sonra uzaklaştırıldı. Test plate'ininin her kuyusuna 50 µl boncuk (deteksiyon antikörleri ile konjüge edilmek üzere) ilave edildi. Daha sonra, kuyular iki defa 100 µl yıkama tamponu ile yıkandı. Numuneler, standartlar ve blank vortekslendi ve her kuyuya 50 µl ilave edildi; ardından plate çalkalayıcı üzerinde 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sırasında, 10x konsantrasyonda deteksiyon antikörü, 300 µl deteksiyon antikörü ile 2.700 µl deteksiyon antikörü seyreltici karıştırılarak hazırlandı. İnkübasyonun sona ermesinin ardından, plaka üç defa 100 µl

yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyulara 1x deteksiyon antikorlarından 25 µl ilave edildi ve ardından 30 dakika süreyle ikinci bir inkübasyon gerçekleştirildi. İnkübasyon sırasında, streptavidin, 100x konsantrasyon streptavidinden 60 µl ile 5.940 µl test tamponu karıştırılarak hazırlandı. İkinci inkübasyonun sona ermesinin ardından, plate üç defa 100 µl yıkama tamponu ile yıkandı ve her kuyuya 50 µl streptavidin ilave edildi. Plate çalkalayıcı üzerinde 10 dakika süreyle inkübe edildi. Üçüncü inkübasyonun ardından, plate 100 µl yıkama tamponu ile yıkandı ve her kuyuya 125 µl test tamponu ilave edildi. Plate çalkalayıcı üzerinde 30 saniye süreyle inkübe edildi ve ardından okuma için Bio-Plex® 200 sistemine (Biorad, Kalifornia, ABD) yerleştirildi.

### **3.2.2.7. Tümör histopatolojisi**

Hayvanların terminasyondan sonra rutin histopatolojik analiz için bütün tümörler toplandı ve histoloji ile analiz edildi. Tümörler %10 tamponlu formalin solüsyonu (Sigma, HT501320) içerisinde fikse edildi. Fiksasyonun ardından dokular doku takip cihazında (Tissue-Tek VIP, Miles Scientific) işlendi ve akabinde dokuların parafin sertleşene kadar rotasyonunu önlemek amacıyla gömme haznelere (Tissue-Tek, Miles Scientific) aktarıldı. Gömüldükten sonra, dokular yüklü cam slaytlara mikrotom (Biocut 2030 Microtome, Leica, Buffalo Grove, IL) üzerinde 5 µm kalınlıkta kesildi. Daha sonra, kesitler deparafinize edildi ve hematoksilin ve eozin ile boyandı (Oklahoma Medical Research Foundation, Merkezi görüntüleme tesisinin H & E boyama protokolü). Kesitler bir ışık mikroskopu (Leica EC3, Buffalo Grove, IL) (Mag. 400X) kullanılarak çeşitli patolojik parametreler açısından değerlendirildi.

### **3.2.2.8. İstatistiksel analiz**

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 paket bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama standart hata ( $\pm$ SE) olarak verildi. Her bir parametrenin normal dağılım analizleri yapılarak uygun parametrik veya non-parametrik istatistik analizler uygulandı. Parametrik testlerden Student *t*-testi, non-parametrik testlerden ise Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Fark grupları homojenite testi sonuçlarına göre Tukey HSD testine göre  $p < 0,05$  anlamlılık seviyesinde verildi. Grafikler Microsoft Office Excel 2016 kullanıldı. Grafiklerin üzerindeki istatistiki değerlendirmeler yine SPSS 23.0 paket bilgisayar programı kullanılarak yapıldı.

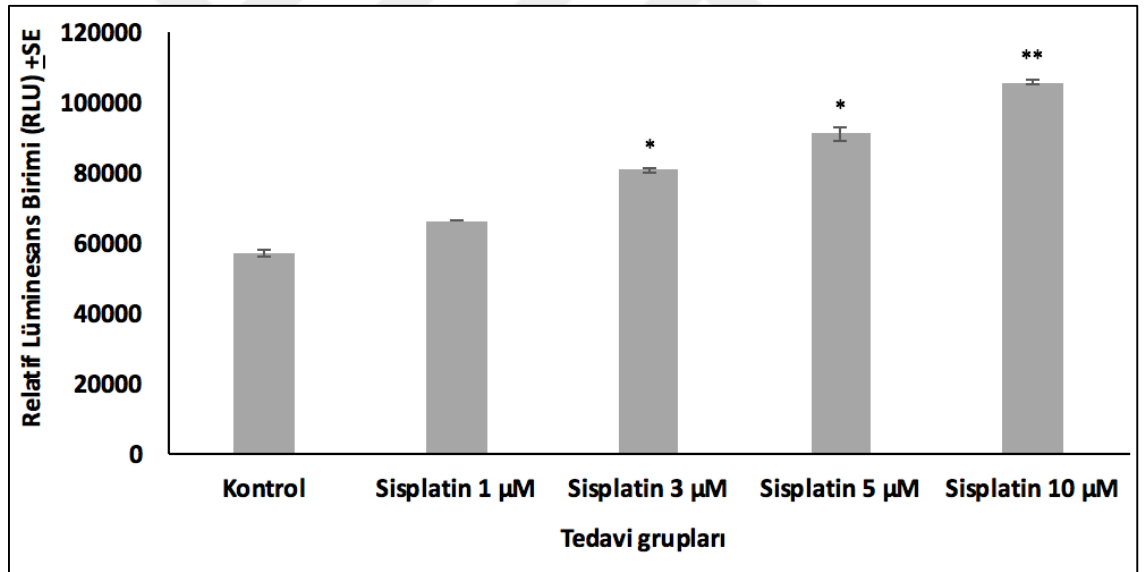
## 4. BULGULAR

### 4.1. *In vitro* Bulgular

#### 4.1.1. Lusiferaz yöntemi bulguları

##### 4.1.1.1. Sisplatin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indüklemesi

NF- $\kappa$ B promoter elemanlarının kontrolü altında lusiferaz geni ile stabil olarak transfekte edilen HeLa hücreleri, sisplatinin artan konsantrasyonları (1  $\mu$ M, 3  $\mu$ M, 5  $\mu$ M ve 10  $\mu$ M) ile 24 saat boyunca uyarıldı. NF- $\kappa$ B promoter aktivasyonu, lusiferaz aktivitesinin belirlenmesi ile değerlendirildi. NF- $\kappa$ B promoter elemanlarının aşağı yönde (downstream) lusiferaz aktivitesinin, sisplatinin artan konsantrasyonları ile 9,000- ila 50,000- Relatif Lüminesans Birimi (RLU, Relative Luminesans Unit) arasında arttığı gözlemlendi (Şekil 4.1). Sisplatinin 10  $\mu$ M konsantrasyonu daha sonraki çalışmalarda kullanıldı.



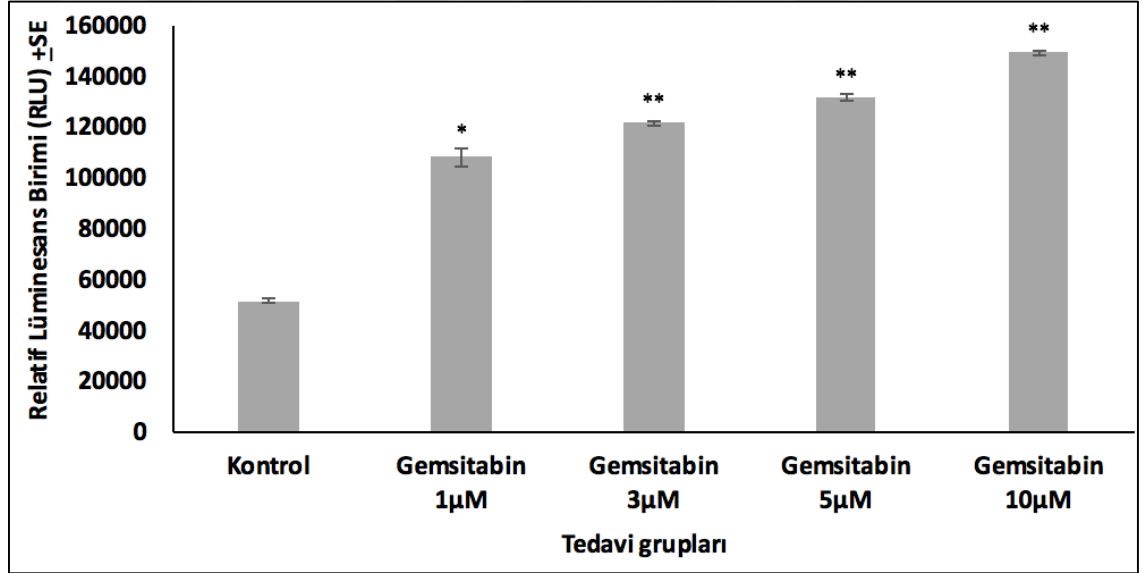
**Şekil 4.1.** Sisplatin konsantrasyonlarının (1  $\mu$ M, 3  $\mu$ M, 5  $\mu$ M ve 10  $\mu$ M) HeLa hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkileri

- Sisplatinin farklı konsantrasyonları ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01) ifade etmektedir. Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.



#### 4.1.1.2. Gemsitabin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, HeLa hücrelerinde NF-κB aktivasyonunu indüklemesi

NF-κB promoter elemanlarının kontrolü altında lusiferaz geni ile stabil olarak transfekte edilen HeLa hücreleri, gemsitabinin artan konsantrasyonları (1 μM, 3 μM, 5 μM ve 10 μM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. NF-κB promoter aktivasyonu, lusiferaz aktivitesinin belirlenmesi ile değerlendirildi. NF-κB promoter elemanlarının aşağı yönde (downstream) lusiferaz aktivitesinin, gemsitabinin artan konsantrasyonları ile 55,000- ile 100,000- Relatif Lüminesans Birimi (RLU, Relative Luminesans Unit) arasında arttığı gözlemlendi (Şekil 4.2). Gemsitabinin 10 μM konsantrasyonu daha sonraki çalışmalarda kullanıldı.

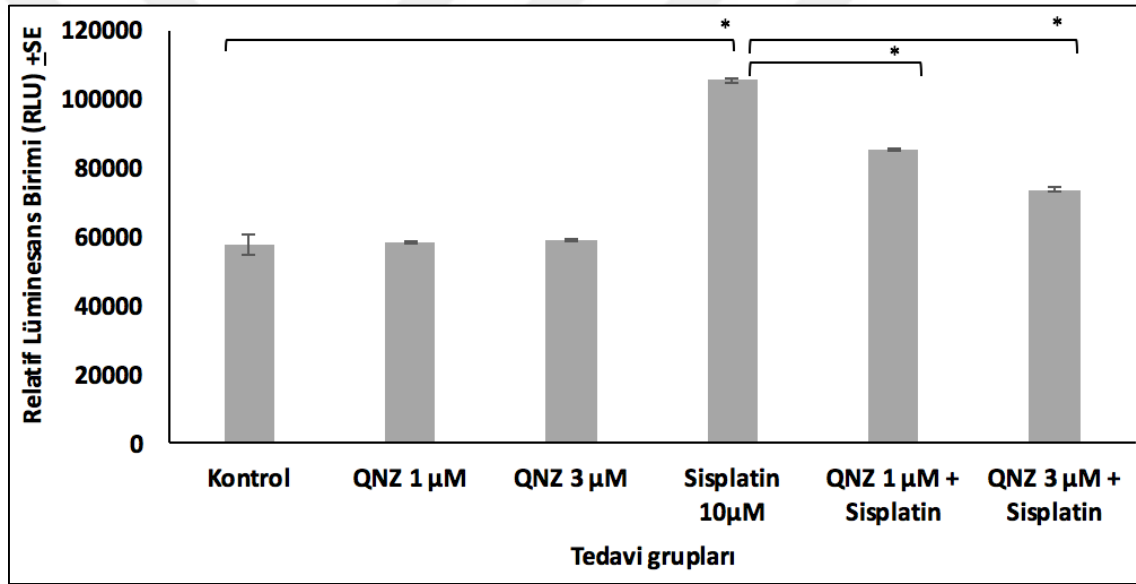


Şekil 4.2. Gemsitabin konsantrasyonlarının (1 μM, 3 μM, 5 μM ve 10 μM) HeLa hücrelerinde NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri

- Gemsitabinin farklı konsantrasyonları ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05, \*\*p<0.01) ifade etmektedir. Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.3. QNZ EVP4593'ün, NF-κB inhibitörü, HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi

QNZ EVP4593, NF-κB inhibitörü olarak bilinmektedir. Sisplatin ve/veya gemsitabin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonunun, test bileşikleri tarafından inhibisyonunu değerlendirmek amacıyla pozitif kontrol olarak kullanıldı. HeLa hücreleri, QNZ EVP4593 (1 μM ve 3 μM) ile 3 saatlik ön tedavi uygulamasının ardından sisplatin (10 μM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. NF-κB promoter aktivasyonu, lusiferaz aktivitesinin belirlenmesi ile değerlendirildi. Şekil 4.3'de gösterildiği gibi, 10 μM sisplatin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu, QNZ EVP4593'ün 1 μM ve 3 μM konsantrasyonları ile sırasıyla %42,4 ve %66,8 oranında inhibe edildi.

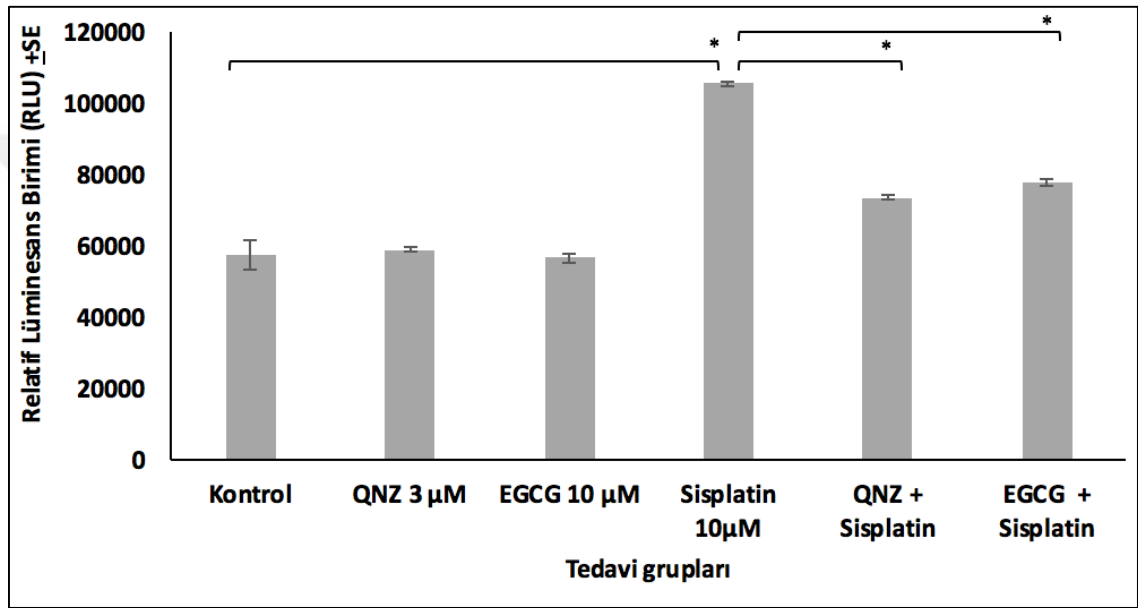


Şekil 4.3. QNZ EVP4593'ün HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593 (1 μM ve 3 μM)+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.030 ve p=0.026).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.047).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.4. EGCG'nin (antioksidan) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri EGCG (10  $\mu$ M) ve QNZ EVP4593 (3  $\mu$ M) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından sisplatin (10  $\mu$ M) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.4'de gösterildiği gibi, 10  $\mu$ M sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu, 3  $\mu$ M QNZ EVP4593 ve 10  $\mu$ M EGCG ile sırasıyla %66,8 ve %58,5 oranında inhibe edildi.

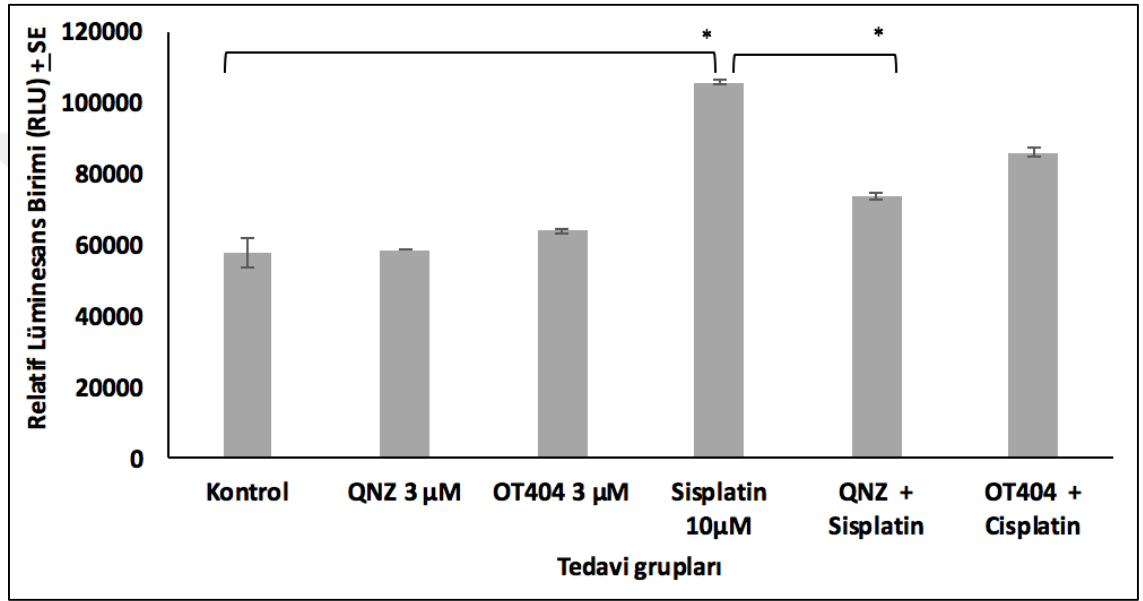


Şekil 4.4. EGCG'nin HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p$ <0.05) ifade etmektedir ( $p$ =0.026).
- EGCG+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p$ <0.05) ifade etmektedir ( $p$ =0.037).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p$ <0.05) ifade etmektedir ( $p$ =0.047).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.5. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, OT-404 (3 μM) ve QNZ EVP4593 (3 μM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından sisplatin (10 μM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.5'de gösterildiği gibi, 10 μM sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, QNZ EVP4593 ve OT-404 ile sırasıyla %66,8 ve %41,2 oranında inhibe edildi.

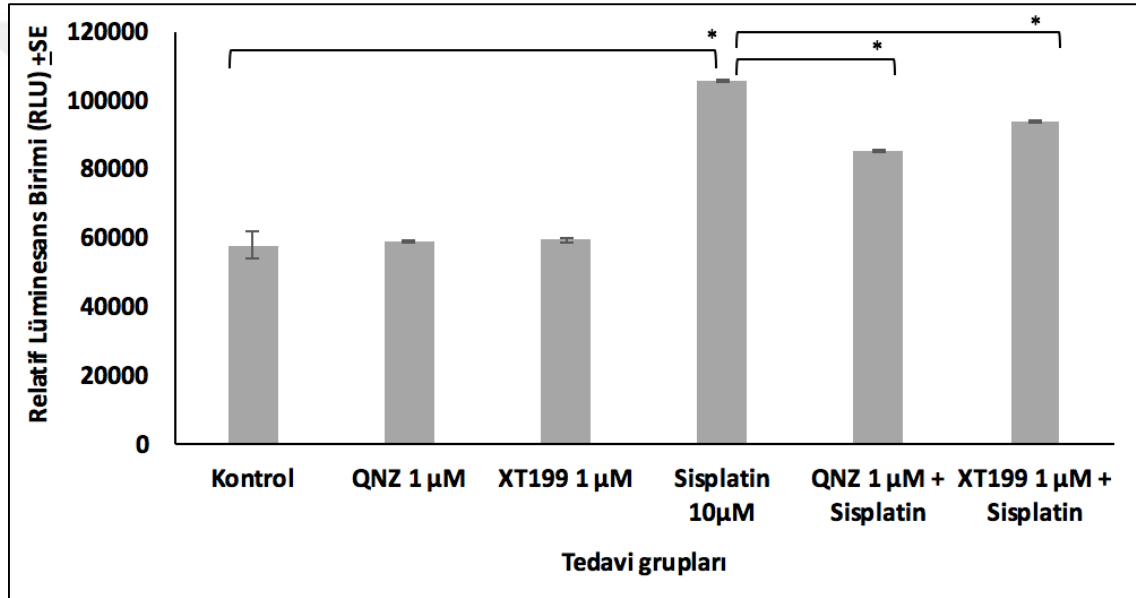


Şekil 4.5. OT-404'ün HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.026).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.047).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

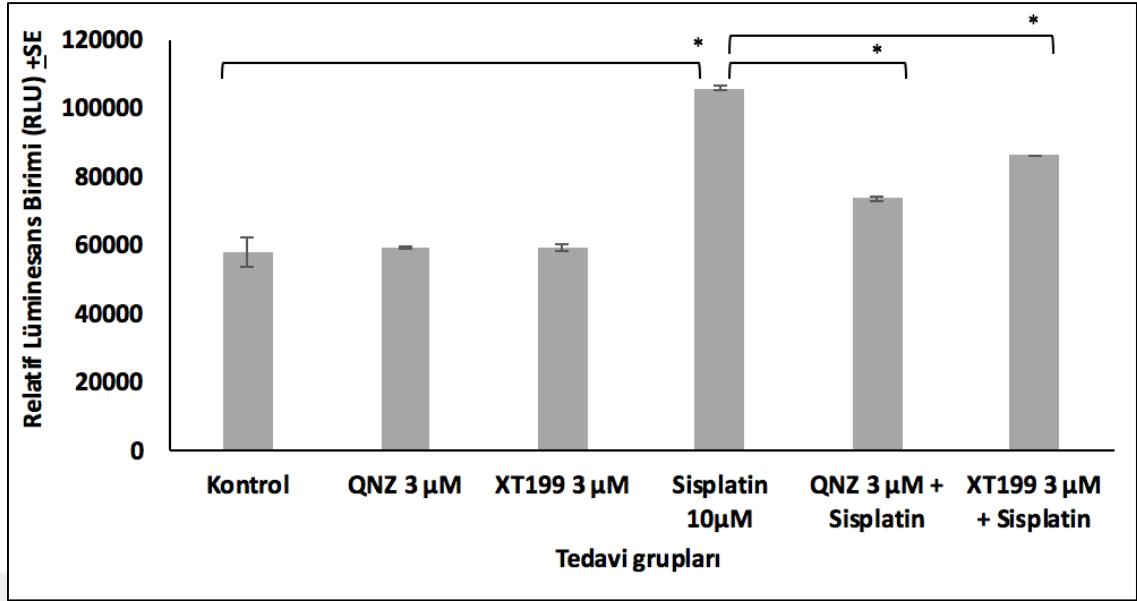
#### 4.1.1.6. XT199'un (integrin $\alpha\beta3$ antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, XT199 (1  $\mu$ M ve 3  $\mu$ M) ve QNZ EVP4593 (1  $\mu$ M ve 3  $\mu$ M) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından sisplatin (10  $\mu$ M) ile 24 saat boyunca uyarıldı. HeLa hücrelerinde 10  $\mu$ M sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu, 1  $\mu$ M XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %25,4 ve %42,4 oranında inhibe edildi (Şekil 4.6), buna ek olarak 3  $\mu$ M XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %40,6 ve %66,8 oranında inhibe edildi (Şekil 4.7).



Şekil 4.6. XT199'un (1  $\mu$ M) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- XT199+sisplatin ve QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.015$ ,  $p = 0.030$ ).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.047$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

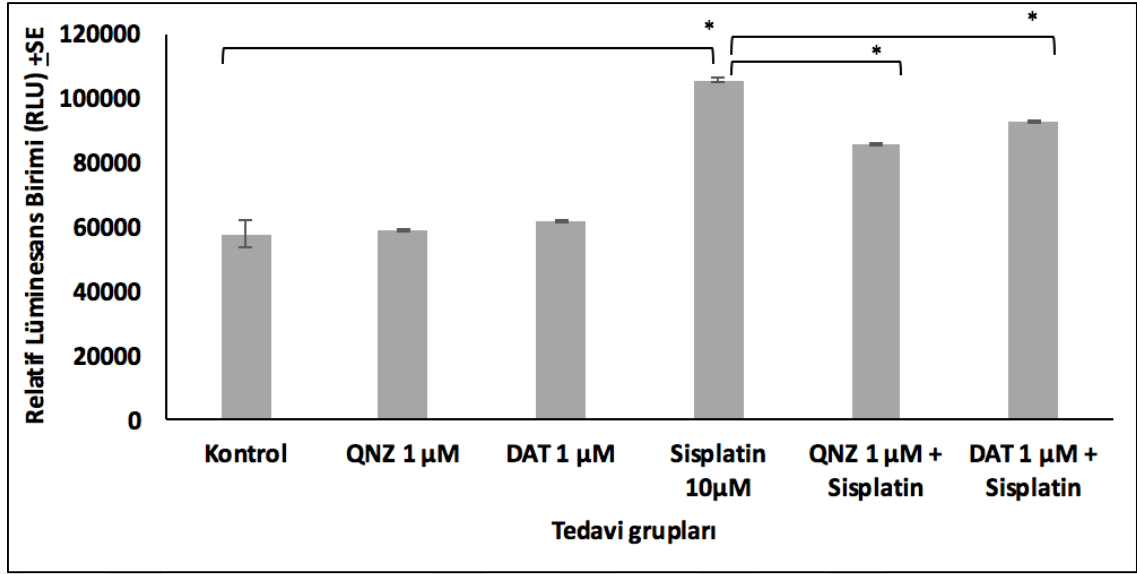


**Şekil 4.7.** XT199'un (3 µM) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- XT199+sisplatin ve QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.024$ ,  $p = 0.026$ ).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.047$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

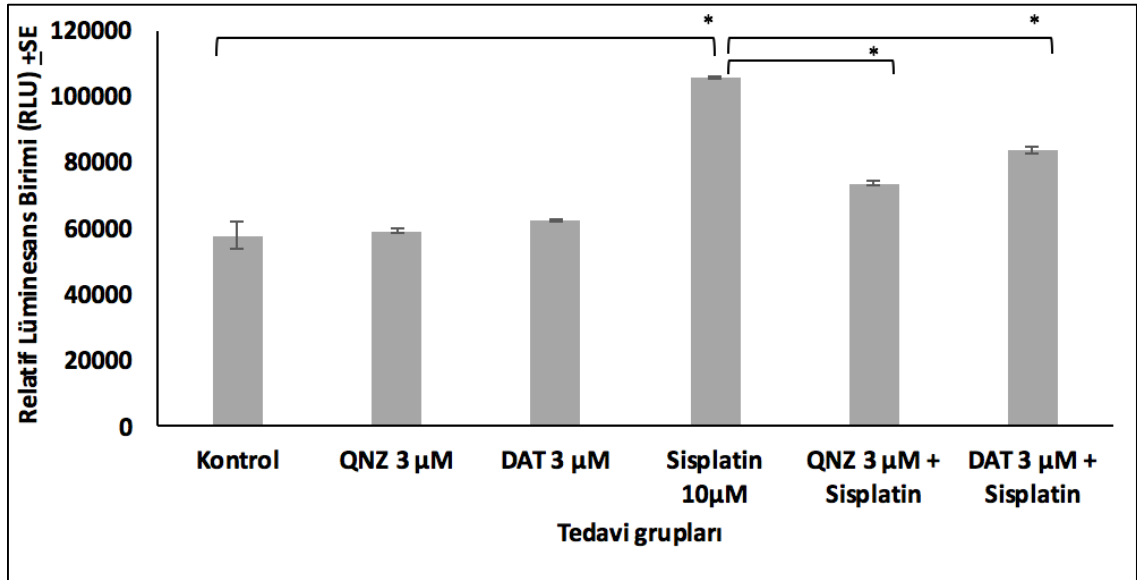
#### 4.1.1.7. DAT'ın (integrin $\alpha\beta 3$ antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, DAT (1 µM ve 3 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından sisplatin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. HeLa hücrelerinde 10 µM sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1 µM DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %27 ve %42,4 oranında inhibe edildi (Şekil 4.8), buna ek olarak 3 µM DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %45,6 ve %66,8 oranında inhibe edildi (Şekil 4.9). Sisplatinin 1-10 µM konsantrasyonları HeLa hücrelerinde NF-κB aktivasyonunda konsantrasyona bağlı artış gösterdi (Şekil 4.1). Şekil 4.10'de gösterildiği gibi 1 µM, 3 µM, 5 µM ve 10 µM sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 3 µM DAT ile sırasıyla %88,7, %62,4, %58,6 ve %49,9 oranında inhibe edildi. Böylece, farklı sisplatin konsantrasyonlarında DAT'ın meydana getirdiği inhibisyon etkisi değişmektedir.



**Şekil 4.8.** DAT'ın (1 μM) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

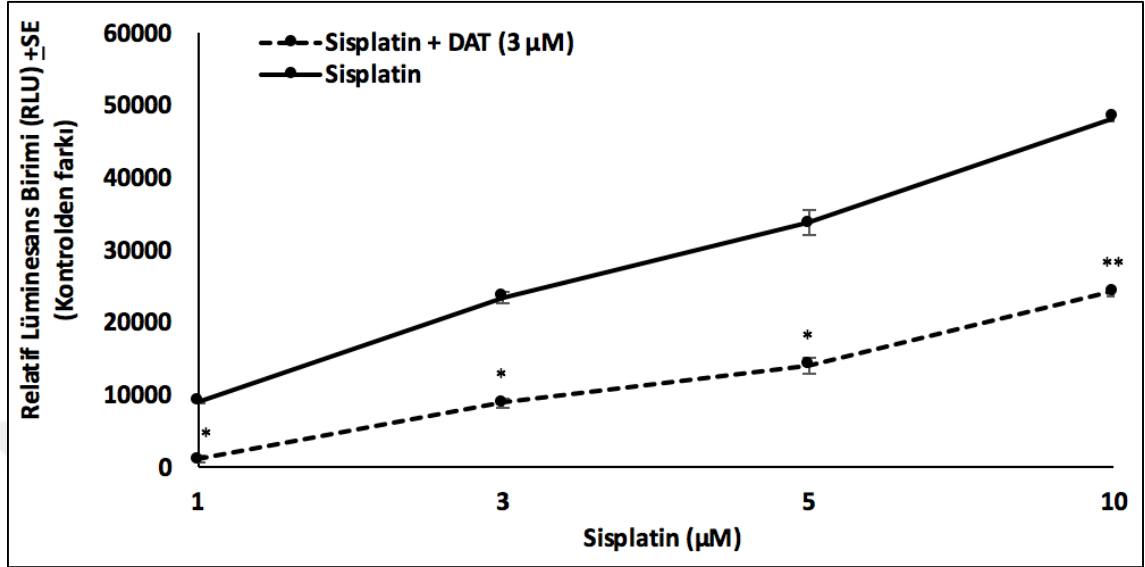
- DAT+sisplatin ve QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.048$ ,  $p = 0.030$ ).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.047$ ). Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.



**Şekil 4.9.** DAT'ın (3 μM) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT+sisplatin ve QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.043$ ,  $p = 0.026$ ).

- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.047$ ). Değerler ortalama  $\pm$ SE olarak ifade edilmektedir.



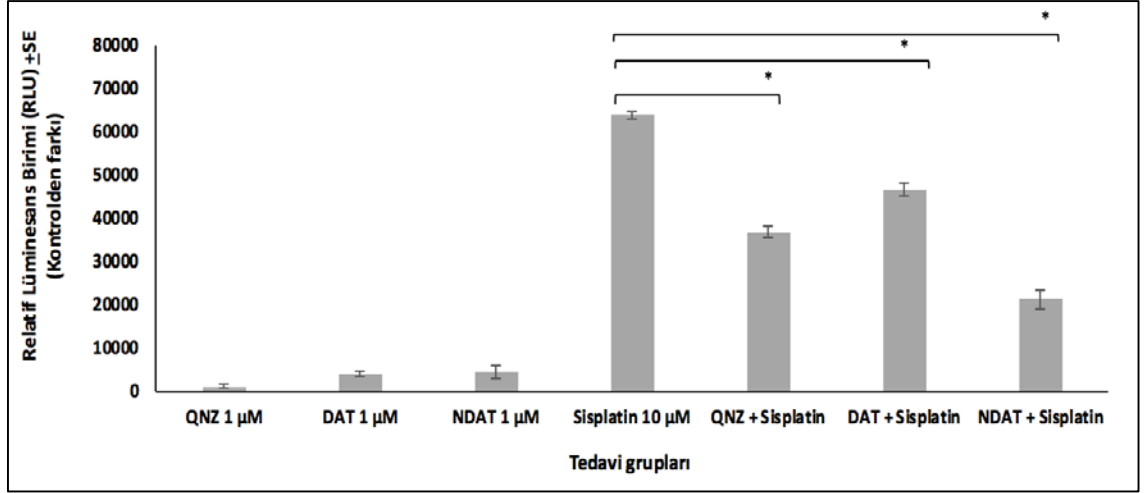
**Şekil 4.10.** DAT'ın (3 μM) HeLa hücrelerinde sisplatinin 1-10 μM konsantrasyonları ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT (3 μM)+sisplatin (1-10 μM) ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin (1-10 μM) ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.8. NDAT'ın (integrin $\alpha\beta3$ antagonisti) HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

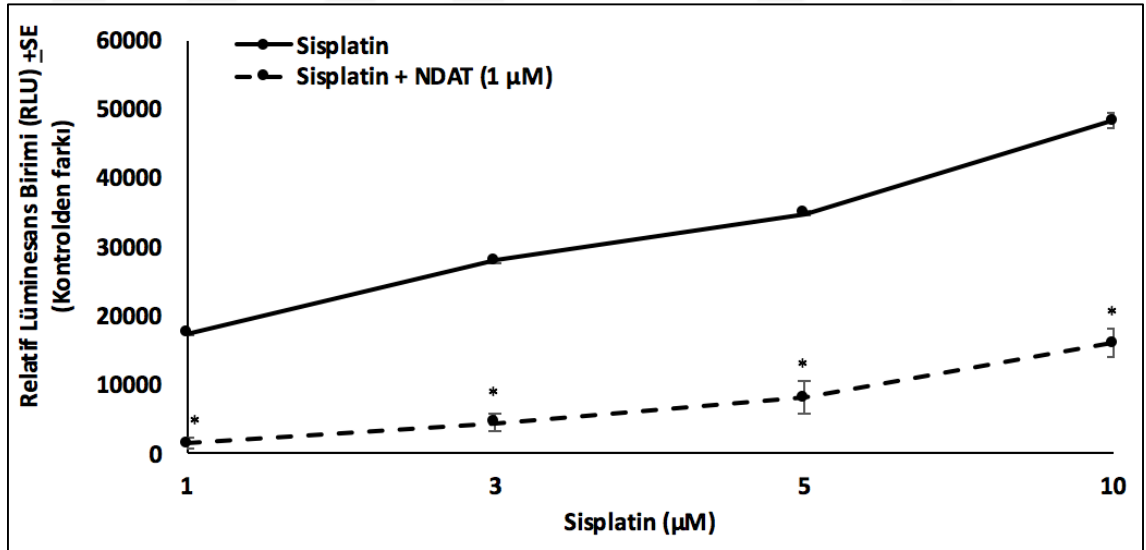
HeLa hücreleri, NDAT (1 μM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından sisplatin (10 μM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. 1 μM NDAT, QNZ EVP4593 ve DAT ile HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, sırasıyla %66,8, %42,4 ve %27 oranında inhibe edildi (Şekil 4.11). Sisplatinin 1-10 μM konsantrasyonları HeLa hücrelerinde NF-κB aktivasyonunda konsantrasyona bağlı artış gösterdi (Şekil 4.1). Şekil 4.12'de gösterildiği gibi 1 μM, 3 μM, 5 μM ve 10 μM sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1 μM NDAT tarafından sırasıyla %91,3, %84,2, %76,5 ve %66,8 oranında inhibe edildi. Böylece, farklı sisplatin konsantrasyonlarında DAT'ın meydana getirdiği inhibisyon etkisi değişmektedir.





**Şekil 4.11.** NDAT'ın HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- NDAT+sisplatin, DAT+sisplatin ve QNZ EVP4593+sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.015$ ,  $0.048$ ,  $p = 0.030$ ).
- Sisplatin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.047$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

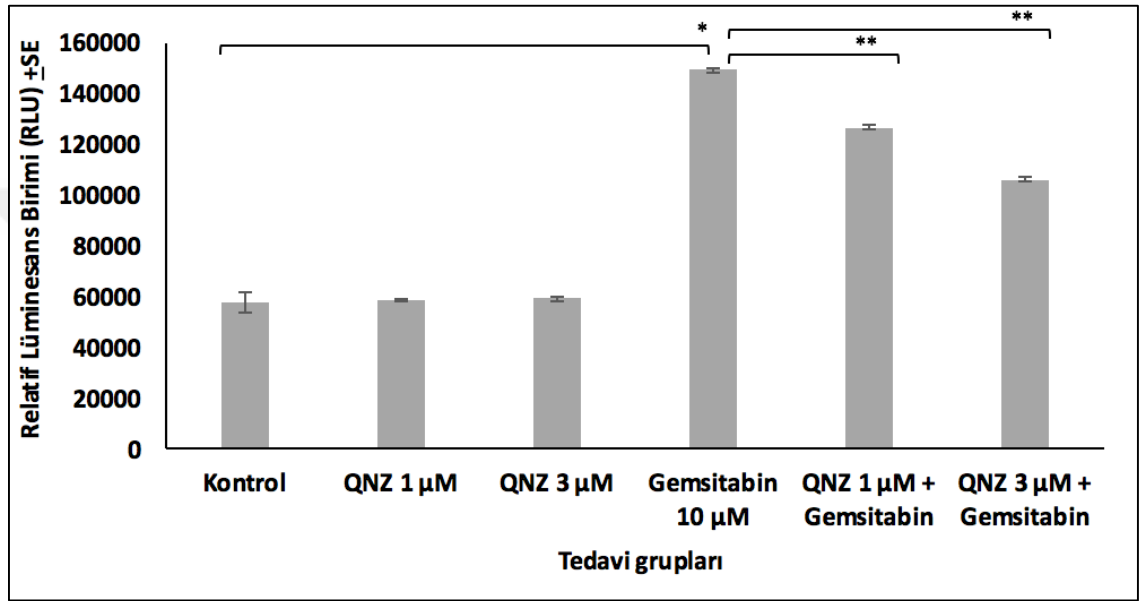


**Şekil 4.12.** NDAT'ın HeLa hücrelerinde sisplatinin 1-10 µM konsantrasyonları ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- NDAT+sisplatin (1-10 µM) ile tedavi edilmiş hücreler, sadece sisplatin (1-10 µM) ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.9. QNZ EVP4593'ün, NF-κB inhibitörü, HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi

HeLa hücreleri, QNZ EVP4593 (1 µM ve 3 µM) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından gemsitabin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. 10 µM gemsitabin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu, QNZ EVP4593 1 µM ve 3 µM konsantrasyonları ile sırasıyla %24,5 ve %46,9 oranında inhibe edildi (Şekil 4.13).

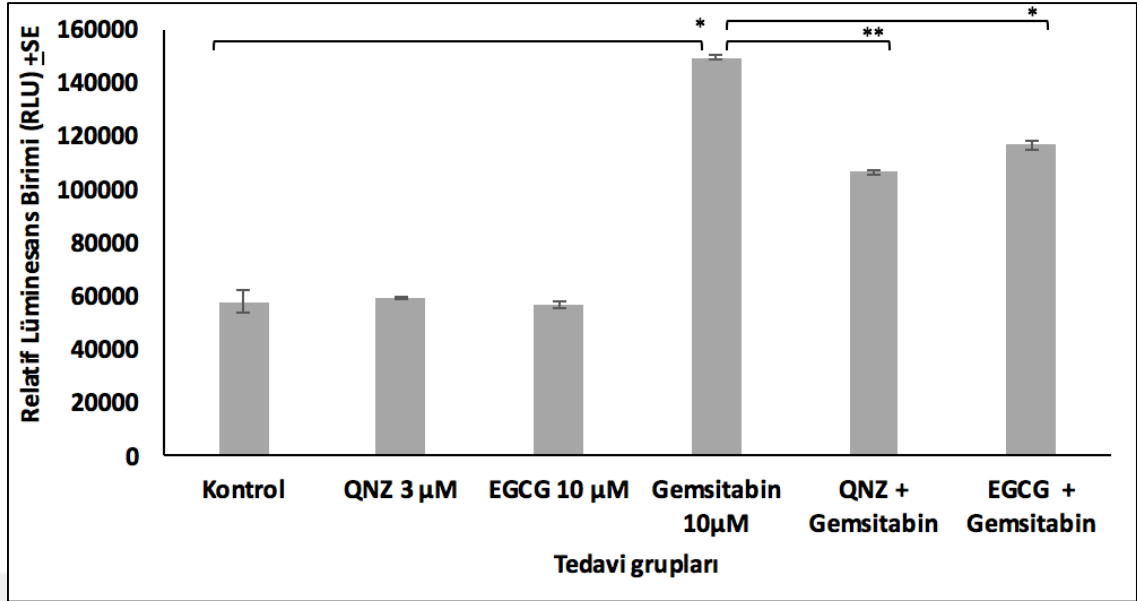


Şekil 4.13. QNZ EVP4593'ün HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593 (1 µM ve 3 µM)+gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.006 ve p=0.002).
- Gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.10. EGCG'nin (antioksidan), HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, EGCG (10 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından gemsitabin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.14'de gösterildiği gibi, 10 µM gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 3 µM QNZ EVP4593 ve 10 µM EGCG ile sırasıyla %46,9 ve %35,7 oranında inhibe edildi.

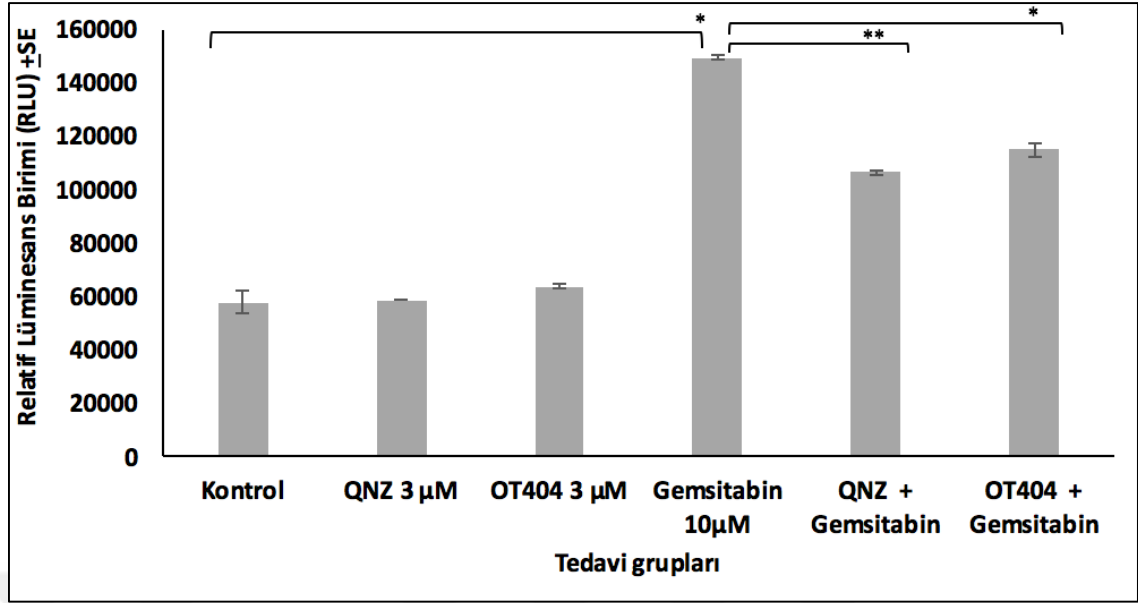


**Şekil 4.14.** EGCG'nin HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.002$ ).
- EGCG+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.011$ ).
- Gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.023$ ). Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.11. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, OT-404 (3 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından gemitabin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.15'de gösterildiği gibi, 10 µM gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 3 µM QNZ EVP4593 ve OT-404 ile sırasıyla %46,9 ve %37,7 oranında inhibe edildi.

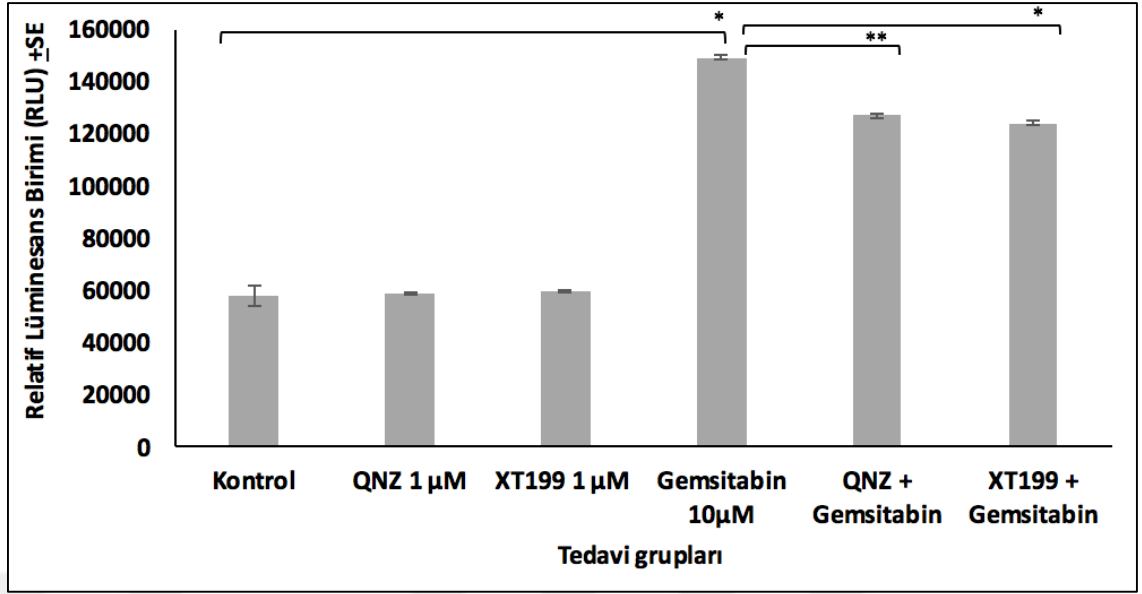


**Şekil 4.15.** OT-404'ün HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (p=0.002).
- OT-404+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.034).
- Gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

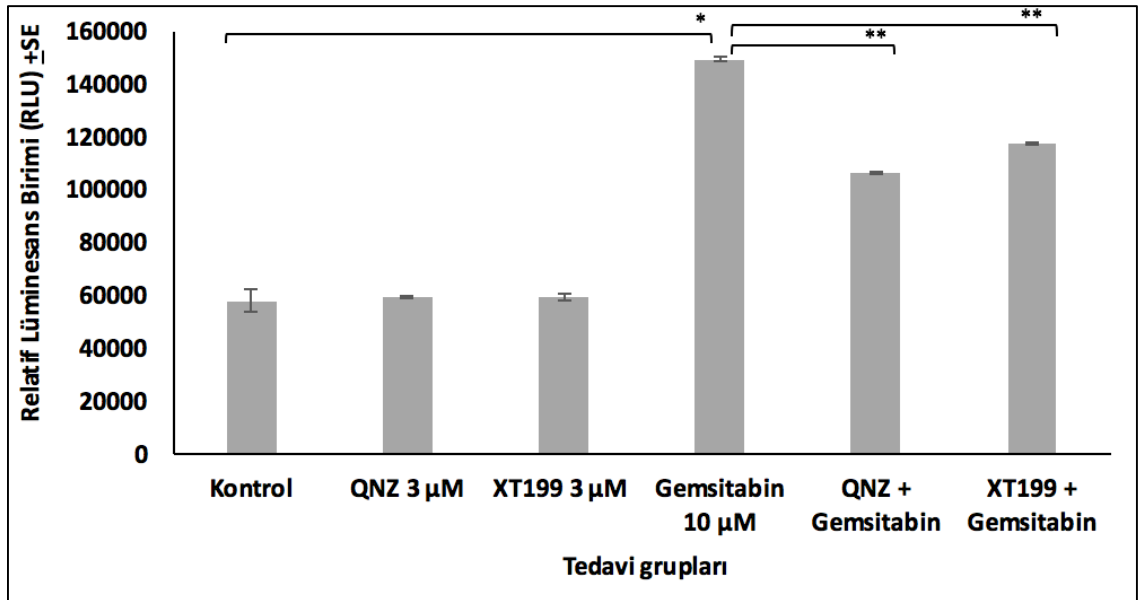
#### 4.1.1.12. XT199'un (integrin αβ3 antagonisti) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, XT199 (1 µM ve 3 µM) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından gemitabin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. HeLa hücrelerinde 10 µM gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1 µM XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %27,7 ve %24,5 oranında inhibe edildi (Şekil 4.16), buna ek olarak 3 µM XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %34,9 ve %46,9 oranında inhibe edildi (Şekil 4.17).



**Şekil 4.16.** XT199'un (1 μM) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- XT199+gemitabin ve QNZ EVP4593+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.043$ ,  $p = 0.006$ ).
- Gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.023$ ). Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.



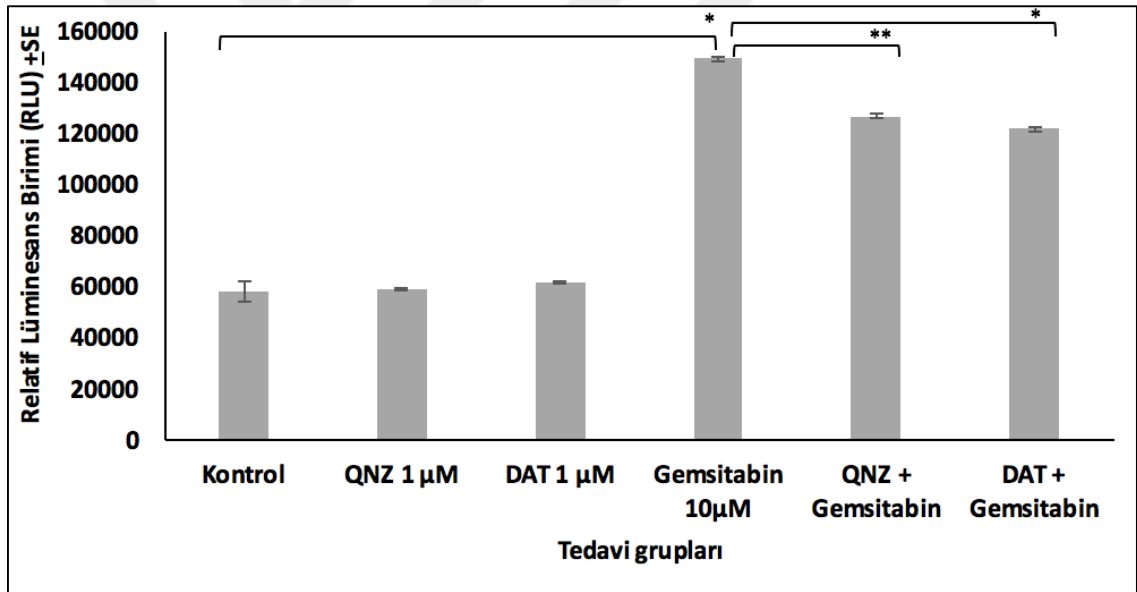
**Şekil 4.17.** XT199'un (3 μM) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- XT199+gemitabin ve QNZ EVP4593+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak

- anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.007, p=0.002).
- Gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

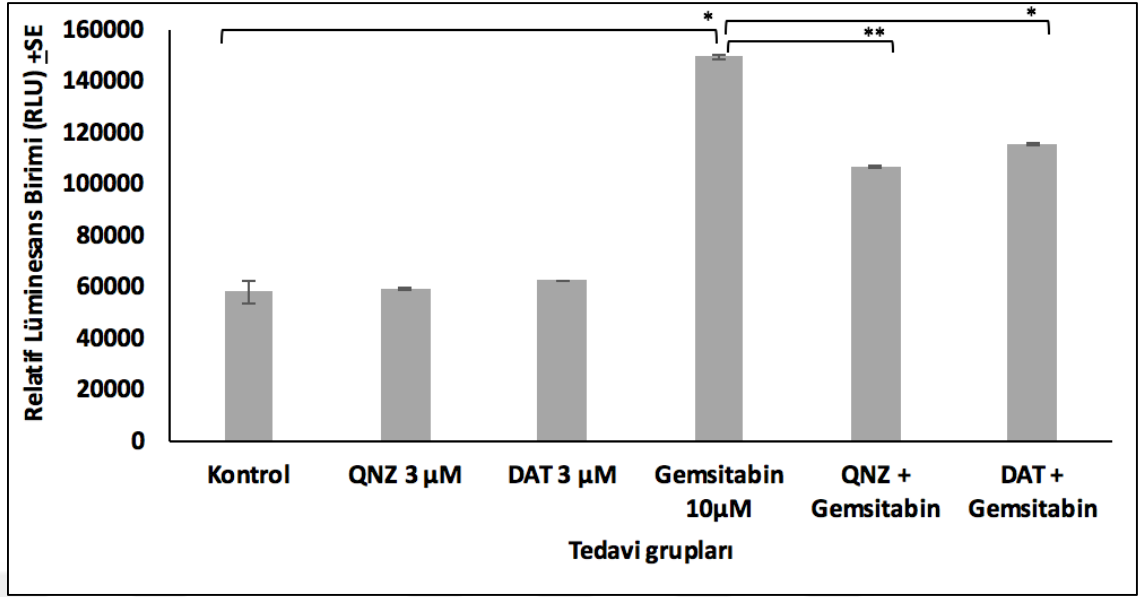
#### 4.1.1.13. DAT'ın (integrin $\alpha\beta 3$ antagonisti) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, DAT (1  $\mu$ M ve 3  $\mu$ M) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından gemsitabin (10  $\mu$ M) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Hela hücrelerinde 10  $\mu$ M gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu, 1  $\mu$ M DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %30,1 ve %24,5 oranında inhibe edildi (Şekil 4.18), buna ek olarak 3  $\mu$ M DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %36,9 ve %46,9 oranında inhibe edildi (Şekil 4.19).



**Şekil 4.18.** DAT'ın (1  $\mu$ M) HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT+gemsitabin ve QNZ EVP4593+gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05, \*\*p<0.01) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.035, p=0.006).
- Gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

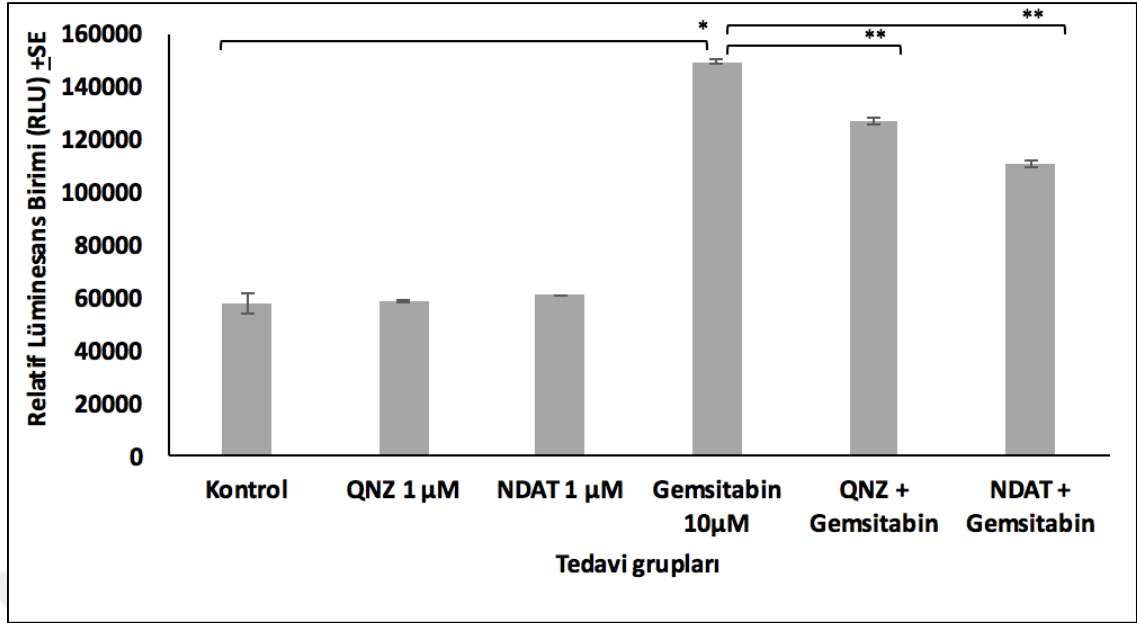


**Şekil 4.19.** DAT'ın (3 µM) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT+gemitabin ve QNZ EVP4593+gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05, \*\*p<0.01) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.023, p=0.002).
- Gemitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.14. N DAT'ın (integrin αvβ3 antagonisti) HeLa hücrelerinde gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

HeLa hücreleri, N DAT (1 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından gemitabin (10 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.20'de gösterildiği gibi, 10 µM gemitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1 µM QNZ EVP4593 ve N DAT ile sırasıyla %24,5 ve %41,9 oranında inhibe edildi.



**Şekil 4.20.** NDAT'ın HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- NDAT+gemsitabin ve QNZ EVP4593+gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.006, p=0.006).
- Gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.023).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

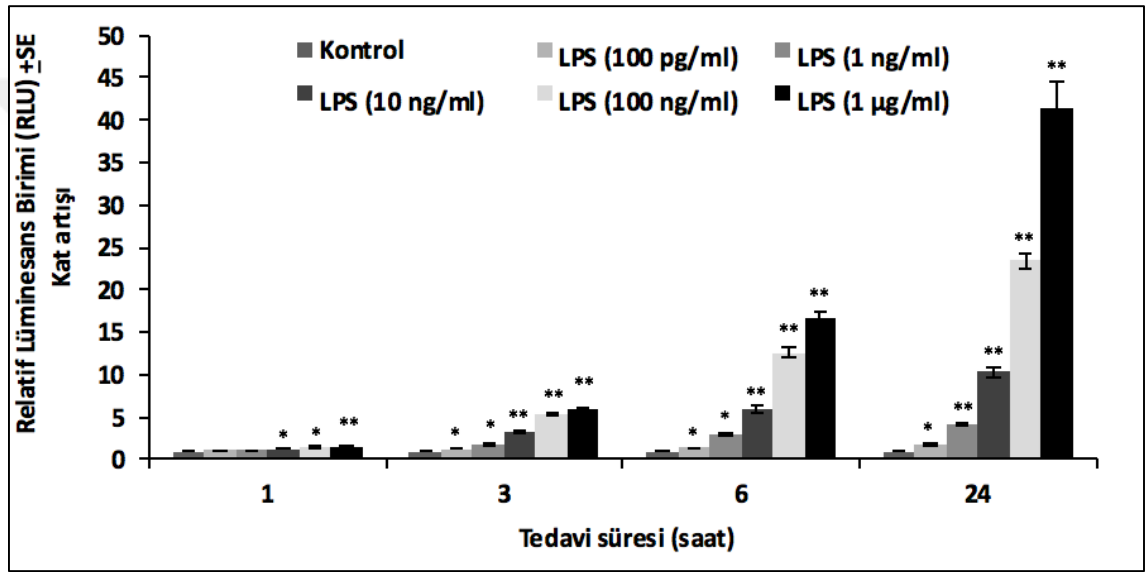
#### 4.1.1.15. LPS'in, THP1 hücrelerinde konsantrasyona- ve zamana- bağımlı olarak NF-κB aktivasyonunu indüklemesi

HeLa hücrelerinde test edilen tüm test bileşiklerinin (EGCG, OT-404, DAT, NDAT, XT199 ve QNZ EVP4593) bu tip kanser hücre hattında kemoterapötik ilaçlar (sisplatin ve/veya gemsitabin) ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu etkili bir şekilde down-regüle ettiği belirlendi ve test bileşiklerinin monositik lösemi hücre hattında da benzer etkilerinin olup olmadığı araştırıldı. Bu nedenle, çalışmada laboratuvarımızda var olan NF-κB ile stabil olarak transfekte edilmiş diğer bir kanser hücre hattı olan THP1 monositik lösemi hücre hattı *in vitro* model olarak kullanıldı.

Pro-inflamatuvar sitokinlerin ve diğer çözümler faktörlerin salımı dahil çeşitli inflamatuvar reaksiyonları tetikleyebilen Gram-negatif bakterilerin dış membranının önemli yapısal bileşenlerinden olan lipopolisakkarit (LPS), THP1 hücrelerinde NF-κB genlerin ekspresyonunu up-regüle etmesi amacıyla kullanıldı.



NF-κB promoter elemanlarının kontrolü altında lusiferaz geni ile stabil olarak transfekte edilen THP1 hücreleri, LPS'in artan konsantrasyonları (100 pg/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml ve 1 µg/ml) ile 1, 3, 6 ve 24 saat boyunca uyarıldı. NF-κB promoter aktivasyonu, lusiferaz aktivitesinin belirlenmesi ile değerlendirildi. Tedavi gruplarının RLU değerlerinin, kontrol grubu RLU değerlerine göre kat artışı hesaplandı. THP1 hücrelerinde NF-κB aktivasyonunu indükleyen LPS'in uygun tedavi süresi ve konsantrasyonu belirlendi. 1 µg/ml LPS konsantrasyonunun NF-κB aktivasyonunu 3 saatin sonunda kontrole göre 5 kat arttırdığı gözlemlendi (Şekil 4.21).

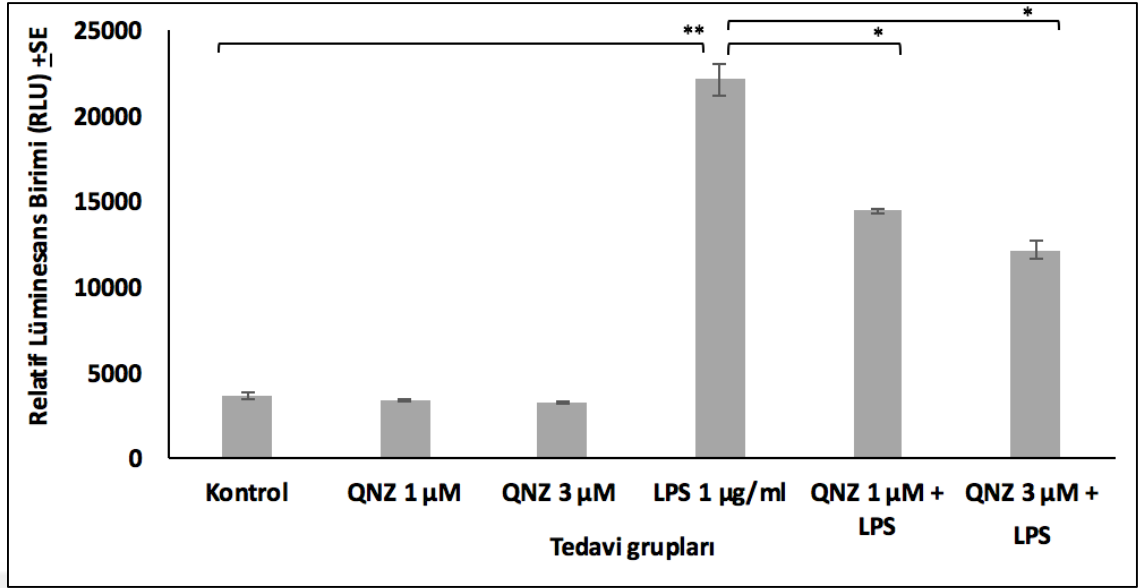


Şekil 4.21. LPS konsantrasyonlarının ve tedavi sürelerinin THP1 hücrelerinde NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri

- LPS'in farklı konsantrasyonları ile farklı sürelerde tedavi edilmiş hücreler, kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05, \*\*p<0.01) ifade etmektedir.
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.16. QNZ EVP4593'ün, NF-κB inhibitörü, THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi

THP1 hücreleri, QNZ EVP4593 (1 µM ve 3 µM) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1 µg/ml) ile 3 saat boyunca uyarıldı. 1 µg/ml LPS tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu, QNZ EVP4593 1 µM ve 3 µM konsantrasyonları ile sırasıyla %41,5 ve %54 oranında inhibe edildi (Şekil 4.22).

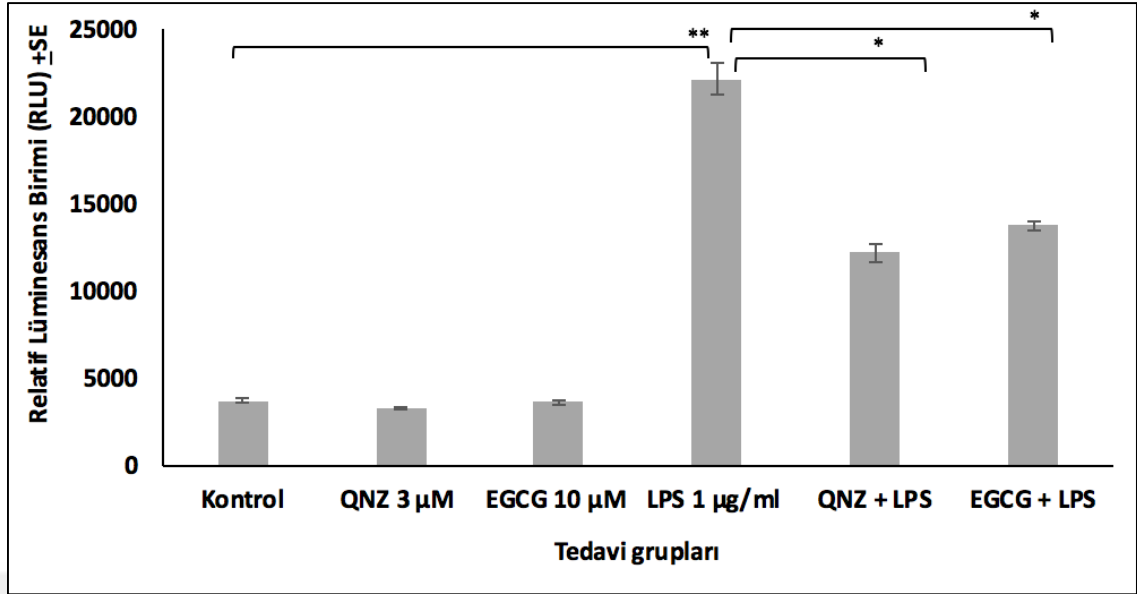


**Şekil 4.22.** QNZ EVP4593'ün THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593 (1 µM ve 3 µM)+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.017 ve p=0.012).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (p=0.003).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### **4.1.1.17. EGCG'nin (antioksidan), THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması**

THP1 hücreleri, EGCG (10 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1 µg/ml) ile 3 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.23'de gösterildiği gibi, 1 µg/ml LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 3 µM QNZ EVP4593 ve 10 µM EGCG ile sırasıyla %54 ve %45,6 oranında inhibe edildi.



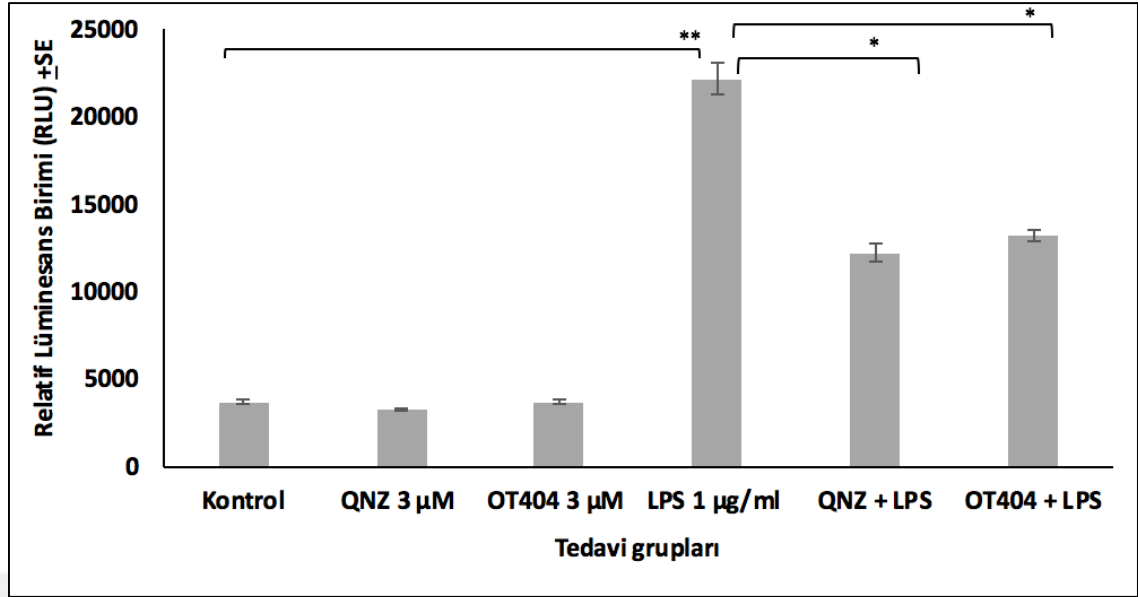
**Şekil 4.23.** EGCG'nin THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- EGCG+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.018$ ,  $p = 0.012$ ).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.003$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.18. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) THP1 hücrelerinde LPS ile

##### indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

THP1 hücreleri, OT-404 (3 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1 µg/ml) ile 3 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.24'de gösterildiği gibi, 1 µg/ml LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 3 µM QNZ EVP4593 ve OT-404 ile sırasıyla %54 ve %48,7 oranında inhibe edildi.

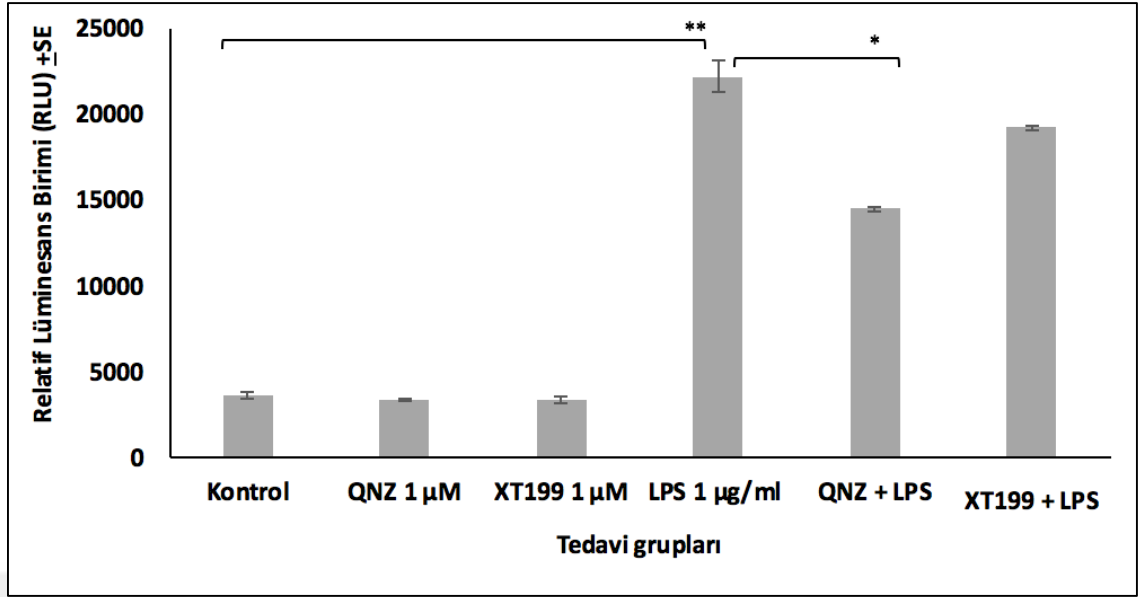


**Şekil 4.24.** OT-404'ün THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- OT-404+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.015$ ,  $p = 0.012$ ).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.003$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

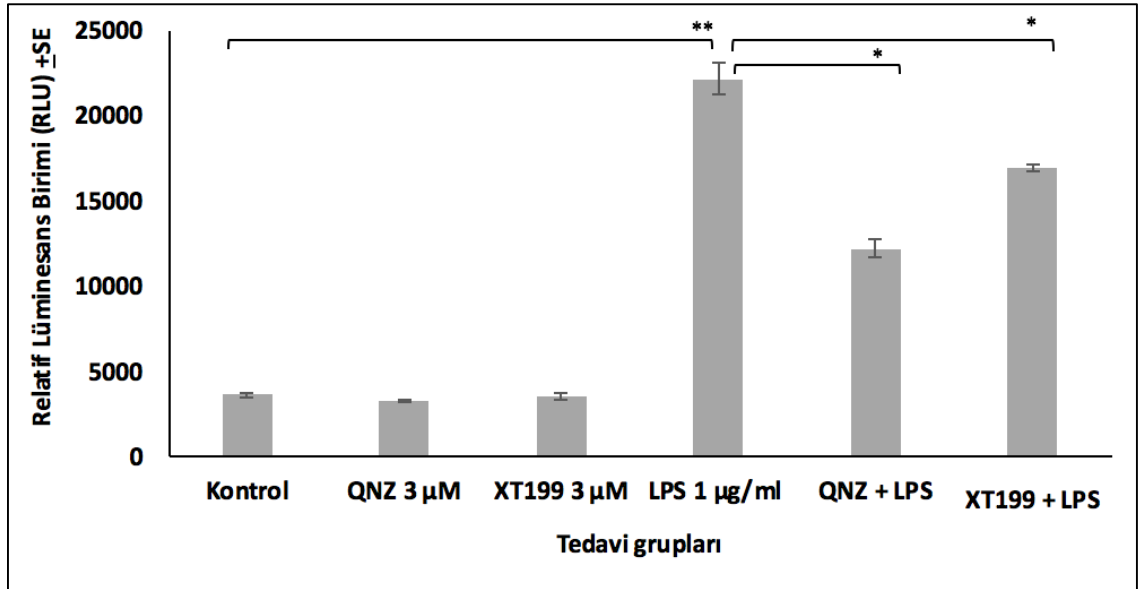
#### 4.1.1.19. XT199'un (integrin $\alpha\beta 3$ antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

THP1 hücreleri, XT199 (1  $\mu\text{M}$  ve 3  $\mu\text{M}$ ) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1  $\mu\text{g/ml}$ ) ile 3 saat boyunca uyarıldı. THP1 hücrelerinde 1  $\mu\text{g/ml}$  LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1  $\mu\text{M}$  XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %15,9 ve %41,5 oranında inhibe edildi (Şekil 4.25), buna ek olarak 3  $\mu\text{M}$  XT199 ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %28,3 ve %54 oranında inhibe edildi (Şekil 4.26).



**Şekil 4.25.** XT199'un (1  $\mu$ M) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.017$ )
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.003$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.



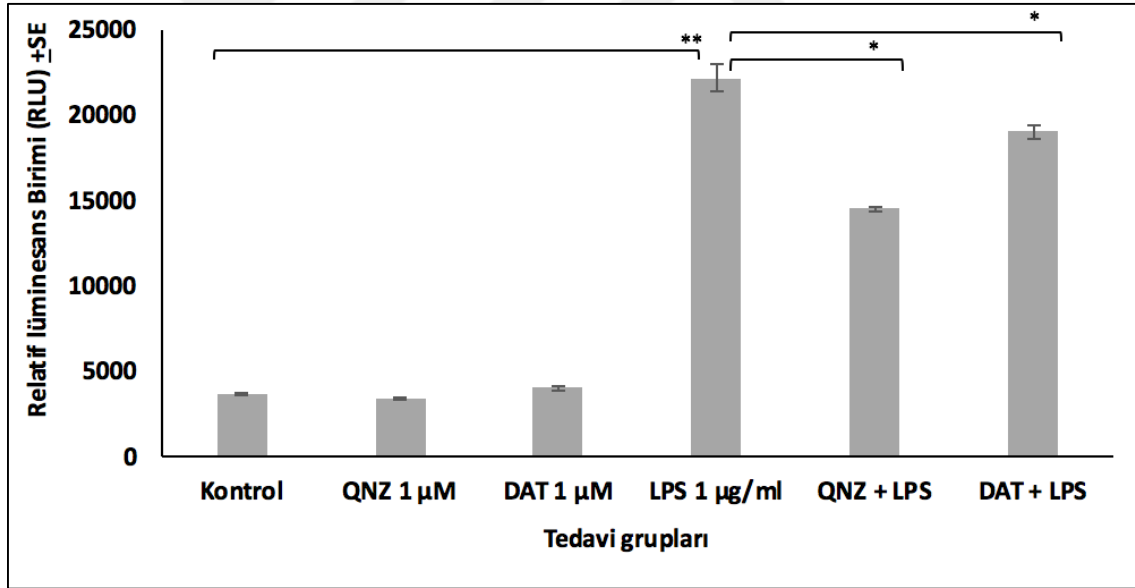
**Şekil 4.26.** XT199'un (3  $\mu$ M) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- XT199+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (sırasıyla p=0.039, p=0.012).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (p=0.003).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.20. DAT'ın (integrin $\alpha\beta 3$ antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile

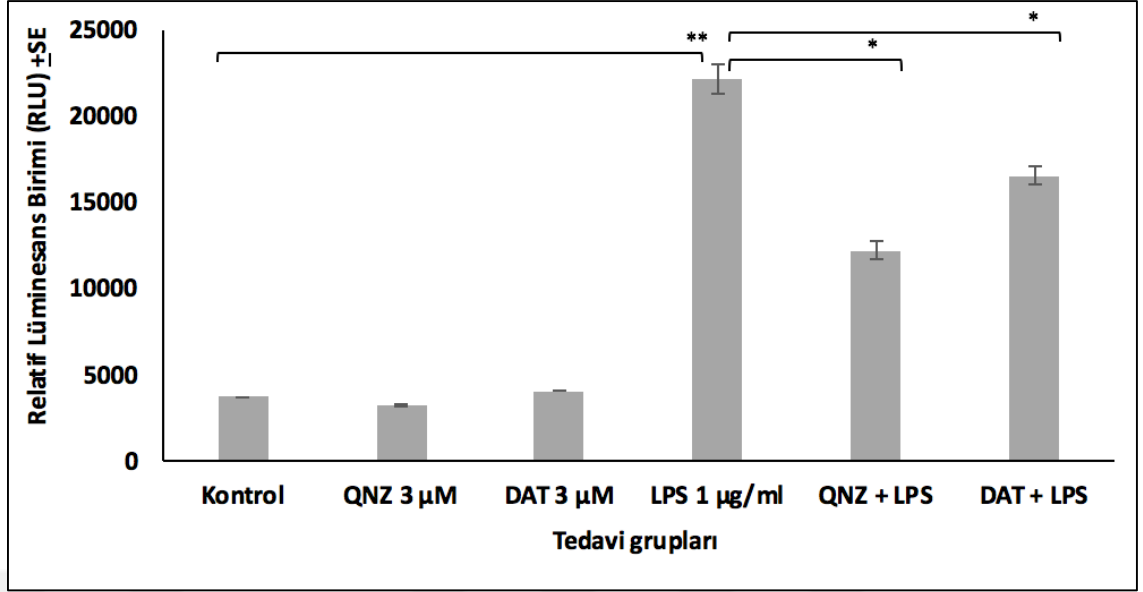
##### indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi ve bu etkinin QNZ EVP4593 ile karşılaştırılması

THP1 hücreleri, DAT (1  $\mu$ M ve 3  $\mu$ M) ile 3 saatlik ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1  $\mu$ g/ml) ile 3 saat boyunca uyarıldı. THP1 hücrelerinde 1  $\mu$ g/ml LPS ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu, 1  $\mu$ M DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %17 ve %41,5 oranında inhibe edildi (Şekil 4.27), buna ek olarak 3  $\mu$ M DAT ve QNZ EVP4593 ile sırasıyla %30,6 ve %54 oranında inhibe edildi (Şekil 4.28).



Şekil 4.27. DAT'ın (1  $\mu$ M) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (sırasıyla p= 0.019, p=0.017).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (p=0.003).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

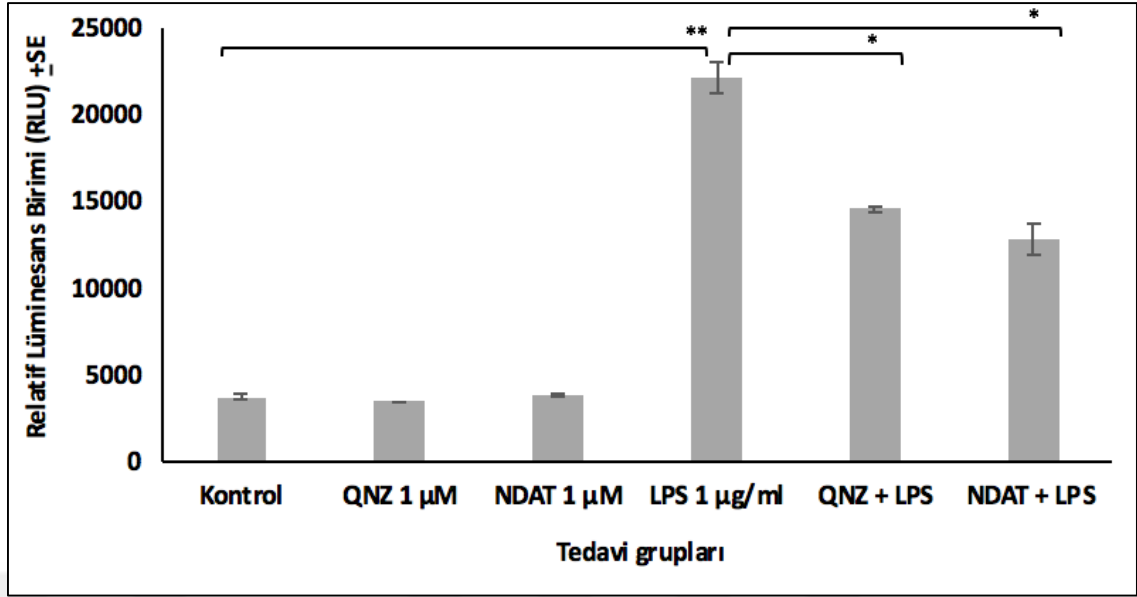


**Şekil 4.28.** DAT'ın (3 µM) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- DAT+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece LPS ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (sırasıyla p= 0.031, p=0.012).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\*p<0.01) ifade etmektedir (p=0.003).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.21. NDAT'ın (integrin αvβ3 antagonisti) THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi

THP1 hücreleri, NDAT (1 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından LPS (1 µg/ml) ile 3 saat boyunca uyarıldı. Şekil 4.29'de gösterildiği gibi, 1 µg/ml LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu, 1 µM QNZ EVP4593 ve NDAT ile sırasıyla %41,5 ve %50,6 oranında inhibe edildi.



**Şekil 4.29.** NDAT'ın THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- NDAT+LPS ve QNZ EVP4593+LPS ile tedavi edilmiş hücreler, sadece gemsitabin ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\* $p < 0.05$ ) ifade etmektedir (sırasıyla  $p = 0.034$ ,  $p = 0.017$ ).
- LPS ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*\* $p < 0.01$ ) ifade etmektedir ( $p = 0.003$ ).
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.22. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), THP1 hücrelerinde konsantrasyona-bağımlı olarak NF-κB aktivasyonunu indüklemesi

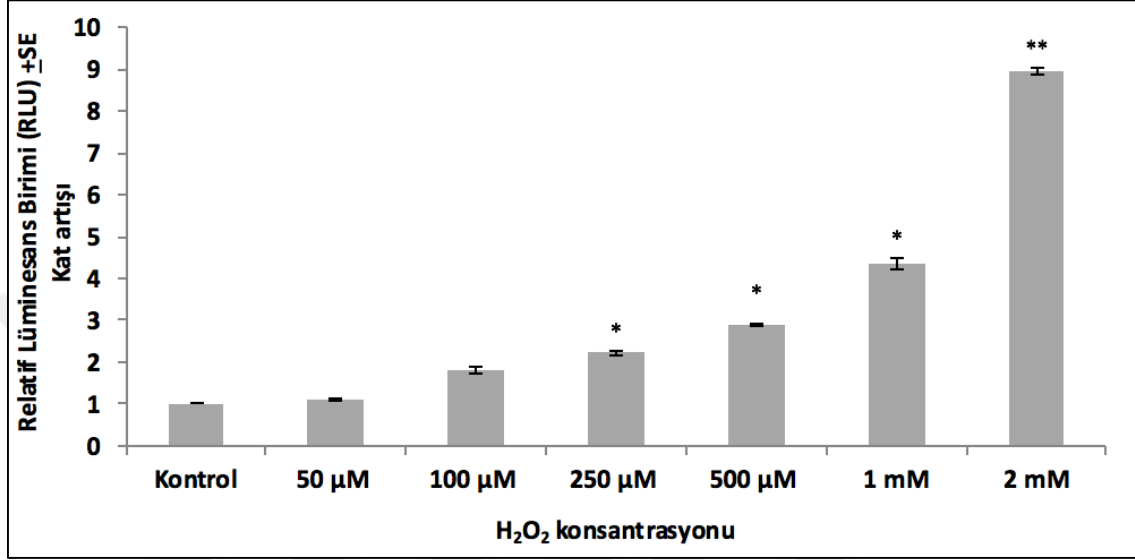
Yukarıdaki çalışmalarda, EGCG (antioksidan) ve OT-404 (NF-κB/ROS inhibitörü) bileşiklerinin, THP1 hücrelerinde LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle edici etkileri gösterildi.

Kanser kemoterapisi sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücre içi sinyal yolağında NF-κB aktivasyonunu artırdığı bilinmektedir. Dolayısıyla, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile indüklenen oksidatif strese karşı EGCG ve OT-404 test bileşiklerinin potansiyel antioksidan aktivitelerinin, kemoterapinin-indüklediği periferik nöropatide (CIPN) önemli rolü olan NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri araştırıldı.

NF-κB promoter elemanlarının kontrolü altında lusiferaz geni ile stabil olarak transfekte edilen THP1 hücreleri, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin artan konsantrasyonları (50 µM, 100 µM, 250 µM, 500 µM, 1 mM ve 2 mM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. NF-κB promoter aktivasyonu, lusiferaz aktivitesinin belirlenmesi ile değerlendirildi. Tedavi gruplarının RLU değerlerinin,



kontrol grubu RLU değerlerine göre kat artışı hesaplandı. THP1 hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonunu indükleyen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin uygun konsantrasyonu belirlendi. 500  $\mu$ M H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin NF- $\kappa$ B aktivasyonunu 24 saatin sonunda kontrole göre ~3-kat arttırdığı gözlemlendi (Şekil 4.30).

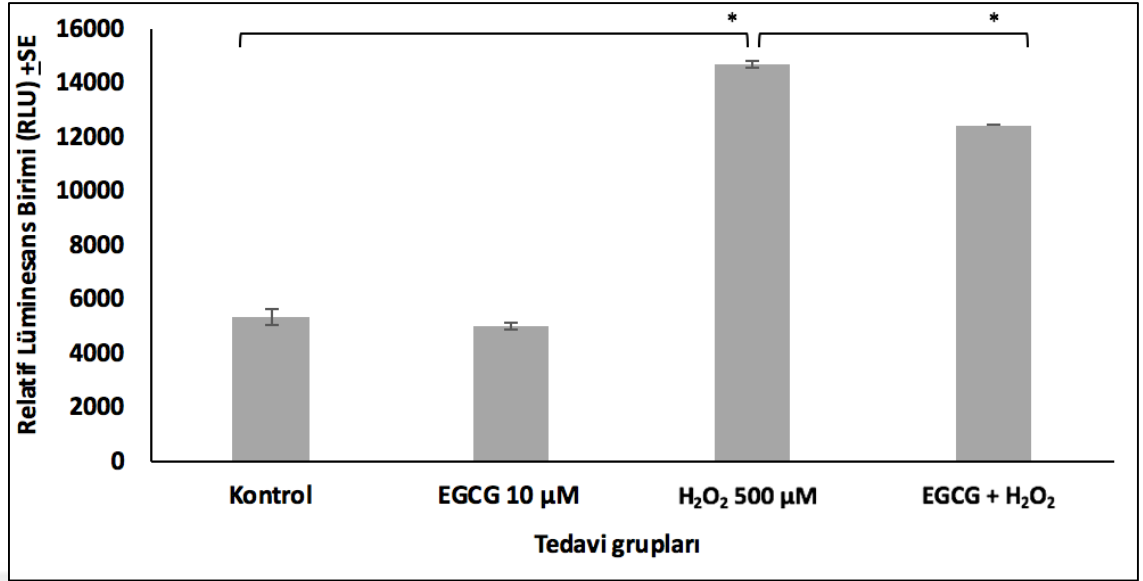


**Şekil 4.30.** Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) konsantrasyonlarının THP1 hücrelerinde NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine etkileri

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in farklı konsantrasyonları ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05, \*\*p<0.01) ifade etmektedir.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edilmektedir.

#### **4.1.1.23. EGCG'nin (antioksidan) THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu down-regüle etmesi**

THP1 hücreleri, EGCG (10  $\mu$ M) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500  $\mu$ M ile 24 saat boyunca uyarıldı. EGCG ile ön tedavinin, THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu %24,3 oranında inhibe ettiği gözlemlendi (Şekil 4.31).

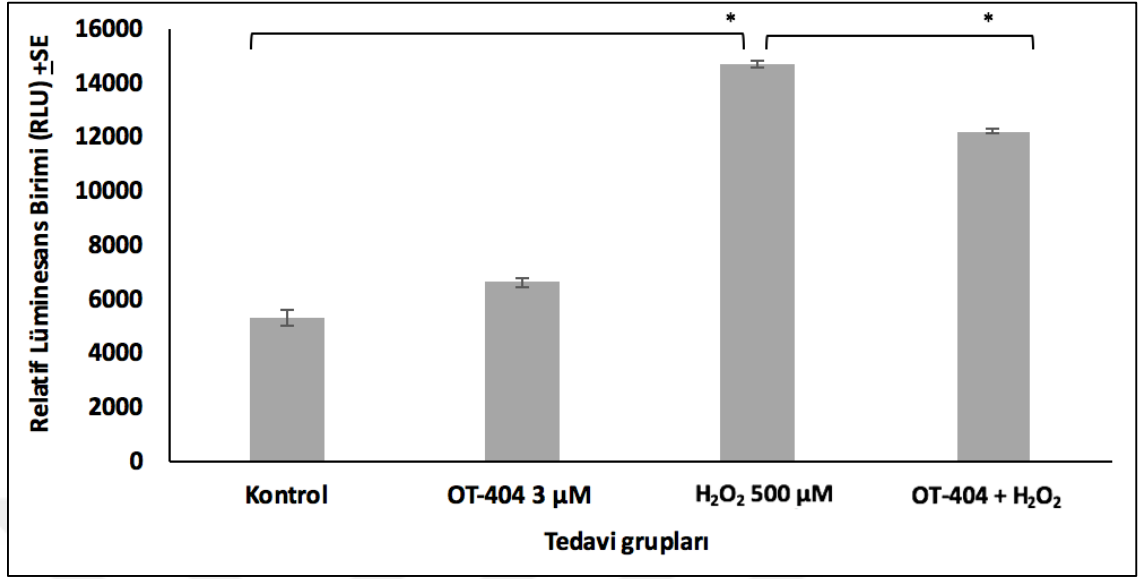


**Şekil 4.31.** EGCG'nin THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- EGCG+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler, sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.043).
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.010).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

#### 4.1.1.24. OT-404'ün (NF-κB/ROS inhibitörü) THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu down-regüle etmesi

THP1 hücreleri, OT-404 (3 µM) ile 3 saat ön tedavi uygulanmasının ardından H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500 µM) ile 24 saat boyunca uyarıldı. OT-404 ile ön tedavinin, THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu %26,5 oranında inhibe ettiği gözlemlendi (Şekil 4.32).



**Şekil 4.32.** OT-404'ün THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkisi

- OT-404+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler, sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.013).
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile tedavi edilmiş hücreler, kontrol ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılığı (\*p<0.05) ifade etmektedir (p=0.010).
- Değerler ortalama standart hata ± SE olarak ifade edilmektedir.

Test bileşiklerinin, HeLa hücrelerinde sisplatin ve/veya gemsitabin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri özet olarak Çizelge 4.1'de, THP1 hücrelerinde LPS ve/veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri özet olarak Çizelge 4.2'de gösterildi.

**Çizelge 4.1.** Test bileşiklerinin, HeLa hücrelerinde sisplatin ve/veya gemsitabin tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri

	NF-κB aktivasyonunu indüklemek için kullanılan ajanlar	Sisplatin ve/veya gemsitabin ile kombine test bileşikleri					
		DAT 1 μM-3 μM	NDAT 1 μM	XT199 1 μM-3 μM	OT404 3 μM	EGCG 10 μM	QNZ EVP4593 1 μM-3 μM
HeLa hücreleri	Sisplatin 10 μM	down-regüle edildi					
		%27-%45,6	%66,8	%25,4-%40,6	%41,2	%58,5	%42,4-%66,8
	Gemsitabin 10 μM	down-regüle edildi					
		%30,1-%36,9	%41,9	%27,7-%34,9	%37,7	%35,7	%24,5-%46,9

Özetle, HeLa hücrelerinde kemoterapötik ajanlar (sisplatin ve/veya gemsitabin) tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonundaki artış, test edilen tüm bileşikler tarafından etkili bir şekilde down-regüle edildi.

**Çizelge 4.2.** Test bileşiklerinin, THP1 hücrelerinde LPS ve/veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine etkileri

	NF-κB aktivasyonunu indüklemek için kullanılan ajanlar	LPS ve/veya H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile kombine test bileşikleri					
		DAT 1 μM-3 μM	NDAT 1 μM	XT199 1 μM-3 μM	OT404 3 μM	EGCG 10 μM	QNZ EVP4593 1 μM-3 μM
THP1 hücreleri	LPS 1 μg/ml	down-regüle edildi					
		%17-%30,6	%50,6	%15,9-%28,3	%48,7	%45,6	%41,5-%54
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 500μM	down-regüle edildi					
					%26,5	%24,3	

Özetle, THP1 hücrelerinde LPS tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonundaki artış, test edilen tüm bileşikler tarafından etkili bir şekilde down-regüle edildi. Ayrıca, THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonundaki artış, antioksidan bileşik olarak test edilen EGCG ve OT-404 tarafından etkili bir şekilde down-regüle edildi.

## 4.2. *In vivo* Bulgular

### 4.2.1. Test bileşiklerinin ortotopik pankreatik tümör büyümesine, tümör

#### biyoluminesans sinyal yoğunluğuna ve tümör hücre ölümüne etkileri

#### 4.2.1.1. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine NDAT'ın katkısı

Lusiferaz geni eksprese eden SUI2-luc kanser hücrelerinden gelişen ortotopik pankreatik tümörler, NDAT (3 mg/kg vücut ağırlığı, subkutan, günlük), sisplatin (1 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal, günlük) ve NDAT+sisplatin ile 21 gün boyunca tedavi edildi.

Kontrol grubu tümörlerinde, zamanla tümör ağırlığında artış ile birlikte tümör biyoluminesans sinyal yoğunluğundaki artış, farelerin kapalı ve açık-kavite tümör biyoluminesans görüntüsü (sırasıyla Şekil 4.33a, b) veya farelerden çıkartılan tümörlerin *ex vivo* biyoluminesans görüntüsü (Şekil 4.33c) ile gösterildi.

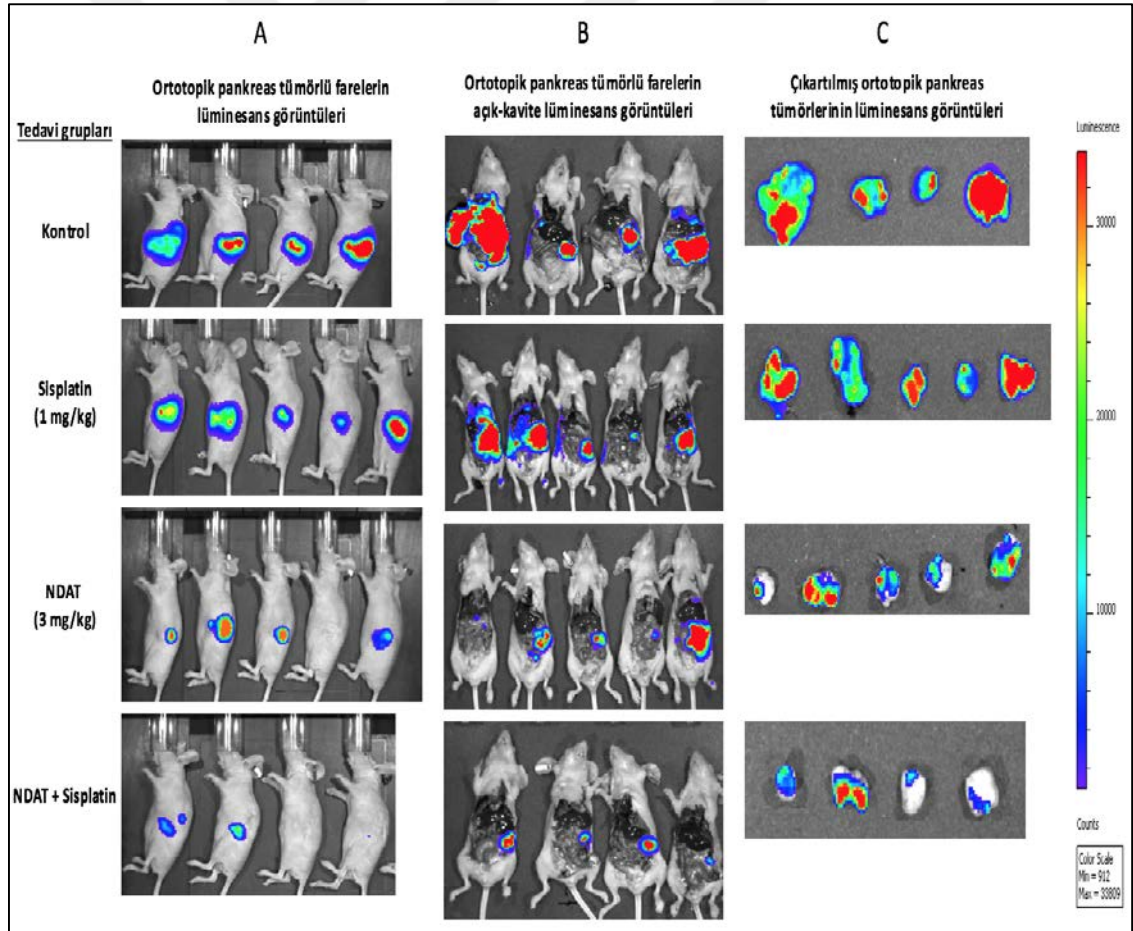
Kontrol grubunda tümör sinyal yoğunluğu  $10,7 \pm 3,9$  iken, sisplatin ile tedavi edilen grubun tümör sinyal yoğunluğunun  $13,0 \pm 2,9$  olması dikkat çekici bir durumdur (Çizelge 4.3). Bu durum SUI2-luc ortotopik tümörlerin büyümesinde sisplatinin etkisinin olmadığını bir göstergesidir ve SUI2-luc hücrelerinin sisplatin tedavisine direç gösterme yeteneği ile açıklanabilir. Sisplatin tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığının %37,4 oranında düştüğü gözlemlendi.

NDAT+sisplatin tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda %60,2 ve tümör ağırlığında %68,9 oranında azalma gözlemlendi. NDAT tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığında %51,3 ve tümör sinyal yoğunluğunda %27 oranında azalma gözlemlendi.

NDAT+sisplatin tedavisinin, tümör küçülme eğiliminin artması (Şekil 4.34d) ve buna ek olarak *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS, *In vivo* Imaging System) ile ölçülen tümör hücresi canlılığının azalmasındaki eğilimi (Şekil 4.34e), tek başına NDAT ve sisplatin tedavilerine kıyasla NDAT+sisplatin kombinasyon tedavisinin avantajlı eğilimini ortaya koymaktadır. NDAT+sisplatin tedavi grubu, sisplatin tedavi grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda %67,3 ve tümör ağırlığında %50,4 oranında azalma gözlemlendi. Bu nedenle, NDAT'ın insan pankreas kanseri hücrelerinin sisplatin duyarlılığını arttırdığı belirlendi (Şekil 4.34).

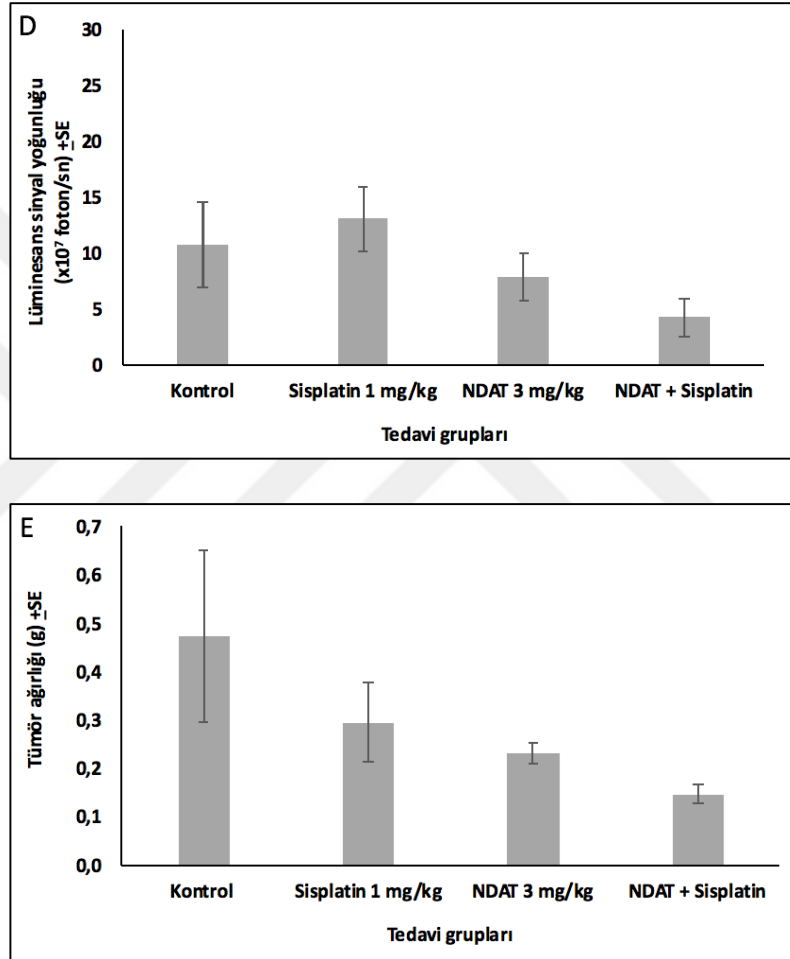
**Çizelge 4.3.** NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immünyetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri

Tedavi dozu (mg/kg)	SUIT2-luc tümör ortalama değerleri	
	Tümör ağırlığı (g) ± SE	Lüminesans sinyal yoğunluğu ( $\times 10^7$ foton/saniye) ± SE
<b>Kontrol (PBS)</b>	0,47±0,18	10,7±3,9
<b>Sisplatin (1mg/kg, i.p., günlük)</b>	0,30±0,08	13,0±2,9
<b>NDAT (3mg/kg, s.c., günlük)</b>	0,23±0,02	7,8±2,1
<b>NDAT+sisplatin (günlük)</b>	0,15±0,02	4,3±1,7



**Şekil 4.33.** NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör lüminesans görüntüleri üzerine etkileri

a) Ortotopik SUIT2-luc pankreas tümörlerinin biyoluminesans yoğunluğunun IVIS görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi ve tümörlerde kanser hücreleri canlılığının tespiti. IVIS görüntüleri, dikey lüminesans renk barındaki (sağ kenarda) canlı olmayan mavi bar ile tamamen canlı olan kırmızı bar arasında değişmektedir b) Otopsi sırasında farelerin açık-kavite biyoluminesans görüntüleri, *in vivo* tümör büyümesi üzerine NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavisinin etkisini gösterir c) Kontrol grubu, NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavi gruplarından çıkartılmış ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans görüntüleri



**Şekil 4.34.** NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri

d) Ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans sinyal yoğunluğu grafiği. NDAT ve NDAT+sisplatin tedavi gruplarında SUIT2-luc hücrelerinin sinyal yoğunluğunda, kontrol ve sisplatin gruplarına kıyasla azalma görüldü e) Tümör ağırlıklarının ölçüm grafiği. NDAT, sisplatin ve NDAT+sisplatin tedavi gruplarında tümör ağırlığında, kontrol grubuna kıyasla azalma gözlemlendi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.1.2. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine XT199'un katkısı

Lusiferaz geni eksprese eden SUIT2-luc kanser hücrelerinden gelişen ortotopik pankreatik tümörler, XT199 (3 mg/kg vücut ağırlığı, subkutan, günlük), sisplatin (1 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal, günlük) ve XT199+sisplatin ile 21 gün boyunca tedavi edildi.

Kontrol grubu tümörlerinde, zamanla tümör ağırlığında artış ile birlikte tümör biyoluminesans sinyal yoğunluğundaki artış, farelerin kapalı ve açık-kavite tümör biyoluminesans görüntüsü (sırasıyla Şekil 4.35a, b) veya farelerden çıkartılan tümörlerin *ex vivo* biyoluminesans görüntüsü (Şekil 4.35c) ile gösterildi.

Kontrol grubunda tümör sinyal yoğunluğu  $10,7 \pm 3,9$  iken, sisplatin ile tedavi edilen grubun tümör sinyal yoğunluğunun  $13,0 \pm 2,9$  olması dikkat çekici bir durumdur (Çizelge 4.4), bu durum SUIT2-luc ortotopik tümörlerin büyümesinde sisplatin etkisinin yokluğunun bir göstergesidir.

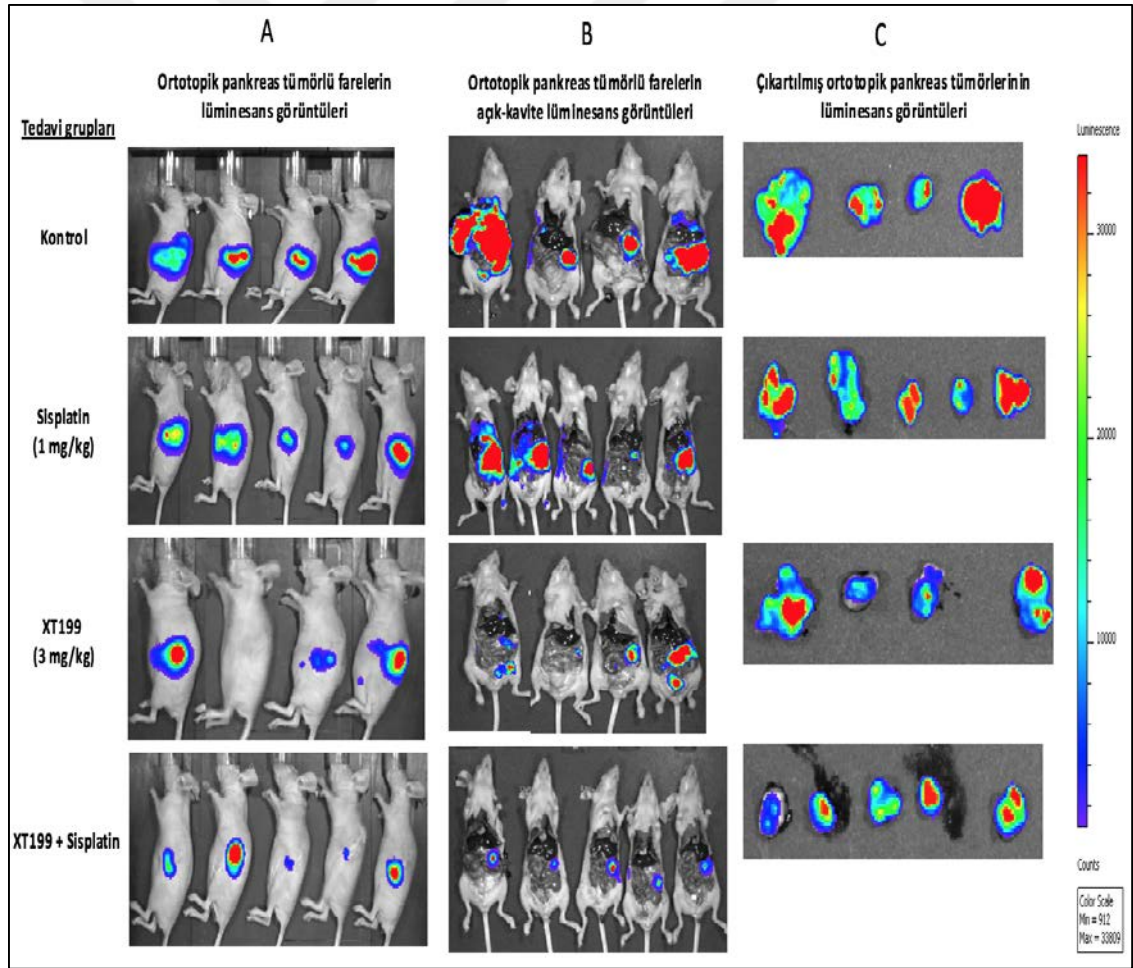
XT199+sisplatin tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda %58,3 (Şekil 4.36d) ve tümör ağırlığında %73 (Şekil 4.36e) oranında azalma gözlemlendi. XT199 tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunun %8,1 ve tümör ağırlığının %37 oranında düştüğü gözlemlendi.

XT199+sisplatin tedavisi ile tümör küçülmesinin artışı (Şekil 4.36e) ve buna ek olarak IVIS ile ölçülen tümör hücresi canlılığının azalması (Şekil 4.36d), tek başına XT199 ve sisplatin tedavilerine kıyasla XT199+sisplatin kombinasyon tedavisinin avantajını ortaya koymaktadır. XT199+sisplatin tedavi grubu, sisplatin tedavi grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda %65,6 ve tümör ağırlığında %57 oranında azalma gözlemlendi. Bu nedenle, XT199'un insan pankreas kanseri hücrelerinin sisplatine karşı duyarlılığını arttırdığı belirlendi (Şekil 4.36).



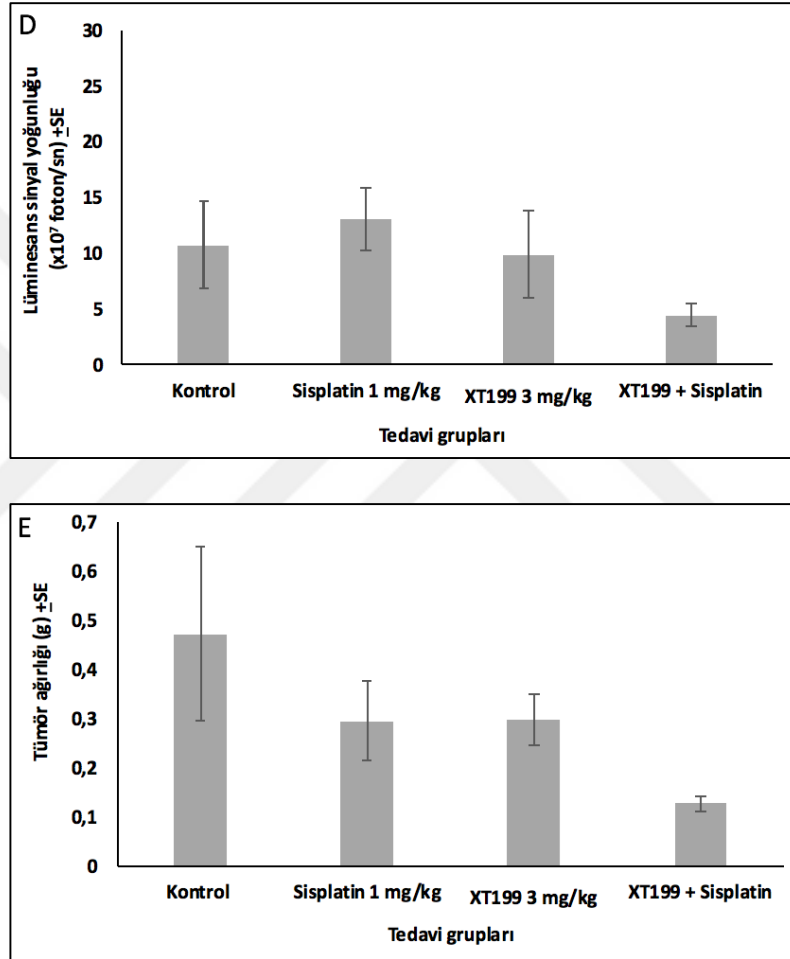
**Çizelge 4.4.** XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immünyetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri

Tedavi dozu (mg/kg)	SUIT2-luc tümör ortalama değerleri	
	Tümör ağırlığı (g) ± SE	Lüminesans sinyal yoğunluğu ( $\times 10^7$ foton/saniye) ± SE
<b>Kontrol (PBS)</b>	0,47±0,18	10,7±3,9
<b>Sisplatin (1 mg/kg, i.p., günlük)</b>	0,30±0,08	13,0±2,9
<b>XT199 (3 mg/kg, s.c., günlük)</b>	0,30±0,05	9,9±3,9
<b>XT199+sisplatin (günlük)</b>	0,13±0,02	4,5±1,0



**Şekil 4.35.** XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör lüminesans görüntüleri üzerine etkileri

a) Ortotopik SUIT2-luc pankreas tümörlerinin biyoluminesans yoğunluğunun IVIS görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi ve tümörlerde kanser hücreleri canlılığının tespiti. IVIS görüntüleri, canlılığı tespit eden dikey lüminesans renk barında (sağ kenarda), canlı olmayan-mavi bar ile tamamen canlı olan-kırmızı bar arasında değişmektedir b) Otopsi sırasında farelerin açık-kavite biyoluminesans görüntüleri, *in vivo* tümör büyümesi üzerine XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavisinin etkisini gösterir c) Kontrol grubu, XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavi gruplarından çıkartılmış ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans görüntüleri



**Şekil 4.36.** XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyal yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri

d) Ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans sinyal yoğunluğu grafiği. XT199 ve XT199+sisplatin tedavi gruplarında SUIT2-luc hücrelerinin sinyal yoğunluğunda kontrol grubuna kıyasla azalma görüldü e) Tümör ağırlıklarının ölçüm grafiği. XT199, sisplatin ve XT199+sisplatin tedavi gruplarında tümör ağırlığında, kontrol grubuna kıyasla azalma görüldü. Sonuçlar ortalama ± SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.1.3. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine OT-404'ün katkısı

Lusiferaz geni eksprese eden SUI2-luc kanser hücrelerinden gelişen ortotopik pankreatik tümörler, OT-404 (30 mg/kg vücut ağırlığı, subkutan, günlük), sisplatin (1 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal, günlük) ve OT+404-sisplatin ile 21 gün boyunca tedavi edildi.

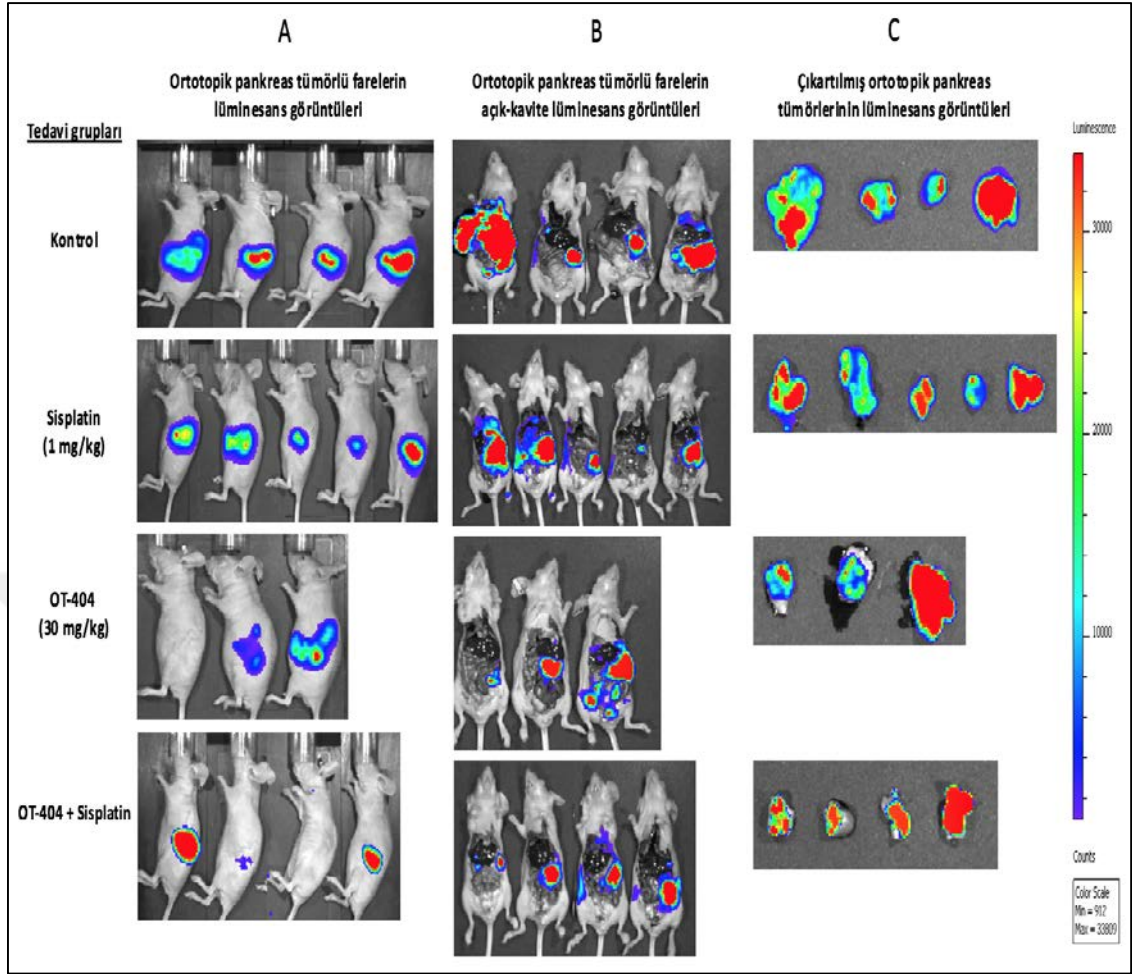
Kontrol grubu tümörlerinde, zamanla tümör ağırlığında artış ile birlikte tümör biyoluminesans sinyal yoğunluğundaki artış, farelerin kapalı ve açık-kavite tümör biyoluminesans görüntüsü (sırasıyla Şekil 4.37a, b) veya farelerden çıkarılan tümörlerin *ex vivo* biyoluminesans görüntüsü (Şekil 4.37c) ile gösterildi.

OT-404+sisplatin tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığında %65,7 oranında düşüşe neden olmasına rağmen tümör sinyal yoğunluğunun kontrol grubuna benzer olduğu gözlemlendi. Ayrıca, OT-404 tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığında %16,6 oranında düşüş gözlenirken, tümör sinyal yoğunluğunda 1.6 kat artış gözlemlendi (Çizelge 4.5).

OT-404+sisplatin tedavi grubu, sisplatin grubuna kıyasla, tümör ağırlığında %45,2 oranında ve tümör sinyal yoğunluğunda % 10,7 oranında azalma gösterdi (Şekil 38d, e). Bu nedenle, XT199'un insan pankreas kanseri hücrelerinin sisplatinine karşı duyarlılığını arttırdığı belirlendi (Şekil 4.38).

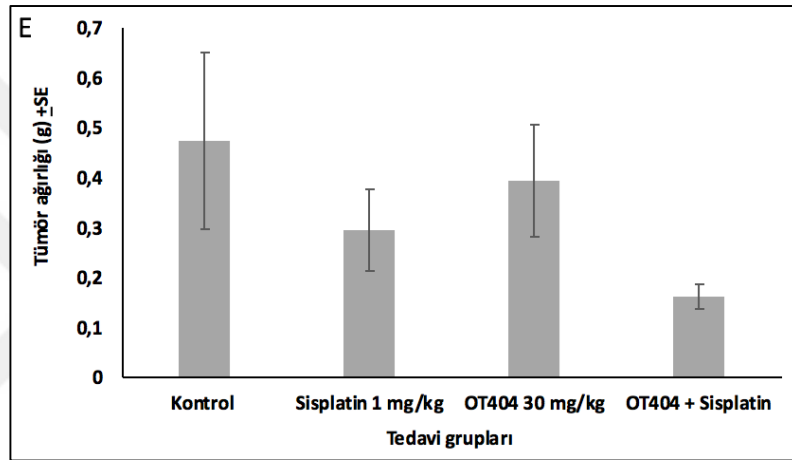
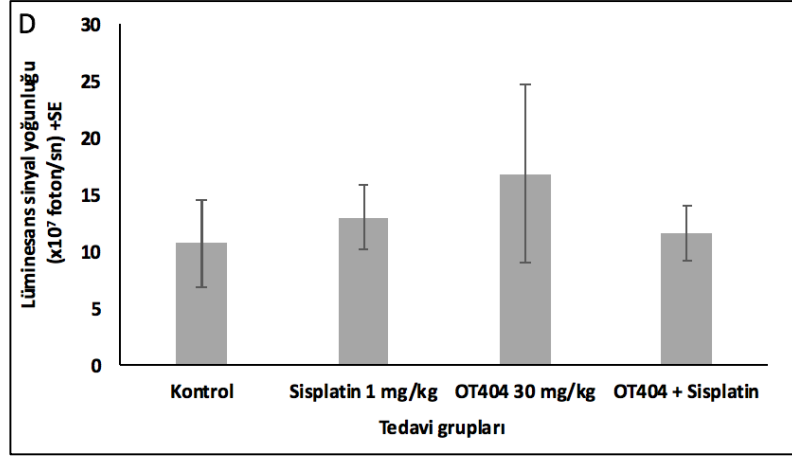
**Çizelge 4.5.** OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri

Tedavi dozu (mg/kg)	SUI2-luc tümör ortalama değerleri	
	Tümör ağırlığı (g) ± SE	Lüminesans sinyal yoğunluğu ( $\times 10^7$ foton/saniye) ± SE
<b>Kontrol (PBS)</b>	0,47±0,18	10,7±3,9
<b>Sisplatin (1mg/kg, i.p., günlük)</b>	0,30±0,08	13,0±2,9
<b>OT-404 (30 mg/kg, s.c., günlük)</b>	0,39±0,11	16,9±7,8
<b>OT-404+sisplatin (günlük)</b>	0,16±0,02	11,6±2,4



**Şekil 4.37.** OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör lüminesans görüntüleri üzerine etkileri

**a)** Ortotopik SUI2-luc pankreas tümörlerinin biyoluminesans yoğunluğunun IVIS görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi ve tümörlerde kanser hücresi canlılığının tespiti. IVIS görüntüleri, canlılığı tespit eden dikey lüminesans renk barında (sağ kenarda), canlı olmayan-mavi bar ile tamamen canlı olan-kırmızı bar arasında değişmektedir **b)** Otopsi sırasında farelerin açık-kavite bioluminesans görüntüleri, *in vivo* tümör büyümesi üzerine OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavisinin etkisini gösterir **c)** Kontrol grubu, OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavi gruplarından çıkartılmış ortotopik pankreas tümörlerinin bioluminesans görüntüleri



**Şekil 4.38.** OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyal yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri

**d)** Ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans sinyal yoğunluğu grafiği. OT-404+sisplatin tedavi gruplarında SUI2-luc hücrelerinin sinyal yoğunluğunda sisplatin grubuna kıyasla azalma görüldü **e)** Tümör ağırlıklarının ölçüm grafiği. OT-404, sisplatin ve OT-404+sisplatin tedavisi sonucu tümör ağırlığında azalma gözlemlendi. Sonuçlar ortalama ± SE olarak ifade edildi.

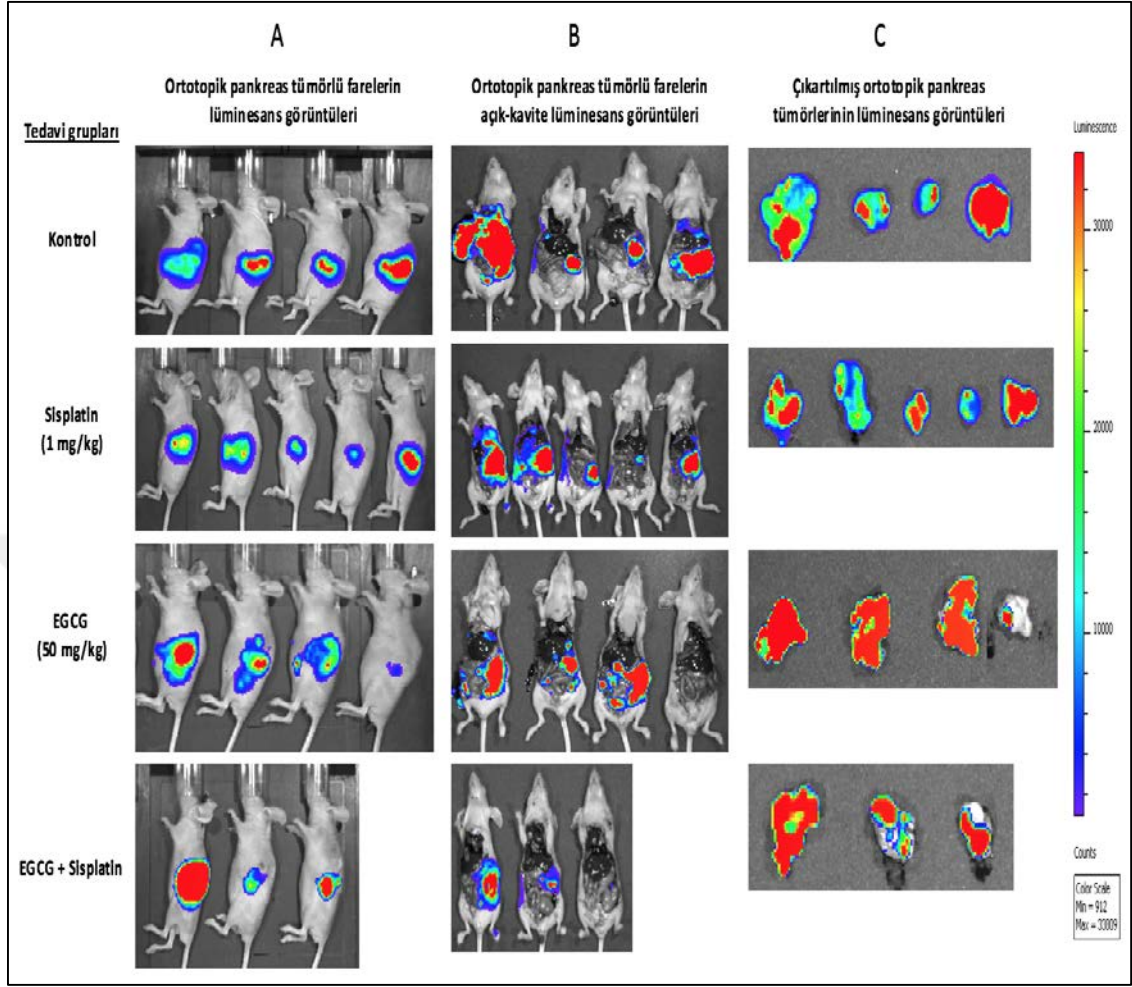
#### 4.2.1.4. Sisplatinin anti-tümör etkisi üzerine EGCG'nin etkisi

Lusiferaz geni eksprese eden SUI2-luc kanser hücrelerinden gelişen ortotopik pankreatik tümörler, EGCG (50 mg/kg vücut ağırlığı, subkutan, günlük), sisplatin (1 mg/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal, günlük) ve EGCG+sisplatin ile 21 gün boyunca tedavi edildi.

Kontrol grubu tümörlerinde, zamanla tümör ağırlığında artış ile birlikte tümör biyoluminesans sinyal yoğunluğundaki artış, farelerin kapalı ve açık-kavite tümör biyoluminesans görüntüsü (sırasıyla Şekil 4.39a, b) veya farelerden çıkartılan tümörlerin *ex vivo* biyoluminesans görüntüsü (Şekil 4.39c) ile gösterildi. EGCG+sisplatin tedavi grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığında %30 azalma gözlenmesine rağmen, hem EGCG (4,2 kat) hem de EGCG+sisplatin (1,7 kat) tedavi grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda artış gözlemlendi. Ayrıca, EGCG+sisplatin tedavi grubu, sisplatin tedavi grubuna kıyasla tümör sinyal yoğunluğunun (1,4 kat) ve tümör ağırlığının (1,1 kat) artmasına neden oldu (Çizelge 4.6). Buna ek olarak, EGCG+sisplatin tedavi grubu, EGCG tedavi grubuna kıyasla tümör sinyal yoğunluğunun %59,2 ve tümör ağırlığının %45,4 oranında azalmasına neden oldu. Bu durumda, EGCG+sisplatin tedavi grubunda, özellikle ilgi çeken, tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğunun çoğunlukla sisplatinin etkisi ile azalmış olmasıdır. Bu nedenle, EGCG'nin sisplatinin anti-tümör etkisini arttırmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.40).

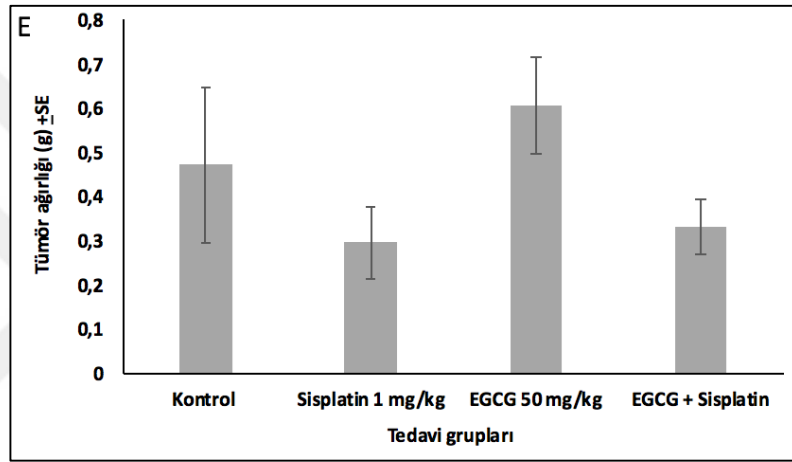
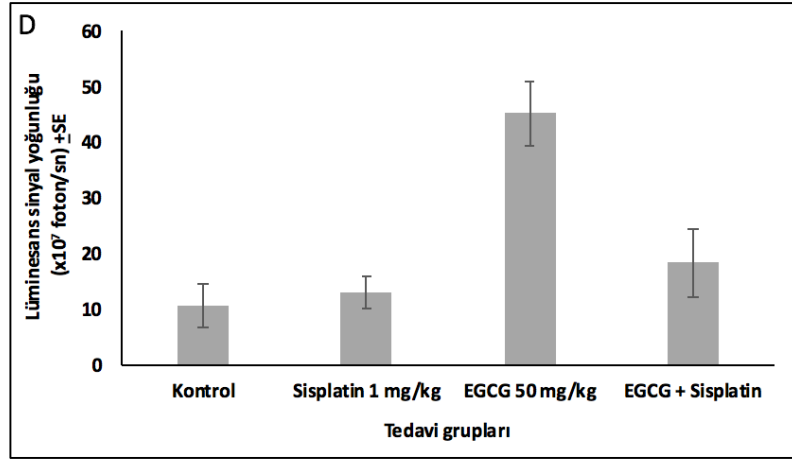
**Çizelge 4.6.** EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin kombinasyon tedavilerinin, immün-yetersiz dişi NCr-Foxn1 nude homozigot farelerde, ortotopik pankreas tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğu üzerine etkileri

Tedavi dozu (mg/kg)	SUI2-luc tümörü ortalama değerleri	
	Tümör ağırlığı (g) $\pm$ SE	Lüminesans sinyal yoğunluğu ( $\times 10^7$ foton/saniye) $\pm$ SE
Kontrol (PBS)	0,47 $\pm$ 0,18	10,7 $\pm$ 3,9
Sisplatin (1mg/kg, i.p., günlük)	0,30 $\pm$ 0,08	13,0 $\pm$ 2,9
EGCG (50 mg/kg, s.c., günlük)	0,61 $\pm$ 0,11	45,2 $\pm$ 5,7
EGCG+sisplatin (günlük)	0,33 $\pm$ 0,06	18,4 $\pm$ 6,1



**Şekil 4.39.** EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör lüminesans görüntüleri üzerine etkileri

a) Ortotopik SU126708-luc pankreas tümörlerinin biyoluminesans yoğunluğunun IVIS görüntüleme sistemi ile görüntülenmesi ve tümörlerde kanser hücre canlılığının tespiti. IVIS görüntüleri, canlılığı tespit eden dikey lüminesans renk barında (sağ kenarda), canlı olmayan-mavi bar ile tamamen canlı olan-kırmızı bar arasında değişmektedir b) Otopsi sırasında farelerin açık-kavite biyoluminesans görüntüleri, *in vivo* tümör büyümesi üzerine EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavisinin etkisini gösterir c) Kontrol grubu, EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavi gruplarından çıkarılmış ortotopik pankreas tümörlerinin biyoluminesans görüntüleri



**Şekil 4.40.** EGCG, sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavilerinin, ortotopik pankreas tümör sinyal yoğunluğu ve tümör ağırlığı üzerine etkileri

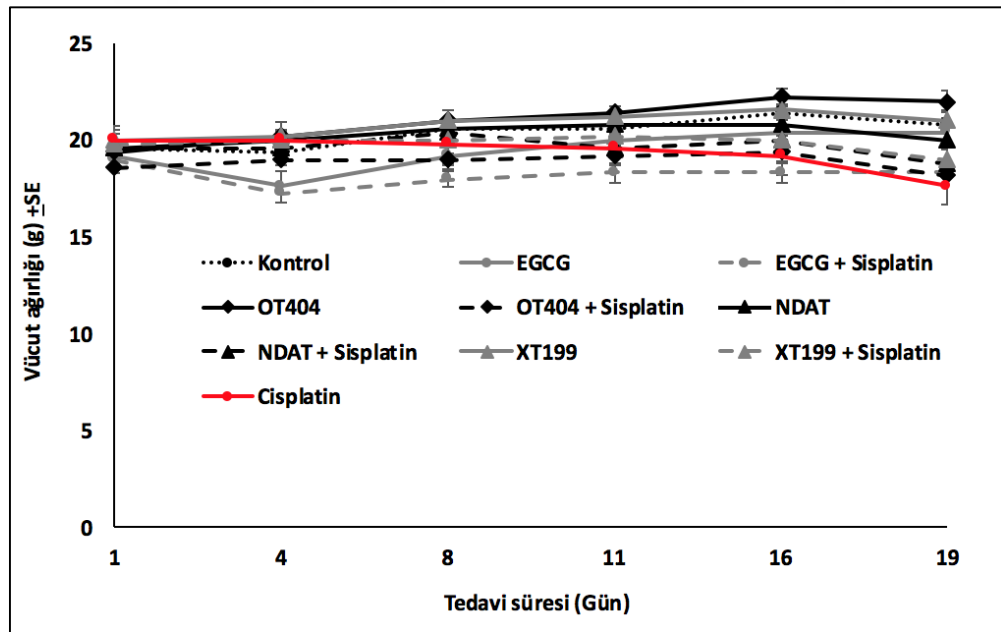
**d)** Ortotopik pankreas tümörlerinin biyolüminesans sinyal yoğunluğu grafiği. EGCG+sisplatin tedavi grubunda SUI2-luc hücrelerinin sinyal yoğunluğunda, tek başına EGCG tedavi grubuna kıyasla azalma görüldü **e)** Tümör ağırlıklarının ölçüm grafiği. Sisplatin ve EGCG+sisplatin tedavi gruplarında kontrol grubuna kıyasla tümör ağırlığında azalma gözlemlendi. Sonuçlar ortalama  $\pm$  SE olarak ifade edildi.



#### 4.2.2. Test bileşiklerinin farelerin vücut ağırlığına etkisi

Hayvanların vücut ağırlığı, tedavi başlangıcında ve tedavi sırasında haftada 2 kere, tedavi uygulanan gruplar arasındaki olası ağırlık farkını saptamak ve genel belirtileri tespit etmek amacıyla ölçüldü. Kontrol grubu/PBS ile tedavi edilen farelerin vücut ağırlığındaki artışta tedavinin başladığı ilk günden tedavinin sonuna kadar istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG ile ön-tedavi uygulanan gruplarda da vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik gözlenmedi.

Kontrol grubunda vücut ağırlığının, test bileşikleriyle ön-tedavi uygulanan tüm sisplatin gruplarına kıyasla daha yüksek olduğu kaydedildi. Ancak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sisplatin ile tedavi edilen farelerin vücut ağırlıklarında 2. haftadan sonra ortaya çıkan düşme eğilimi çalışmanın sonuna kadar devam etti. Ayrıca, test bileşikleriyle ön-tedavi uygulanan sisplatin gruplarında da, tedaviden 2 haftadan sonra kilo kaybına yönelik bir eğilim belirlendi. Bu değişiklik, 21 günlük tedavi sürecinde istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu nedenle, test bileşiklerinin sisplatinin indüklediği kilo kaybına karşı koruyucu bir etkisi olduğu görülmüştür (Şekil 4.41). Sonuçlar ortalama  $\pm$  SE olarak ifade edildi.



Şekil 4.41. Sisplatin ile tedavi edilen farelerde NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG ile ön-tedavi uygulamasının vücut ağırlığına etkisi

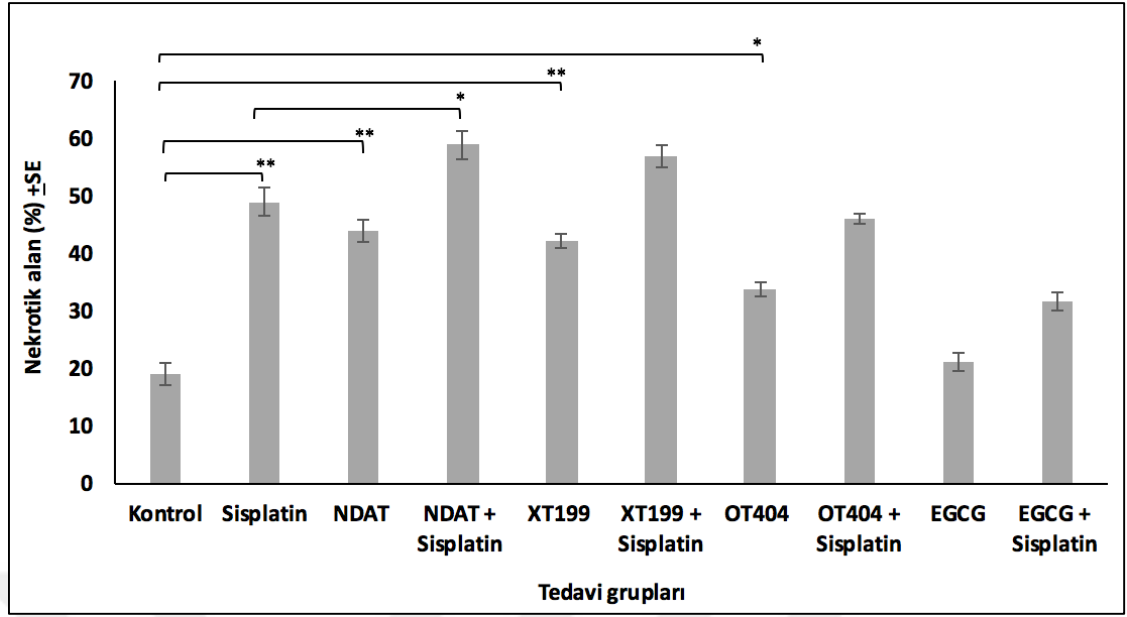
#### **4.2.3. Histopatolojik analiz: NDAT ve XT199'un sislartin ile kombinasyon uygulamasının etkileri**

Tümör biyolüminesans yoğunlukları ve tümör ağırlıkları arasındaki uyumsuzlukları gidermek ve farklı özellikler ile ilgili mekanizmaları araştırmak için, tüm tedavi gruplarının SUI2-luc pankreas tümörlerinin histopatolojik analizleri yapıldı. Histopatoloji sonuçları, herhangi bir tedavi uygulanmamış farelerin (kontrol grubu), ileri evre pankreas kanseri için yaygın olan yüksek dereceli (anaplastik) özelliklere sahip olduğunu gösterdi.

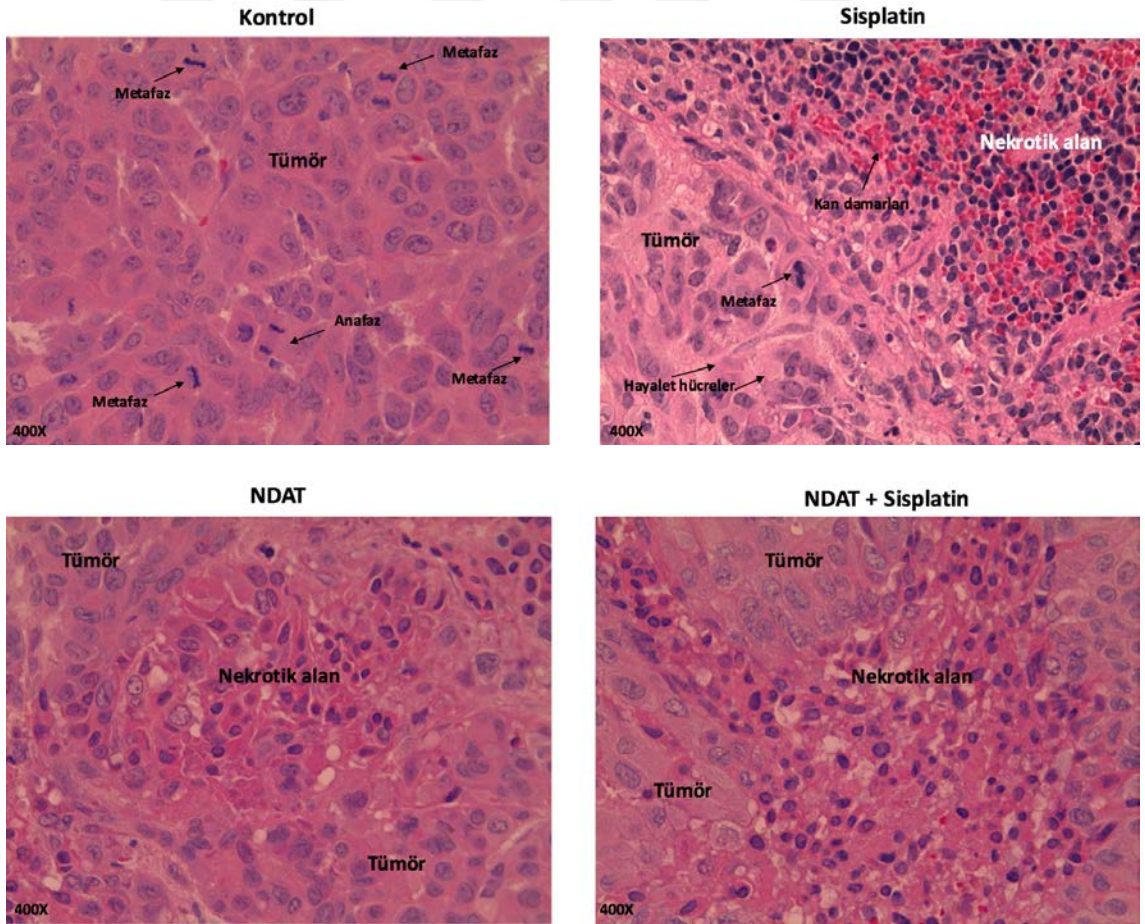
Histopatolojik analiz sonuçlarına göre, sislartin ile tedavi edilen ortotopik SUI2-luc pankreas tümörleri, kontrol grubu tümörlerine kıyasla nekrotik alanlarda istatistiksel olarak anlamlı artış göstermektedir (\*\*p<0.01). NDAT, XT199 ve OT-404, kontrole kıyasla nekrotik alanlarda belirgin artışa (\*p<0.05, \*\*p<0.01) neden olurken, EGCG'nin kontrole kıyasla nekrotik alanlarda belirgin artışa neden olmadığı gözlemlendi.

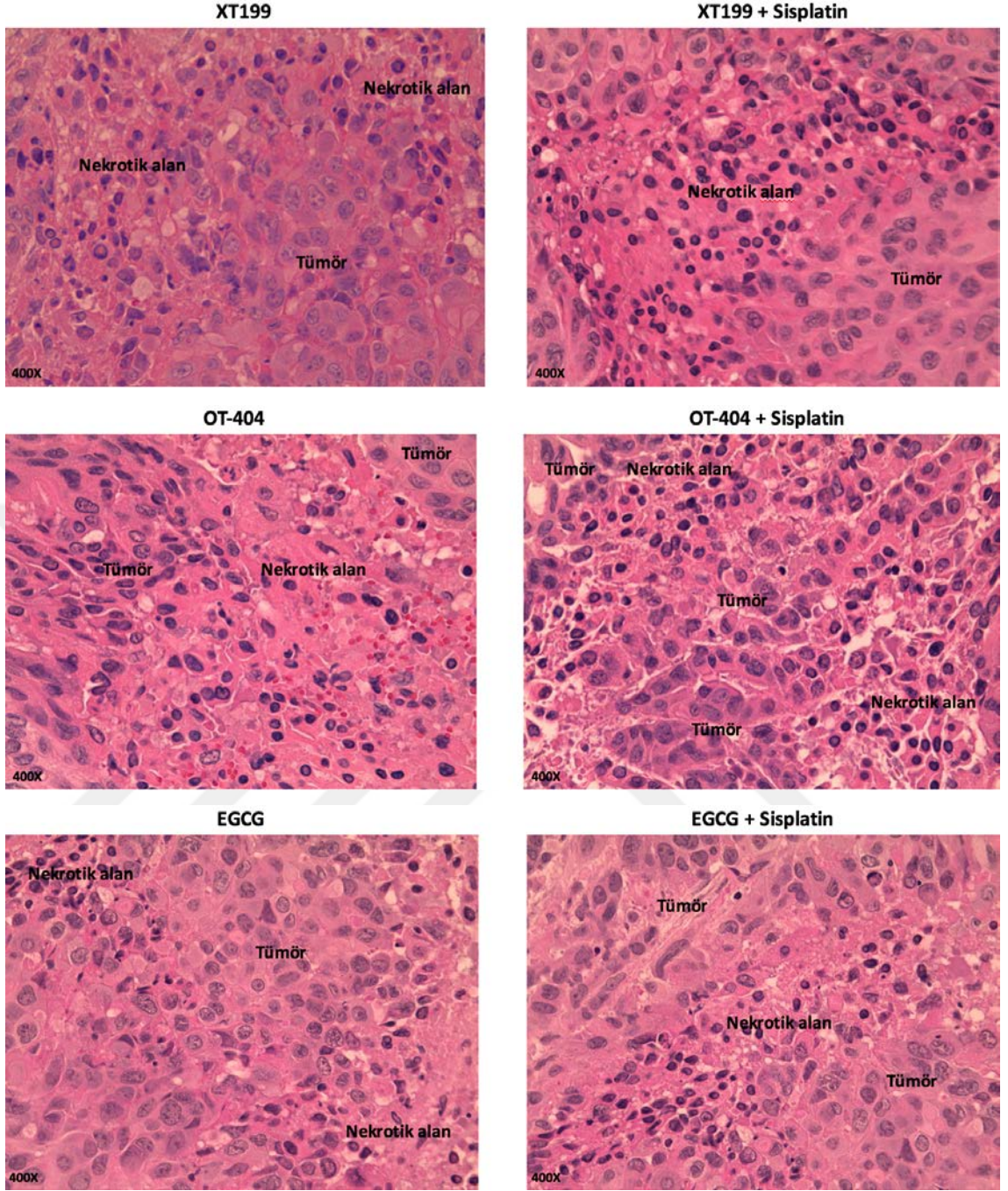
NDAT+sislartin (\*p<0.05) ve XT199+sislartin ile tedavi edilen tümörler, sislartine kıyasla daha geniş nekroz bölgelerine sahip iken, OT-404+sislartin ile indüklenen nekroz, sislartin ile indüklenen nekrozla benzer seviyededir. Bu durum, NDAT ve XT199 bileşiklerinin, pankreas tümörlerinde sislartinin kemoterapi direncini azalttığını doğrular niteliktedir. EGCG+sislartin ile tedavi edilen tümörler sislartine kıyasla daha az nekrotik bölgeye sahiptir (Şekil 4.42).

Nekrotik alanlar, erken evre (fragmente ve küçük nükleus) ve geç evre (nükleus içermeyen hayalet hücreler) de gözlemlenmektedir, bu da sislartinin hücre ölümünün erken ve geç evreleri üzerinde etkili olduğunu gösterir (Şekil 4.43).



**Şekil 4.42.** NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG'nin tek başına veya sisplatin ile kombinasyon tedavisinin SUI2-luc pankreas tümör nekrozu üzerinde etkisi  
 ➤ Sonuçlar ortalama  $\pm$  SE olarak ifade edildi (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.01$ ).





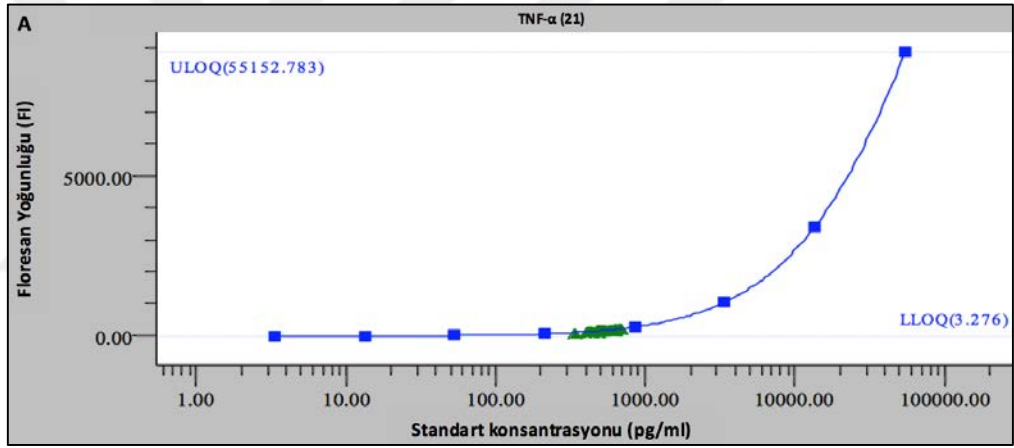
**Şekil 4.43.** NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG'nin tek başına veya sisplatin ile kombinasyon tedavisinin SUI2-luc pankreas tümör nekrozu üzerinde etkisinin histopatolojik analiz sonuçları

- Ortotopik pankreas tümörlerinin hemotoksilen ve eozin ile boyanmış histolojik bölümlerinin temsili mikrografileri, tedavi edilmemiş tümör (canlı hücreler ve büyük nükleusa sahip) ile karşılaştırıldığında; NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG bileşikleriyle tedavi sonrasında nekrotik alanların artışı göstermektedir.

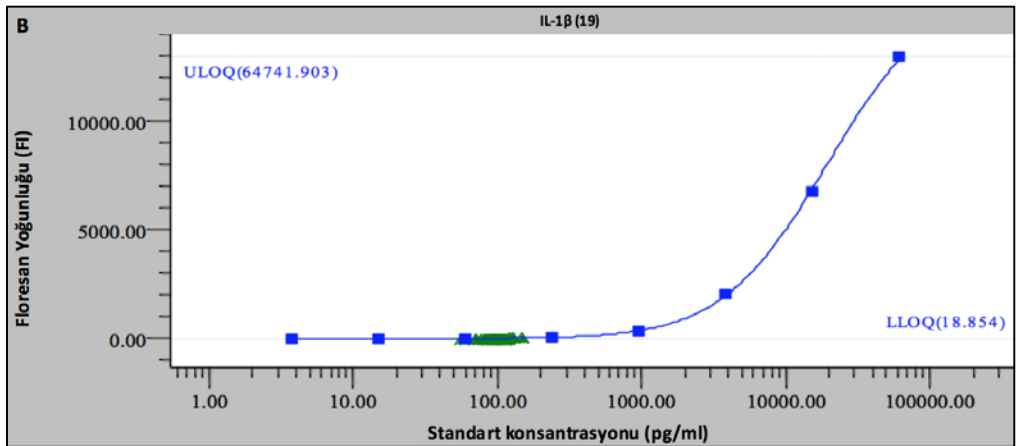
#### 4.2.4. Sitokin yöntemi bulguları

##### 4.2.4.1. Sitokinlerin standart eğrileri

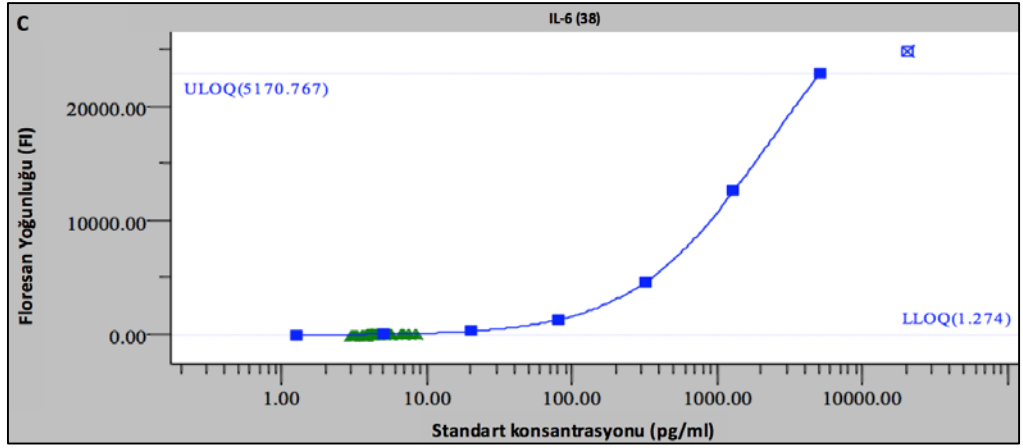
Tedavinin sonunda nöropatik ağrı ile ilişkili sitokinlerin; (A) TNF- $\alpha$  (Şekil 4.44) (B) IL-1 $\beta$  (Şekil 4.45) (C) IL-6 (Şekil 4.46) (D) IL-10 (Şekil 4.47) (E) IL-17 (Şekil 4.48) (F) IFN- $\gamma$  (Şekil 4.49) fare plazma örneklerinde ekspresyonlarının analiz edilebilmesi amacıyla, sitokin standart konsantrasyonlarının ortalama floresan yoğunlukları Bio-Plex Mouse Cytokine Group 1, 6-plex express assay kiti protokolü uygulanarak, Bio-Plex® 200 sisteminde analiz edildi. Sitokinlerin standart eğri grafikleri, Xenogen IVIS® Living Image yazılımı versiyonu 4.5 ile hesaplandı. Grafikler üzerinde yeşil noktalar ile gösterildiği gibi, analitlerin konsantrasyonları sistemin çalışma aralığı içerisinde yer almaktadır.



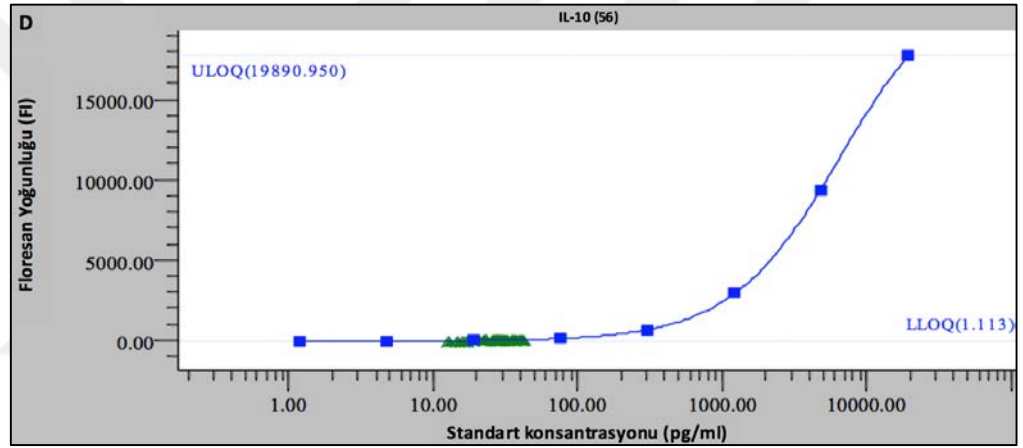
Şekil 4.44. TNF- $\alpha$  standart eğri grafiği



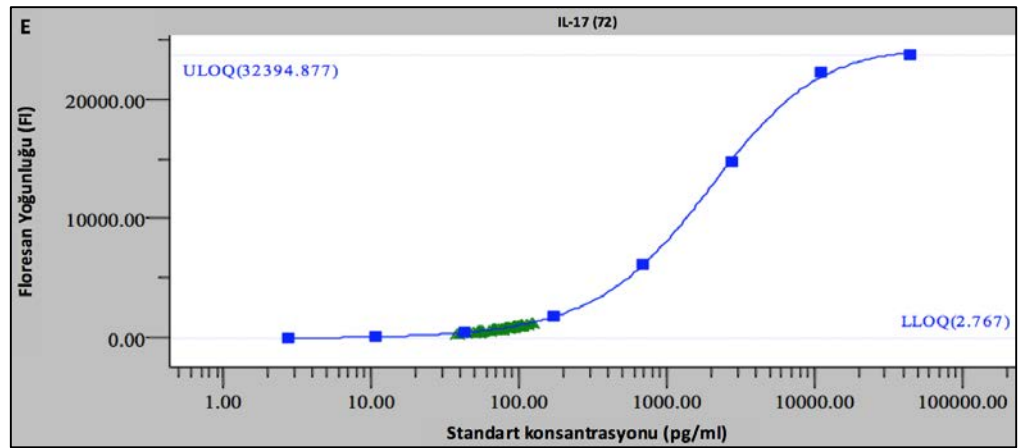
Şekil 4.45. IL-1 $\beta$  standart eğri grafiği



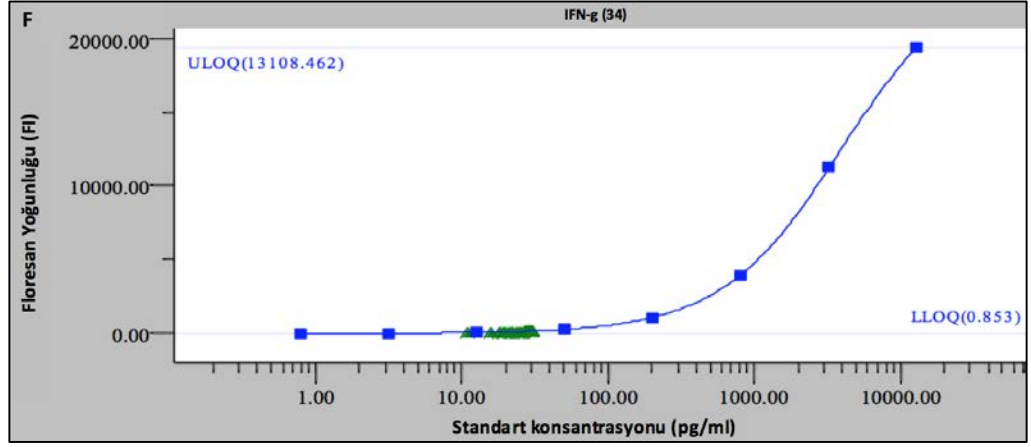
Şekil 4.46. IL-6 standart eğri grafiği



Şekil 4.47. IL-10 standart eğri grafiği



Şekil 4.48. IL-17 standart eğri grafiği

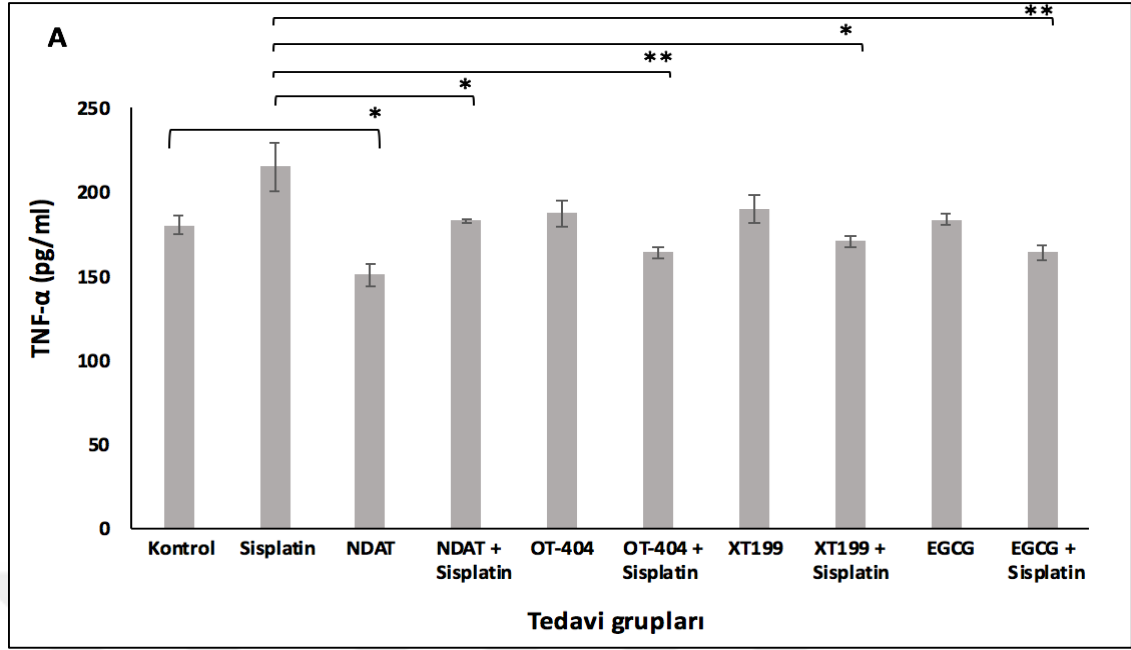


Şekil 4.49. IFN- $\gamma$  standart eğri grafiği

#### 4.2.4.2. "Kontrol (PBS), NDAT, NDAT + Sisplatin, OT-404, OT-404 + Sisplatin, XT199, XT199 + Sisplatin, EGCG ve EGCG + Sisplatin" ile tedavi edilen farelerde plazma sitokin seviyelerinin analizi

##### 4.2.4.2.1. Sisplatin'in TNF- $\alpha$ seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

Sisplatin grubu, kontrol grubuna göre TNF- $\alpha$  seviyesinde artış gösterdi. Test bileşikleri kontrol ile karşılaştırıldığında, NDAT dışındaki diğer tüm bileşiklerin (OT-404, XT199 ve EGCG) TNF- $\alpha$  seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. NDAT, kontrole göre TNF- $\alpha$  seviyesini önemli ölçüde azalttı. Tüm kombinasyonel tedaviler, sisplatinin TNF- $\alpha$  seviyesini arttırıcı etkisini önemli ölçüde azalttı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.50).



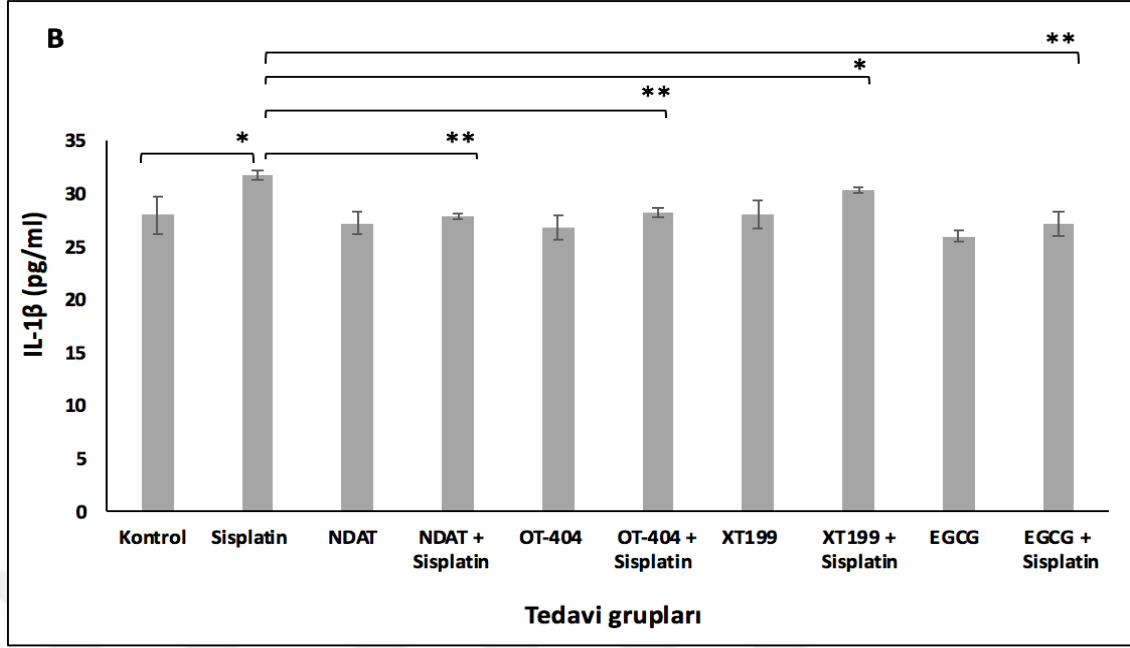
**Şekil 4.50.** Farklı tedavi grupları için ortalama TNF- $\alpha$  plazma konsantrasyonu değişiklikleri

- NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.4.2.2. Sisplatin'in IL-1 $\beta$ seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

Sisplatin grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-1 $\beta$  seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı gözlemlendi. Test bileşiklerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-1 $\beta$  seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. Tüm kombinasyonel tedaviler, sisplatinin IL-1 $\beta$  seviyesini arttırıcı etkisini önemli ölçüde azalttı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.51).



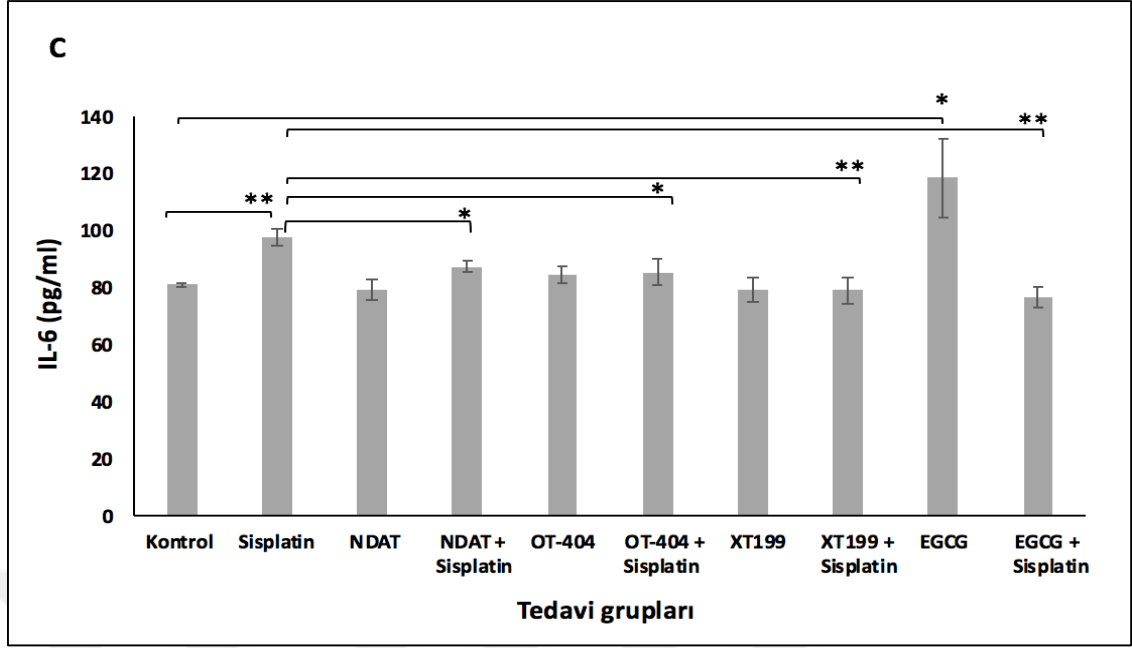


**Şekil 4.51.** Farklı tedavi grupları için ortalama IL-1 $\beta$  plazma konsantrasyonu değişiklikleri

- NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.4.2.3. Sisplatin'in IL-6 seviyesini arttırıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

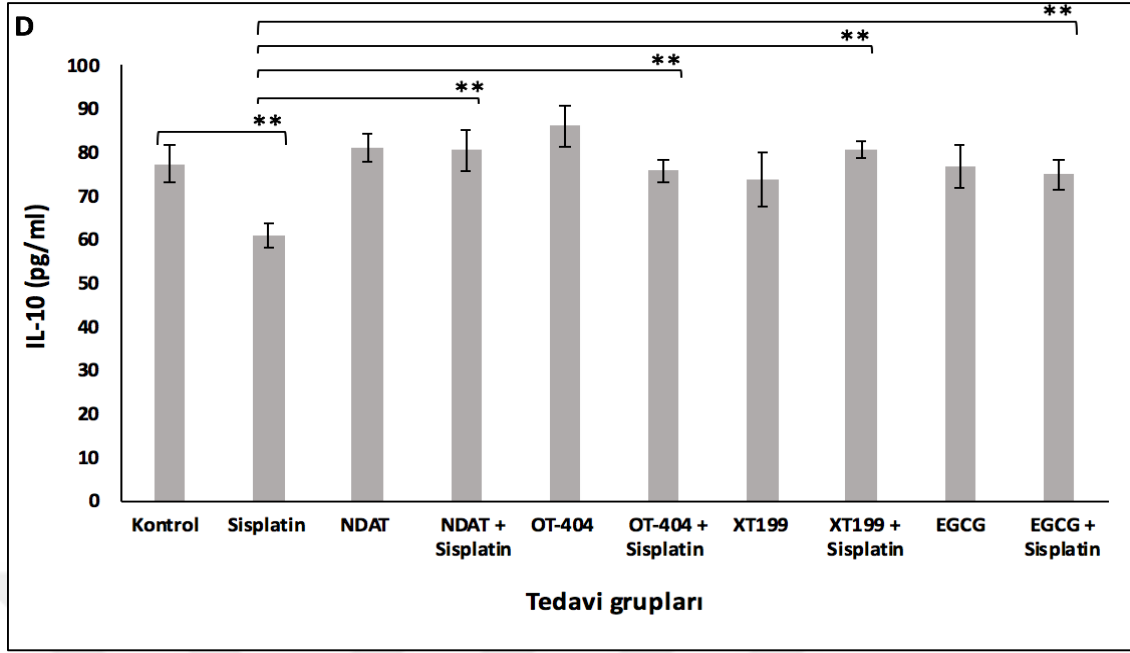
Sisplatin grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-6 seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı gözlemlendi. Test bileşiklerinin (NDAT, XT199 ve OT-404), kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-6 seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. Tüm kombinasyonel tedaviler, sisplatinin IL-6 seviyesini arttırıcı etkisini önemli ölçüde azalttı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.52).



**Şekil 4.52.** Farklı tedavi grupları için ortalama IL-6 plazma konsantrasyonu değişiklikleri  
 ➤ NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi. Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.4.2.4. Sisplatin'in IL-10 seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

Sisplatin grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-10 seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı gözlemlendi. Test bileşiklerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-10 seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. Tüm kombinasyonel tedaviler, sisplatinin IL-10 seviyesini azaltıcı etkisini önemli ölçüde arttırdı (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.53).

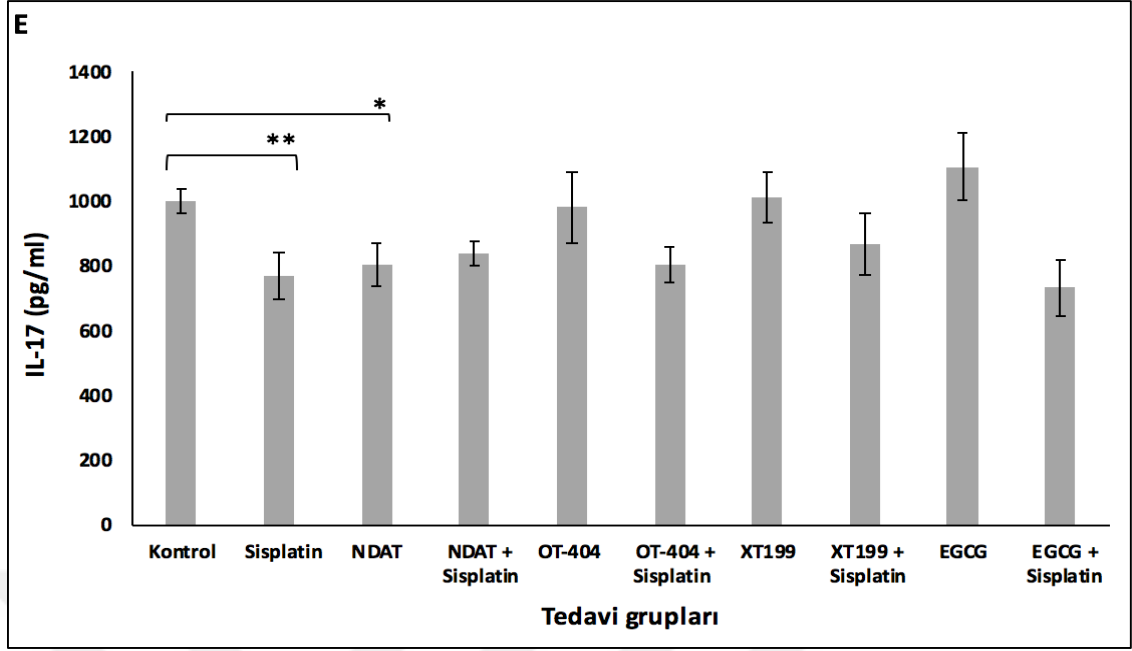


**Şekil 4.53.** Farklı tedavi grupları için ortalama IL-10 plazma konsantrasyonu değişiklikleri

- NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.4.2.5. Sisplatin'in IL-17 seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

Sisplatin grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IL-17 seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı gözlemlendi. NDAT dışındaki diğer tüm bileşiklerin (OT-404, XT199 ve EGCG) kontrole göre IL-17 seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. NDAT, kontrole göre IL-17 seviyesini önemli ölçüde azalttı. Tüm kombinasyonel tedavilerin IL-17 seviyesi üzerine etkisi, sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında benzerdir (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.54).

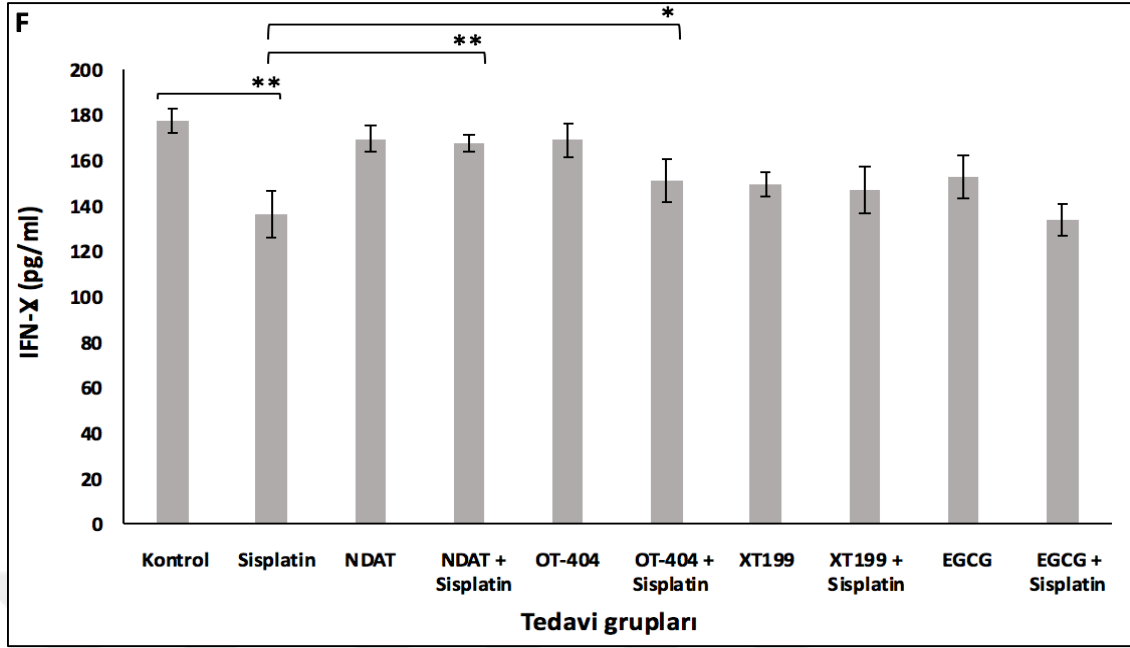


**Şekil 4.54.** Farklı tedavi grupları için ortalama IL-17 plazma konsantrasyonu değişiklikleri

- NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

#### 4.2.4.2.6. Sisplatin'in IFN- $\gamma$ seviyesini azaltıcı etkisi üzerine tüm test bileşiklerinin etkisi

Sisplatin grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı gözlemlendi. Test bileşiklerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  seviyesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde etkilerinin olmadığı gözlemlendi. NDAT ve OT-404'un sisplatin ile kombinasyon tedavisi, sisplatin'in IFN- $\gamma$  seviyesi üzerindeki azaltıcı etkisini arttırdı. Buna karşılık, XT199 ve EGCG'nin sisplatin ile kombinasyon tedavisinin IFN- $\gamma$  seviyesi üzerine etkisi, sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında benzerdir (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ) (Şekil 4.55).



**Şekil 4.55.** Farklı tedavi grupları için ortalama IFN- $\gamma$  plazma konsantrasyonu değişiklikleri

- NDAT (3 mg/kg), OT-404 (30 mg/kg), XT199 (3 mg/kg) ve EGCG (50 mg/kg) ile ön-tedavi uygulanması sonrası sisplatin (1 mg/kg) ile tedavi edildi.
- Değerler ortalama standart hata  $\pm$  SE olarak ifade edildi.

Analiz edilen nöropati ile ilişkili sitokinler: (A) TNF- $\alpha$  (B) IL-1 $\beta$  (C) IL-6 (D) IL-10 (E) IL-17 (F) IFN- $\gamma$ . Sisplatin ile kombine uygulanan test bileşiklerinin (NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG), nöropati ile ilişkili sitokinlerin seviyeleri üzerine etkisi özet halinde Çizelge 4.7'de gösterildi.

**Çizelge 4.7.** Sisplatin ile kombine uygulanan test bileşiklerinin (NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG), nöropati ile ilişkili sitokin seviyeleri üzerine etkisi

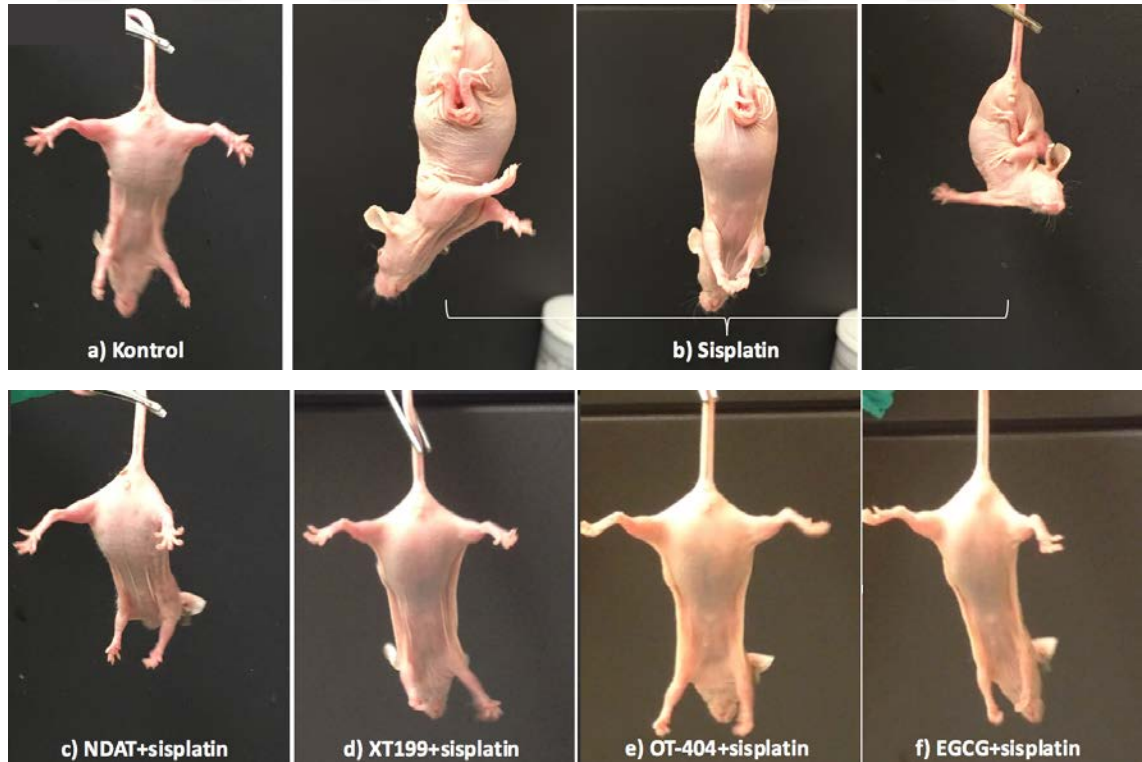
	Sitokinler	Sisplatin	Sisplatin ile kombine test bileşikleri			
			NDAT	OT-404	XT199	EGCG
Pro-inflamatuar	TNF- $\alpha$	artırır	azalır	azalır	azalır	azalır
Pro-inflamatuar	IL-1 $\beta$	artırır	azalır	azalır	azalır	azalır
Pro-inflamatuar	IL-17	azalır	etkilemez	etkilemez	etkilemez	etkilemez
Pro-inflamatuar	IL-6	artırır	azalır	azalır	azalır	azalır
Pro-inflamatuar	IFN- $\gamma$	azalır	arttırır	arttırır	etkilemez	etkilemez
Anti-inflamatuar	IL-10	azalır	arttırır	arttırır	arttırır	arttırır

#### 4.2.5. Davranışsal değerlendirme: NF-κB inhibisyonunun sisplatinin indüklediği nöropati üzerine koruyucu etkisi

Motor ve duyuusal motor nöropatisi tipik olarak organ veya dokudan sinirsel bağlantıların kesilmesine bağlı gelişen kas zayıflığı ve atrofidir (küçülme). Normalde fareler kuyruklarından tutulduklarında arka ayakları ile kaçış davranışı gösterirler. Sisplatin ile tedavi edilen farelerde bu davranış gözlenmemektedir ve arka bacaklarda gevşeklik, kol ve bacakların kesişmesi şeklinde kendini göstermektedir (Şekil 4.56).

Periferik nöropatinin motor belirtileri için postüral değerlendirme, farelerin kuyruklarından tutularak arka ayakların çaprazlaşması ile görülen, sisplatin ile indüklenen kas güçsüzlüğünü ortaya çıkarmıştır. Bu durum, sisplatinin neden olduğu eldiven-çorap tarzı nöropatinin bir göstergesidir.

Çalışmamızda, farelerin arka ve ön ayakların duruş davranışı hergün tedavi öncesi gözlemlendi. Kontrol grubu ve test bileşikleri ile ön-tedavi sonrası sisplatin uygulanmış tedavi gruplarının normal motor davranışlar sergilediği gözlemlendi. Bu durum, test bileşiklerinin sinir yapısını koruyarak işlevsel bütünlüğü koruyabileceğine kanıt sağlar.



Şekil 4.56. Sisplatin ile veya sisplatin olmadan 21 günlük tedavide arka ayakların duruşu

- a) Kontrol grubu fare, kuyruğundan kaldırıldığında arka bacakları ile normal kaçış davranışı gösterir
- b) Sisplatin grubu fareler, 8. günde başlayan ve kas güçsüzlüğünün ve motor bozuklukların belirtisi olarak arka ayaklarını çapraz pozisyonda vücuduna yakın tutar. Tedavi süresi ilerledikçe, ön ekstremitelerde de duruş bozukluğu görüldü
- c) NDAT, d) XT199, e) OT-404 ve f) EGCG test bileşikleriyle ön-tedavi sonrası sisplatin tedavisi, 21 günlük çalışmada arka ve ön ekstremitelerde duruş davranışı bozukluğu göstermedi.



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda kanser tedavisinde integrin antagonistleri ve antioksidanların anti-kanser ilaçlar olarak araştırılması kanseri tedavi etmeye yönelik yeni bir yaklaşımdır. Bu tez çalışmasında, integrin antagonistleri (NDAT ve XT199), antioksidan (EGCG) ve NF- $\kappa$ B/ROS inhibitörü (OT-404)'nün tek başına ve/veya sisplatin ile kombine halde kullanımının ortotopik pankreas kanseri fare tümör modeli üzerine anti-inflamatuar ve anti-tümör etkinliği test edilmiştir. Bu amaçla ilk olarak *in vitro* çalışmalar yapılarak, I) integrin antagonistleri (NDAT ve XT199), antioksidanlar (EGCG ve OT-404) ve NF- $\kappa$ B inhibitörü (QNZ EVP4593)'nün HeLa hücrelerinde sisplatin ve/veya gemsitabinin indüklediği NF- $\kappa$ B/ROS aktivitesi üzerine anti-inflamatuar etkileri, II) integrin antagonistleri (NDAT ve XT199), antioksidanlar (EGCG ve OT-404) ve NF- $\kappa$ B inhibitörü (QNZ EVP4593)'nün THP1 hücrelerinde LPS (Lipopolisakkarit)'in indüklediği NF- $\kappa$ B/ROS aktivitesi üzerine anti-inflamatuar etkileri lusiferaz yöntemi ile belirlenmiştir.

Sisplatin nörotoksisitesi ile ilişkilendirilen ROS-aracılı NF- $\kappa$ B sinyal yolu ile sisplatinin, oksidatif stresi ve inflammatuar yanıtı indüklediği bilinmektedir (Chtourou ve ark. 2015, Sharawy ve ark. 2015). Yeni sentez ilaç adayı NDAT ve/veya DAT'ın meme, kolon, gliyom, akciğer kanseri hücre hatlarında anti-proliferatif ve pro-apoptotik etkinliği değerlendirilmiştir (Davis ve ark. 2006, Lin ve ark. 2007, 2009, 2011, 2016, Meng ve ark. 2011, Rebbaa ve ark. 2008). *In vitro* ve xenograft çalışmalarında; böbrek, folliküler tiroid kanseri, medüller tiroid kanseri, akciğer, pankreas, meme, mesane ve gliyom/glioblastoma (T.Sudha, yayınlanmamış gözlem) kanser hücre hatlarında NDAT ve/veya DAT'ın anti-tümör ve anti-anjiyogenik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Glinskii ve ark. 2009, Yalcin ve ark. 2009, 2010a, b, 2013, Mousa ve ark. 2008, 2012, 2014, Bharali ve ark. 2013, Davis ve ark. 2014, Sudha ve ark. 2016, Sudha ve ark. 2017a, b).

XT199'un etkili bir anti-anjiyogenik ajan olduğu CAM modelinde gösterilmiş (Mousa ve ark. 2006, Bridoux ve ark. 2011) ve bu etki CAM üzerine transplante edilmiş çeşitli insan tümör hücresi xenograflarının hızlı regresyonu ile ilişkili bulunmuştur (Brooks ve ark. 1994a).



NF- $\kappa$ B aktivasyonu yalnızca nöronlar, olgun B ve T hücreleri ile bağlantılı monosit/makrofajlar, kanser hücreleri ve HeLa gibi bazı hücrelerde belirlenmiştir (Kaltschmidt ve ark 1999). HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu QNZ EVP4593 %42,4 ve DAT %27 oranında indirgerken NDAT'ın ise %66,8 oranında downregüle ettiği belirlenmiştir. Aynı zamanda, NDAT'ın, HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu (%41,9), QNZ EVP4593 (%24,5) ve DAT'a (%30,1) kıyasla daha fazla downregüle ettiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile ilk kez, kanser hücrelerinde sisplatin ve gemsitabin ile indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonu üzerine, integrin antagonistleri (NDAT ve XT199) ile ön-tedavinin anti-inflamatuar etkinliği arttırdığı *in vitro* olarak gösterilmiştir.

Monositler, makrofajlar ve inflamatuvar Th17 hücrelerinin integrin  $\alpha\beta 3$  ekprese ettiği bilinmektedir (Du ve ark. 2016). THP1 monosit ve makrofajlarında inflamasyonla ilişkili NF- $\kappa$ B genlerinin indüklemesinde LPS'in stimulan etkisi bilinmektedir (Chanput ve ark. 2010). Monositik lösemi hücre hattı THP1 hücrelerinde, LPS ile indüklenen NF- $\kappa$ B'nin downregülasyonu üzerine, QNZ EVP4593 (%41,5) ve  $\alpha\beta 3$  integrin reseptör inhibitörlerinden NDAT'ın anti-inflamatuar etkinliği DAT'a (%17) kıyasla daha fazladır (%50,6). Bu çalışma sonuçları, integrin antagonistleri NDAT ve XT199 ile ön-tedavi uygulamasının, monositik lösemi hücresinde LPS tarafından indüklenen NF- $\kappa$ B aktivasyonunu downregüle ederek anti-inflamatuar etkinliğe sahip olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Kemoterapi ilacının toksisitesinin tanınması, ilacın kesilmesi veya doz ayarlamasına bağlı gelişebilecek nörolojik hasarları önlemek açısından oldukça önemlidir. Literatürde, gemsitabin nörotoksitesi ile ilgili olarak, tedavi ile ilişkili semptomların kanser progresyonundan mı yoksa sinir sistemi tutulumundan mı meydana geldiğini ayırt etmeye yardımcı olacak pek fazla bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle, *in vivo* çalışmalar da, sisplatin kaynaklı gelişen nöropati üzerine NDAT ve XT199'un anti-inflamatuar etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İntegrin antagonistleri NDAT ve XT199'un tek başına ve/veya sisplatin ile kombine halde pankreas kanseri üzerine anti-tümör etkileri, ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde, *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS) ve histopatolojik değerlendirme ile belirlenmiştir.

Ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde NDAT ve XT199, kontrol ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda ve tümör ağırlığında azalma gözlenmiştir. Pankreas kanseri hücresi (SUIT2-luc) ortotopik xenograflarında sisplatin (%37,4), NDAT (%51,3) ve NDAT+sisplatin (%68,9) tedavi gruplarında, kontrol grubuna kıyasla tümör ağırlığında azalma gözlenmiştir. XT199 ve XT199+sisplatin tedavi grubunda, kontrol grubuna göre tümör ağırlığındaki azalma sırasıyla %37 ve %73 bulunmuştur. NDAT (%27) ve NDAT+sisplatin (%60,2) tedavi gruplarında, kontrol grubuna kıyasla tümör sinyal yoğunluğunda azalma gözlenmiştir. XT199 ve XT199+sisplatin tedavi grubunda, kontrol grubuna göre tümör sinyal yoğunluğunda azalma sırasıyla %8,1 ve %58,3 bulunmuştur. Tümör yanıtında en önemli gelişme sisplatin ile karşılaştırıldığında NDAT+sisplatin ve XT199+sisplatin de gözlenmiştir. NDAT ve/veya XT199+sisplatin kombinasyon tedavisi ile, sisplatine kıyasla daha fazla tümör küçülmesi görülsede, en doğru sonuca tümör hücre canlılığındaki azalmanın (biyoluminesans sinyal yoğunluğunda azalma) IVIS ile ölçülmesi sonucu varılmıştır. IVIS, bu çalışmada ortotopik tümörlerin içindeki hücrelerin canlılığını kaybettiğinin doğrulanmasını sağlamıştır.

Yalcin ve ark. (2013), tetrac ve nano-tetrac (NDAT), integrin  $\alpha\beta3$ 'ün ekstraselüler domain üzerinde spesifik hücre yüzey reseptörünü hedefleyerek, insan pankreas kanseri hücre (PANC-1 ve MPanc96) xenograflarının büyümesini ve tümör angiogenezini inhibe ettiğini göstermiştir. Sudha ve ark. (2016), paklitaksel yüklenmiş PLGA nanopartiküller, NDAT ve paklitaksel yüklenmiş NDAT'in pankreas kanseri hücre (SUIT-2), xenograflarında tümör ağırlığında azalmaya neden olduğu göstermiştir. Tümör ağırlığında en fazla azalma (%60) ve tümörde paklitaksel konsantrasyonunda 5 kat artış NDAT/paklitaksel de gözlenmiştir.

Rebbaa ve ark. (2008) tarafından tetrac'ın; nöroblastom, osteosarkom ve meme kanserinden türetilmiş dirençli tümör hücre hatlarında doksorubisin, etoposid, sisplatin ve trikostatın A'ya hücreyel yanıtı arttırdığı (ilaç direncini azalttığı) *in vitro* olarak gösterilmiştir. Tetrac'ın etki mekanizması, klasik ilaç direnç genlerinin ekspresyonunu içermemektedir. Bununla birlikte, tetrac tarafından hücrelere radyoaktif işaretlenmiş doksorubisin alımının artması, hücrelerin kemoterapötik ajanlar için bir veya birkaç export (dışa atım) mekanizmasının engellendiğini düşündürmektedir. Tetrac'ın

yaşlanmaya ve apoptoza karşı hücrel yatkınlığının artması bu ajanın çoklu ilaç direnç mekanizmalarını hedef alabileceğini düşündürmektedir. *In vivo* çalışmalar ise, tetrac'ın doksorubisine-dirençli meme tümörü büyümesini baskılayıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Rebbaa ve ark. 2008).

*In vivo* çalışmada, sisplatin ile tedavi edilen farelerde kontrole kıyasla tümör ağırlığında %37.4 inhibisyon görülürken, tümör sinyal yoğunluğunun kontrolden ~%20 daha yüksek olduğunu görmek oldukça ilginçtir. Bu konuyla ilgili olası bir açıklama, SUI2-luc pankreas kanseri hücrelerinin sisplatin tedavisine karşı direnç göstermesi şeklinde olabilmektedir. Tüm veriler birlikte ele alındığında bu durum, NDAT ve XT199 ön-tedavisinin, ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde, pankreas kanseri hücrelerinin sisplatine duyarlılaşmasına neden olması sonucu, sisplatinin anti-tümör etkinliğinin artması şeklinde açıklanabilmektedir. Bu nedenle, ilk kez, pankreas kanserinde integrin antagonistleri NDAT ve XT199'un sisplatin ile kombine tedavisinin, sisplatine dirençli tümör gelişiminin baskılanmasında, her ajanın tek başına kullanımına göre daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile, NDAT ve XT199'un, sisplatin ile sinerjistik etki oluşturarak, pankreas kanserinin tekrar nüks etmesinin bir nedeni olarak bilinen sisplatin direncini baskılayıp ve sisplatinin anti-kanser etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir. Böylece, NDAT ve XT199'un SUI2-luc pankreas kanseri hücreleri üzerine anti-tümör etkisi kanıtlanmıştır. NDAT ve XT199 pankreas kanseri tedavisinde etkili birer kemoterapötik ilaç adayı olarak değerlendirilebilir.

Literatür çalışmaları, SUI-2 hücrelerinin, diğer pankreas kanseri hücre hatlarına kıyasla kemoterapiye daha dirençli olduğunu göstermektedir. İlaç direncinin (hem içsel hem de kazanılmış), çoğu pankreas kanseri tedavisinin yararını sınırlayan önemli bir neden olduğu düşünülmektedir. Pankreas kanserinde ilaç direncine; anormal gen ekspresyonu, genetik mutasyonlar, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu veya inhibisyonu, sinyal iletim yolundaki farklı düzenlemeler (NF-κB, Akt ve apoptoz sinyal yolları), epitelyal-mezenkimal transisyon (EMT), tümör mikro-çevrenin etkisi ve stroma hücrelerin, dirençli hücrelerin ve kanser kök hücrelerin varlığı da dahil olmak üzere çeşitli mekanizmaların neden olduğu bilinmektedir (Long ve ark. 2011). Farklı pankreas kanseri hücrelerinde sisplatin direncinin multifaktoriyel olduğu ve ilaç taşıma, ilaç inaktivasyonu, DNA hasar yanıtı, DNA onarımı ve apoptozun düzenlenmesine yönelik mekanizmalarla

ilişkili olduğu bilinmektedir (Mezencev ve ark. 2016).

Miller ve ark. (1996), pankreas duktal adenokarsinom olarak adlandırılan pankreas kanalı kanserinde içsel ilaç direncinin, çoklu ilaç direnç proteini (MRP)'nin varlığına bağlı olabileceğini göstermiştir. Noma ve ark. (2008), MRP'lerin ekspresyon profilini incelemiş ve insan pankreas kanserinde çoklu ilaç direnci ile ilişkili protein (MRP2) ekspresyonu ve sisplatin (CDDP) direnci arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir. Pankreas kanseri dokularında sadece MRP2 mRNA'nın eksprese edildiğini ve normal pankreas dokularına kıyasla aşırı eksprese edildiğini bulmuşlardır. Bu nedenle, CDDP dirençli pankreas kanseri hücre hattı SUIT-2 varyantları, CDDP ile anti-MRP2 antikoru veya MRP2 inhibitörü MK-571 varlığında inkübe edilmiştir. Sonuç olarak, MRP2 mRNA ekspresyonunun indüksiyonunun, parental hücrelere kıyasla CDDP-dirençli kanser hücrelerinde arttığı gözlenmiştir.

Cui ve ark. (2012), pankreas kanserinin spesifik gen profillerinin, kemoterapi duyarlılığı ile ilişkili olduğunu *in vitro* araştırmışlardır. Pankreas kanseri hücre hatlarının çoğu sisplatin tedavisine duyarsızdır. DPC4/SMAD4 (yüksek frekanslı pankreas kanseri sürücü genler) inaktivasyonunun, pankreas kanseri hücrelerini sisplatine duyarlı hale getirdiğini bulmuşlardır. Aslında, SUIT-2 hücreleri DPC4/SMAD4 geninde mutasyon içermez ve bu nedenle sisplatine duyarsızdır (Moore ve ark. 2001).

Muralidharan-Chari ve ark. (2016), kemoterapötik ilaca maruziyetin, pankreas kanseri hücrelerinin (SUIT-2, MiaPaCa-2, L36pl ve BxPc3) mikrovezikül (MVs-microvesicles) salınımını tetiklediğini göstermiştir. MV'lerin, hem insan pankreas kanseri hücrelerinden hem de mikro-ortamlarından kemoterapötik ilaçların uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığı ve böylece insan pankreas kanseri hücrelerinde ilaç direncine katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Pankreas kanserinde kemoterapiye karşı direnç büyük ölçüde, kemoterapötik ilaçlarla yapısal olarak aktive edilen NF- $\kappa$ B sinyal yolu ile ilişkili bulunmuştur (Long ve ark. 2011). NF- $\kappa$ B sinyal yolu pankreatik kanser gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. Pankreas kanseri hücrelerinde artmış sitokin düzeyleri büyük olasılıkla NF- $\kappa$ B sinyal yolunun aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Prahbu ve ark. 2014). Son zamanlarda yapılmış çalışmalar, sitokin ekspresyonunun disregülasyonunda ilaç direnç

mekanizmalarının önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (Jones ve ark. 2016).

Pankreas kanserli hastaların, sağlıklı kontrollere kıyasla sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- $\alpha$ ) seviyeleri yüksektir (Blogowski ve ark. 2014, Yu ve Kim 2014). Bu nedenle bu sitokinler, insanlardaki pankreas kanseri gelişiminde ve ilerlemesinde yeni aday belirteçler/markler olarak tanımlanmaktadır. Bu amaçla, integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199) ve antioksidanların (EGCG ve OT-404) tek başına ve sisplatin ile kombine halde kullanımının, nöropatik ağrı patogenezinde yer alan NF- $\kappa$ B ile ilişkili sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-17, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ ) ekspresyon seviyeleri üzerine anti-inflamatuar etkileri, ortotopik pankreas tümörlü farelerin plazma örneklerinden, Bio-Plex sitokin yöntemi ile belirlenmiştir.

NDAT ve XT199'un sisplatin ile kombinasyon tedavisi, ortotopik pankreas tümörlü farelerin plazma örneklerinde pro-inflamatuar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) ekspresyon seviyelerini azaltarak ve anti-inflamatuar sitokin (IL-10) seviyesini arttırarak, anti-inflamatuar etki göstermiştir. Yapılan çalışmada, sisplatin dirençli pankreas tümörlü farelerin plazma örnekleri, kontrol ile karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  salınımını anlamlı olarak azalttığı görülmüştür.

Pankreas kanseri hücrelerinde, pro-inflamatuar sitokin IFN- $\gamma$ , nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz (NOX) ve dual oksidaz (DUOX2) aktivasyonunu indükler ve ROS üretir. ROS, kanser hücresi apoptozunu inhibe eden, ECM ve sitokin ekspresyonunu indükleyen ve böylece pankreas kanseri gelişimine katkıda bulunan çeşitli sinyal yollarını (p38MAPK, NF- $\kappa$ B ve JAK2-STAT1/3) aktive eder (Yu ve Kim 2014).

c-myc onkogen, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile yoğun şekilde ilişkilendirilmiştir (Dang 1999). c-myc gen ürününün anormal ekspresyonu, birçok tümörde gözlenmiş ve sisplatin kaynaklı direnç ile ilişkilendirilmiştir (Walker ve ark. 1996). IFN- $\gamma$ , c-myc onkogenin downregülasyonu ile tümör gelişimini engellemektedir. *In vivo* sisplatin kemoterapisinde hayatta kalan pankreas tümör hücrelerinde c-myc onkogeninin aşırı ekspresyonunun, IFN- $\gamma$  direnci ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Walker ve ark. 1996, Tulley ve ark. 2004). Bu nedenle pankreas kanseri hücrelerinde sisplatin direnci, azalmış IFN- $\gamma$  duyarlılığı (artmış IFN- $\gamma$  direnci) ile ilişkilendirilebilir (Marth ve ark. 1997). Çalışmamızda, sisplatin ile azalan IFN- $\gamma$

ekspresyon seviyesini NDAI istatistiksel anlamlı olarak arttırmıştır. Oysa XT199'un sisplatin ile kombinasyonu, sisplatin ile karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  seviyelerinin benzer olduğu gör÷lmektedir. Tüm veriler birlikte ele alındığında, NDAI'in sisplatinin azalttığı IFN- $\gamma$  sitokin ekspresyon seviyesini arttırması (IFN- $\gamma$  direncinin azalması), c-myc onkogen ekspresyonunu inhibe etmesine ve pankreas kanseri hücrelerinin sisplatine duyarlılığının artmasına, böylece tümör gelişimini azaltmasına neden olabildiğı düşün÷lmektedir.

Sitokin sinyali 3 supresörü (SOCS3), sitokin sinyal yolunun anahtar negatif feedback reg÷latörüdür. SOCS3, inflamasyon, kanser gelişiminde ve ilerlemesinde kritik bir rol oynamaktadır (Inagaki-Ohara ve ark. 2013). SOCS3 eksikliği farelerde gastrik tümör gelişimine neden olmaktadır (Inagaki-Ohara ve ark. 2014). Birçok kanser hücre hattında SOCS3'ün aşırı ekspresyonunun, tümör oluşumunu etkili bir şekilde baskıladığı gösterilmiştir (He ve ark. 2003, Iwahori ve ark. 2011). Bununla birlikte, kemoterapi direncinde SOCS3'ün rolü çok fazla bilinmemektedir. Xu ve ark. (2016) IFN- $\gamma$ 'nın, A549 hücrelerinde sisplatin direncini azaltmak için SOCS3 ekspresyonunu upregüle ettiğini göstermiştir. Bu nedenle, SOCS3, SUII2-luc hücrelerinin sisplatin direncinde önemli bir rol oynayabilir. Çalışmamızda, NDAI'in sisplatinin azalttığı IFN- $\gamma$  sitokin ekspresyon seviyesini arttırması, SOCS3 ekspresyonunu indükleyerek ve dirençli SUII2-luc hücrelerinin sisplatine duyarlılığını arttırarak tümör gelişimini azaltmasına neden olabileceğı başka bir yol olarak da öne sür÷lebilir.

Çalışmamızda, IL-17 ekspresyon seviyesini sisplatin ve NDAI uygulaması istatistiki anlamlı bir şekilde azaltmıştır. IL-17'nin, sinir sisteminin çeşitli inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarında ve hasarlı bölgelere inflamatuvar hücrelerin alınmasında rol oynadığı bilinmektedir (Gaffen 2009, Hu ve ark. 2011, Kim ve Moalem-Taylor 2011).

Çoğu solid tümör için hallmark/özelliik, neoplastik epiteli çevreleyen belirgin fibro-hücreli stroma bulunmasıdır. Son çalışmalar, bu stromanın tümör devamlılığı, progresyonu ve kemoterapi direnci için gerekli olabileceğini öne sürmektedir (McAllister ve ark. 2014). Birçok solid kanser gibi pankreatik intraepitelyal neoplazi (PanIN)'de tümörü çevreleyen dokularda bulunan immün ve mezenkimal hücrelerin sayısındaki artış, güçlü stroma yanıtı ile karakterizedir ve kronik inflamasyon ile hızlanmaktadır (Cully

2014). Pankreas kanseri mikroçevresine, yüksek seviyede düzenleyici T hücreleri ( $T_{reg}$ ), tümör ile ilişkili makrofajlar (TAMs), yardımcı T hücreleri ( $T_{H17}$ ,  $CD4^+$  T) ve az sayıda  $CD8^+$  T hücrelerinden oluşan yoğun stromal immün-baskılayıcı inflamatuvar bileşenler yer almaktadır (Carr ve Fernandez-Zapico 2016).

K-ras geni çoğu pankreas tümöründe onkojenik bir forma dönüşmektedir. Onkojenik K-ras, pankreas tümörlerinin ilerlemesinde ve gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Yeni bir anlayış, onkojenik K-ras'ın her zaman aktif durumda olmadığını göstermektedir (di Magliano ve Logsdon 2013, Bryant ve ark. 2014). Bu nedenle, onkojenik K-ras'ın kansere neden olması için aktive edilmesi gerektiğinin anlaşılması, K-ras inhibisyonunun kanseri önleyici bir strateji olduğunu ortaya koymaktadır. McAllister ve ark. (2014) onkojenik K-ras'ın IL-17 üreten  $T_{H17}$  hücrelerinin toplanmasında önemli IL-17 sinyal yolunu vurgulamıştır.  $T_{H17}$  hücrelerinden aşırı IL-17 ekspresyonu daha sonra pre-invaziv pankreas lezyonlarının oluşumunda ve pankreas kanseri oluşumunda tamamlayıcı bir etkiye sahiptir. Ayrıca, genetik veya farmakolojik teknikler kullanılarak IL-17 sinyal yolunun engellenmesi, pankreatik intraepitelyal neoplazinin (PanIN) oluşumunu önlemektedir.

Zhang ve ark. (2014) onkojenik K-ras eksprese eden epitelyal hücrelerin,  $CD4^+$  T hücreleri alınımı ile immün baskılayıcı bir mikroçevre oluşturduğunu göstermiştir.  $CD4^+$  T hücreleri ve IL-17 sinyallemesinin, onkojenik K-ras kaynaklı pankreas kanseri oluşumu için gerekli olduğu bilinmektedir. Ayrıca,  $CD4^+$  T hücrelerinin fonksiyonel olarak  $CD8^+$  T hücrelerinin anti-tümör aktivitesini baskıladığı bilinmektedir.  $CD4^+$  T hücre popülasyonunun azalması, farelerde pankreatik karsinogenezi önleyerek anti-tümöral  $CD8^+$  T lenfositlerinin baskı altına alınmasına neden olmaktadır. Bağışıklık sistemi baskılanmış farelerde, aşırı düzeyde IL-17 eksprese eden insan serviks ve akciğer kanseri hücrelerinin, IL-17'yi nispeten daha az eksprese eden kontrol hücrelerine kıyasla daha fazla tümör oluşturma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (Tartour ve ark. 1999, Numasaki ve ark. 2005). Pankreas kanserli hastalarda serum IL-17 seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (Karabulut ve ark. 2016). Ramesh ve ark. (2014) hem IL-17 hem de IFN- $\gamma$  üreten  $T_{H17}$  hücrelerinin, çoklu ilaç direnç proteini 1 (MDR1) eksprese ettiğini göstermiştir. MDR1: ATP-bağımlı çoklu ilaç taşıyıcısıdır, aynı zamanda P-glikoprotein (P-gp) olarak bilinmektedir, kemoterapiye

karşı tümör direnci ile ilişkisi rapor edilmiştir. Kovalent bağlanan DAT ve NDAT uygulaması P-gp'lerle bağlanan kemoterapötikleri daha fazla hücre içinde tutarak kanser hücrelerinin kemoterapötiğe duyarlılığını artırmaktadır (Davis ve ark. 2015, Rebbaa ve ark. 2008).

Noubade ve ark. (2011), CD4<sup>+</sup> T hücrelerinde p38 MAPK sinyal yolu aktivasyonunun IL-17 üretiminin kontrol altına alınması açısından gerekli olduğunu göstermiştir. Niu ve ark. (2016) yumurtalık kanseri hücrelerinde (OVCA) IL-17'nin sisplatin direnci üzerine etkilerini *in vitro* araştırmıştır. IL-17'nin ABCG2 ve MDR1 ekspresyonunu upregüle ederek OVCA hücrelerinin sisplatine karşı direncini arttırdığını bulmuşlardır. Ayrıca OVCA hücrelerinin sisplatine direncinde IL-17'nin etkilerini doğrulamak için IL-17 eksikliği olan fareler ve syngenik fare yumurtalık kanseri modeli (ID8) kullanmışlardır. Hayvan deney çalışmaları, IL-17'nin fare OVCA modellerinde sisplatin direncini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. IL-17 sinyalini inhibe etmenin, OVCA hücrelerinin sisplatine duyarlılığını arttırabileceğini ileri sürmektedir. Hayata ve ark. (2013) IL-17 baskılanmasının deney hayvanlarında pankreatik tümör gelişiminin inhibisyonuna yol açtığını göstermiştir.

IL-17'nin SUIT2-luc hücrelerinin sisplatin direnci üzerine etkileri henüz belirlenmemiştir. Moore ve ark. (2001) SUIT2-luc hücrelerinde K-ras geninde mutasyonlar olduğunu göstermiştir. Pankreas kanseri hücrelerinde genetik değişiklikler, moleküler yol ile ilişkili olabilecek ilaç duyarlılığı ve ilaç direnci içeren çalışmalar için oldukça değerlidir.

Bu çalışmada, ortotopik pankreas kanserli (SUIT2-luc) farelerde IL-17 sitokinin plazma seviyelerini ve bunun tümör progresyonuyla olan ilişkisi ilk kez gösterilmiştir. Kanserde IL-17'nin rolü halen tartışılmaktadır. Pro-inflamatuar sitokin IL-17 ekspresyonu, sisplatine dirençli pankreas kanseri hücrelerinde artış gösterebilmektedir. Tüm literatür çalışmaları bir araya getirildiğinde bu çalışmada, kontrol grubuna kıyasla sisplatin grubunda azalmış pro-inflamatuar IL-17 sitokin ekspresyonu SUIT2-luc hücrelerinin sisplatine duyarlılığını artırabilir ve tümör baskılanmasına neden olabilir. Dahası, sisplatin tedavisinden sonra farelerin plazmasında azalma gösteren IL-17 seviyelerinin, T hücrelerinin yokluğundan etkilenebileceğini söylemek mümkündür.



Literatürde, bu sitokin için hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar fonksiyonlar tanımlanmıştır. IL-17 bir yandan tümör gerilemesine neden olan anti-tümör sitotoksik T hücre yanıtını teşvik eder; diğer yandan da anjiogenezi ve tümör hücrelerin primer odaktan çıkışını kolaylaştırarak, tümör büyümesini teşvik eder (Murugaiyan ve Saha 2009). IL-17, otoimmün hastalığın gelişimini baskılayabilen anti-inflamatuar etkiye sahiptir (Otani ve ark. 2009).

Şu anki çalışmamızda IL-17 anti-inflamatuar etki göstermiş olabilir, böylece anti-inflamatuar IL-17 sitokin ekspresyonunda azalma, SUI2-luc hücrelerinin sisplatine karşı geliştirilmiş direnci ile ilişkili olabilir ve bu da tümör büyümesine neden olabilir. Buna ek olarak, ortotopik pankreas fare tümör modeli plazma örneklerinde, sisplatin ile kombinasyon halinde kullanılan tüm bileşiklerin, sisplatin tarafından downregüle edilen IL-17 sitokin ekspresyonu üzerine etkisi olmadığı gözlenmiştir.

Bununla birlikte, sitokinler, bağlanım sabitleri  $10^{-12}$  ve  $10^{-10}$  M arasında değişen yüksek afiniteli reseptörler ile hormonal konsantrasyonlarda etki etmektedir. Bazı durumlarda, bir etki ortaya çıkarmak için hücre başına sadece birkaç düzine reseptörün aktive edilmesi gerekebilir. Sitokinler ihtiyaç üzerine üretilir ve yalnızca kısa mesafelerde taşınabilir. *In vivo* konsantrasyonları mililitre başına birkaç pikogram ila nanogram aralığındadır. Düşük konsantrasyonlarda bu lokal etki nedeniyle, serum seviyeleri lokal etkiyi güvenilir bir şekilde yansıtmayabilir (Sommer ve Kress 2004).

Sisplatin kemoterapisinin en önemli yan etkilerinden biri periferik nöropatidir. Sisplatin ile indüklenen periferik nöropati, genellikle doz azaltılmasını gerektirdiği için anti-kanser ajan sisplatinin etkinliğini azaltmakta ve tedaviyi engellemektedir. Sinir hasarının, nöropatik ağrının patogenezinde rol oynayan IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  gibi bazı pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu ve salgılanmasını arttırdığına dair çok sayıda kanıt bulunmaktadır (Lees ve ark. 2013).

Bu çalışmada, integrin reseptör antagonistleri (NDAT ve XT199) ve antioksidanların (EGCG ve OT-404), sisplatinin-indüklediği nöropati üzerindeki nöroprotektif etkileri belirlemek adına farelerin arka-ayaklarının davranışsal duruş değerlendirmesi yapılmıştır. NDAT ve XT199 ön-tedavisi ile NF- $\kappa$ B'nin inhibisyonunun, sisplatin ile indüklenen periferik nöropati gelişimine karşı nöroprotektif etki sağlaması, arka-bacak

duruşunun davranışsal değerdendirilmesiyle gösterilmiştir. Sisplatin tedavisinde motor disfonksiyon genellikle orta ve belirgin duyu kaybından sonra meydana gelir (Armstrong ve ark. 2005). Çalışmamızda uygulanan sisplatin dozu ile deney hayvanlarında çorap-eldiven modeli nöropatinin ileri durum figürleri değerdendirilmiştir. Bu sisplatinin meydana getirdiğı kas güçsüzlüğünün bir sonucudur. NDAT ve XT199 ön-tedavisi ile sisplatin kombinasyon tedavisi uygulanan hayvanlarda arka ekstremitelerde nöropatinin bulunmaması durumu (arka ayakların çaprazlaşmaması) sinirin öncelikle tümöre taşınan sisplatine maruziyetinin azaldığını göstermektedir. Bu bulguların tümü, NDAT ve XT199 ajanlarının NF-κB aktivasyonunun downregülasyonu yoluyla sisplatin ile indüklenen periferik nöropatiyi hafiflettiğini göstermektedir.

Tümör biyoluminesans yoğunlukları ve tümör ağırlıkları arasındaki uyumsuzlukları gidermek ve farklı özellikler ile ilgili mekanizmaları araştırmak amacıyla ortotopik SUI2-luc pankreas tümörleri Hematoksilin ve Eosin ile boyanarak histopatolojik değerdendirme yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre, sisplatin ile tedavi edilen pankreas tümörleri, kontrol tümörlerine kıyasla nekrotik alanlarda istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olmuştur. Nekrotik alanlar, erken evre (fragmente ve küçük nükleus) ve geç evre (nükleus içermeyen hayalet hücreler) de gözlenebilmektedir, bu da sisplatinin hücre ölüm modunun erken ve geç evreleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Daha öncede belirttiğimiz gibi, sisplatin uygulanmış tümörlerin sinyal yoğunlukları, kontrol tümörlerine kıyasla artış göstermiş olmasına rağmen, tümör küçülme eğiliminin artmış olmasına bağlı olarak sisplatin ile tedavide kontrole kıyasla daha fazla nekrotik alan gözlenmiştir.

NDAT ve XT199 ile tedavi edilmiş pankreas tümörlerinin histopatolojik analizleri, kontrol tümörlerine (canlı hücre ve büyük nükleus) kıyasla istatistiksel olarak artmış nekrotik alanlar göstermiştir. NDAT ve/veya XT199 ile sisplatin kombinasyon tedavisi, sadece sisplatin tedavisi ile kıyaslandığında azalmış lüminesans tümör sinyal yoğunluğu ile artmış nekrotik alanın gözlenmesi, NDAT ve XT199'un, pankreas tümörlerinin sisplatine olan duyarlılığını arttırdığını doğrular niteliktedir. Ayrıca, NDAT ve XT199 bileşiklerinin, önemli ilaç direnç mekanizmalarından biri olan P-gp ve dışa atım pompa faaliyetinin (Luqmani 2005) potansiyel olarak üstesinden geldiğı/azalması yönünde etki ettiği düşünülebilir (Rebbaa ve ark. 2008).

NDAT ve XT199'un sisplatin ile indüklenen periferik nöropatiye karşı nöroprotektif etkilere sahip olduğuna dair gerekli kanıtlar histopatolojik değerlendirmede iki önemli belirtinin değerlendirilmesi ile belirlenebilmektedir: sisplatin tedavisi ile farelerin siyatik sinir hasarından sonraki aksonal dejenerasyonu ve demiyelinizasyonudur. Deney hayvanlarından toplanan siyatik sinirlerine dair bu analizler bu tez çalışmasına konulmamıştır. İlgili analizler Dr Mousa'nın laboratuvarında değerlendirilecektir.

Bu tez çalışmasında ayrıca, antioksidan OT-404 ve EGCG'nin I) HeLa hücrelerinde sisplatin ve/veya gemsitabinin indüklediği NF-κB/ROS aktivitesi üzerine anti-inflamatuar etkileri, II) THP1 hücrelerinde LPS (Lipopolisakkarit)'in indüklediği NF-κB/ROS aktivitesi üzerine anti-inflamatuar etkileri ve III) THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit)'in indüklediği NF-κB/ROS aktivitesi üzerine anti-inflamatuar etkileri lusiferaz yöntemi ile belirlenmiştir.

OT-404'ün (tempol analog), antikanser (Du ve ark. 2010, Rebbaa ve ark. 2013) ve antioksidan (Schubert ve ark. 2004, Erker ve ark. 2005) etkisi bilinmektedir. Ayrıca OT-404'ün kemoterapiye duyarlı ve/veya kemoterapiye dirençli insan nöroblastoma (SKN-SH) ve osteosarkom (SaOS2) hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği ve kanser hücrelerin kemoterapötik ilaçlara (etoposid ve/veya doksorubisin) karşı duyarlılığını arttırdığı bulunmuştur. OT-404'ün osteosarkom, pankreas, akciğer ve meme kanseri hücrelerinde anti-anjiogenik etkisi bulunmuştur (Rebbaa ve ark. 2013).

EGCG (yeşil çay ekstraktı); anti-inflamatuar, anti-oksidan, anti-diyabet, anti-obezite ve anti-tümör etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Min ve Kwon 2014). Son yıllarda yapılan birçok çalışma, yeşil çay polifenollerinin ve EGCG'nin cilt, akciğer, ağız boşluğu, özofagus, duodenum, meme, kolon, mide, karaciğer, ince bağırsak ve prostat kanserlerine karşı kemopreventif etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Mukhtar ve Ahmad 2000, Yang ve ark. 2002, Khan ve Mukhtar 2013).

Kanser kemoterapisi sırasında ROS'un (Fidanboylu ve ark. 2011) ve devamında ROS ile ilişkili NF-κB aktivasyonunun (Morgan ve Liu 2011) arttığı bilinmektedir. Çalışmamızda, sisplatin'in ROS ile ilişkili NF-κB'yi aktive ettiği lusiferaz yöntemi ile belirlenmiştir. İlâveten, HeLa hücrelerinde sisplatin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu QNZ EVP4593 (3 µM) %66,8 oranında indirirken, EGCG (10 µM) %58,5 oranında,

OT-404 (3 µM) ise %41,2 oranında downregüle ettiği belirlenmiştir. HeLa hücrelerinde gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu EGCG (%35,7) ve OT-404 (%37,7)'ün downregüle ettiği belirlenmiştir ancak bu etki QNZ EVP4593'ün etkisiyle kıyaslandığında anlamlı olarak değerlendirilmemiştir (%46,9). Bu tez, kanser hücrelerinde sisplatin ve gemsitabin ile indüklenen NF-κB aktivasyonu üzerine, antioksidanlar (EGCG ve OT-404) ile ön-tedavinin anti-inflamatuar etkinliğinin değerlendirildiği *in vitro* ilk çalışma niteliğindedir.

Monositik lösemi hücre hattı THP1 hücrelerinde, LPS ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu QNZ EVP4593 (3 µM) (%54) oranında indirgerken, antioksidanlardan OT-404 %48,7 ve EGCG ise %45,6 oranında downregüle ettiği belirlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, antioksidan EGCG ve OT-404 ile ön-tedavi uygulamasının, monositik lösemi hücresinde LPS tarafından indüklenen NF-κB aktivasyonunu downregüle ederek kısmi anti-inflamatuar etkinliğe sahip olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

Ayrıca, OT-404 ve EGCG'nin, THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indüklediği oksidatif strese karşı potansiyel anti-oksidan etkileri belirlenmiştir. OT-404 ve EGCG ile ön-tedavinin, THP1 hücrelerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen NF-κB aktivasyonunu sırasıyla %26,5 ve %24,3 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir.

Antioksidan OT-404 ve EGCG tek başına ve/veya sisplatin ile kombine halde pankreas kanseri üzerine anti-tümör etkileri, ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde, *in vivo* görüntüleme sistemi (IVIS) ve histopatolojik değerlendirme ile belirlenmiştir.

*In vivo* çalışma sonuçlarına göre, tek başına OT-404 tedavisinin, tümör sinyal yoğunluğunu (16,9±7,8), kontrol grubuna (10,7±3,9) kıyasla arttığı gözlenmiştir (%57,2 oranında artış). Pankreas kanseri hücresi (SUIT2-luc) ortotopik xenograflarında kontrol grubuna kıyasla tümör ağırlığında sisplatin ile %37, OT-404 %16,6 ve OT-404+sisplatin uygulaması ile %65,7 azalma gözlenmiştir. OT-404+sisplatin tedavi grubu, sisplatin grubuna kıyasla, tümör ağırlığında %45,2 oranında ve tümör sinyal yoğunluğunda %10,7 oranında azalma göstermiştir. Bu durum, antioksidan OT-404'ün, pankreas kanseri hücrelerinin sisplatin duyarlılığını arttırdığını belirlemiştir.

Ahmed ve ark. (2014)'nın çalışmasında, sisplatin tedavisi öncesi tempol ön-tedavisinin farelerde tümör büyümesinin baskılanması üzerine etkisinin tek başına sisplatin ile tedavi edilen farelerde gözlenen etkiye benzer olduğu gösterilmiştir. İlginç olarak, tempol'ün solid karsinomların büyümesine karşı sisplatin'in antikanser etkisi ile interfere olmadığını göstermişlerdir (Ahmed ve ark. 2014). Du ve ark. (2010), tempolün insan pankreas kanseri hücrelerinin (MIA PaCa-2) *in vivo* ve *in vitro* büyümesini inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir.

Tempol'ün, insan lenfositlerinde sisplatin ile indüklenen DNA hasarına karşı koruyucu etkisi belirlenmiştir. Son çalışmalar tempol'ün sisplatin gibi kemoterapötik ajanlarla ilişkili oksidatif strese karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Khabour ve ark. 2014).

Tempol, antioksidan olarak etki ettiğinden, sisplatin kaynaklı oksidatif stresi (ROS) baskılayabilir. Bu çalışmada, OT-404'ün sisplatin kaynaklı NF- $\kappa$ B/ROS aktivitesini inhibe ederek, periferik nöropatiye karşı kemoprotektif ajan olarak potansiyel kullanımı anti-inflamatuar açıdan değerlendirilmiştir.

Nöroinflamasyon, CIPN'nin altında yatan ana mekanizmalardan biridir. CIPN modelleri, çeşitli periferik ve merkezi glial aktivasyon ve artmış pro-inflamatuar sitokin ekspresyonu göstermektedir (Lees ve ark. 2017). CIPN'de NF- $\kappa$ B'yi hedeflemek, anti-kanser aktiviteye ek bir yarar sağlarken nöropati gelişimini hafifletmektedir.

Sitokinler gibi, inflamasyon ve oksidatif stres mediatörlerinin periferik nöropatinin hayvan modellerinde nöropatiye katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Lees ve ark. 2017). Tezde, ortotopik pankreas kanseri fare tümör modelinde plazma sitokin seviyelerinin artmasına neden olan ROS ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu sisplatinin arttırdığı gözlenmiştir. OT-404 ile sisplatin kombinasyon grubunun, sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$ ) ekspresyonunu downregüle ettiği ve anti-inflamatuar sitokinlerin (IL-10) ekspresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir. Bu durum, OT-404'ün sisplatin ile indüklenen periferik nöropatiyi hafifletme yeteneğine sahip olduğunun kanıtı niteliğindedir (nöroprotektif etki göstermesinin kanıtıdır).

Sisplatin kaynaklı periferik nöropati mekanizması belirsizliğini sürdürmesine rağmen, OT-404'ün bir antioksidan (ROS inhibitörü) ve NF-κB inhibitörü olarak ikili etkinliği CIPN patofizyolojisinde NF-κB ve ROS arasında önemli bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir.

Ahmed ve ark. (2014) tarafından tempol'ün, sisplatinin-indüklediği nefrotoksisitenin önlenmesindeki potansiyel rolü, farelerde oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyonun iyileştirilmesi yoluyla gösterilmiştir. Youn ve ark. (2016), sisplatin tedavisi öncesi tempol ön tedavisinin, sisplatinin indüklediği sitotoksisiteyi (artan ROS birikimi, mitokondriyal disfonksiyon, apoptotik özellikler ve belirteçler, House Ear Institute-Organ of Corti 1 (HEI-OC1)'de hücre hasarı gibi) önemli ölçüde inhibe ettiğini ve sisplatinin indüklediği ototoksisiteye karşı koruyucu bir rol oynadığını göstermiştir.

Sisplatin tek başına uygulamasında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör ağırlığında % 37,4 oranında azalma gözlenirken, EGCG+sisplatin uygulaması ile tümör ağırlığında %30 oranında azalma gözlenmiştir. Hem EGCG (4,2 kat) hem de EGCG+sisplatin (1,7 kat) tedavi grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tümör sinyal yoğunluğunda artış gözlemlendi. Ayrıca, EGCG+sisplatin tedavi grubu, sisplatin tedavi grubuna kıyasla tümör sinyal yoğunluğunun (1,4 kat) ve tümör ağırlığının (1,1 kat) artmasına neden olmuştur. EGCG+sisplatin tedavi grubu, EGCG tedavi grubuna kıyasla tümör sinyal yoğunluğunda %59,2 oranında ve tümör ağırlığında %45,4 oranında azalmaya neden olmuştur. Bu durum, EGCG+sisplatin tedavi grubunda, tümör ağırlığı ve tümör sinyal yoğunluğunun çoğunlukla sisplatinin etkisi sonucu azalmış olması ile açıklanabilir. Bu nedenle, EGCG'nin sisplatinin anti-tümör etkisini arttırmadığı bilakis azalttığı belirlenmiştir.

EGCG'nin kemopreventif etkinliği büyük ölçüde araştırılmış olsa da, altındaki mekanizmalar henüz tamamen netliğe kavuşmamıştır. Tang ve ark. (2012), insan pankreas kanserinde EGCG'nin STAT3 sinyal yolunu inhibe ederek gemsitabinin terapötik potansiyelini arttırdığını göstermiştir. Bimonte ve ark. (2015) EGCG ve bleomisin'in insan pankreas kanseri hücrelerinin (MiaPaca-2) büyümesi üzerine inhibe edici etkilerini *in vitro* göstermiştir. Çalışmamızda, EGCG'nin sisplatinin etkinliğini azaltmasını EGCG'nin doz farklılığı ve *in vivo* çalışma olması ile açıklayabiliriz.

EGCG'nin insan pankreas kanseri hücrelerinde (AsPC-1), hücre büyümesi, invazyonu, metastazı ve anjiogenezi inhibe edici etkileri, xenograft fare tümör modelinde gösterilmiştir (Shankar ve ark. 2008). Shankar ve ark. (2013) tarafından EGCG'nin PI3K/AKT ve ERK yolaklarının inhibisyonu ve FKHRL1/FOXO3a'nın aktivasyonu ile ilişkili olarak pankreas kanseri ortotopik fare tümör gelişimini, anjiyogenezi ve metastazı inhibe ettiğini gösterilmiştir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla çelişmektedir. Bu da çalışılan fare tümör modelinde kullanılan hücre tipi, uygulanan doz ve süre farklılığı ile açıklanabilir.

Çalışmamızda ayrıca, nöroinflamasyon tedavisinde EGCG'nin antioksidan olarak potansiyel rolünü gösterilmiştir. EGCG'nin sisplatin ile indüklenen IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  sitokin seviyelerini azaltarak ve sisplatin ile inhibe edilen IL-10 sitokin seviyelerini artırarak anti-inflamatuar ve nöroprotektif özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Sisplatin ile kombine edilen EGCG, sisplatin ile karşılaştırıldığında IFN- $\gamma$  ve IL-17 seviyeleri üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir.

Hoffmann ve ark. (2011), EGCG'nin insan pankreas adenokarsinoma hücre hattı Colo357'de IL-1 aracılı IL-6 sekresyonunu önemli ölçüde azalttığını raporlamıştır. EGCG'nin, IL-6 ve anjiyotensin II ile indüklenen CRP (C-reaktif protein) ekspresyonunu makrofajlarda (Li ve ark. 2012) ve vasküler düz kas hücrelerinde (Peng ve ark. 2010) inhibe etmesi, ROS üretimini engelleyerek anti-inflamasyon etkiyi sağlamaktadır. Ahmed ve ark. (2008), EGCG'nin IL-1 $\beta$  ile indüklenen IL-6 sentezini inhibe ettiğini ve romatoid artrit (RA) sinovyal fibroblastlarda gp130 mRNA'sını indükleyerek trans sinyal yolunu baskıladığı ve çözünür gp130 üretiminin artmasına yol açtığını göstermiştir.

Güçlü bir anti-inflamatuar bileşik olan EGCG'nin insan RA sinovyal fibroblastlarında IL-6 sentezini baskılamak için IL-1 $\beta$  sinyal proteinini (TAK1) inhibe ettiği gösterilmiştir (Singh ve ark. 2016). Tokuda ve ark. (2007), EGCG'nin osteoblastlarda p44/p42 MAP kinaz yolunu baskılanmasıyla endotelin-1 (ET-1) ile indüklenen IL-6 sentezini inhibe ettiğini göstermiştir.

Bizim sonuçlarımız, yukarıdaki verilerden farklı olarak, tek başına EGCG'nin, kontrol ile karşılaştırıldığında ortotopik pankreas kanserli farelerin plazmalarında IL-6 ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir. Bu çelişkili bulguların *in vitro* çalışmalardan

gelmesiyle açıklayabiliriz. Oysa EGCG, sisplatin ile kombine edildiğinde IL-6 seviyeleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Bu da sisplatinin farklı maddelerle kombinasyonu ile yaşadığı etkileşim ilişkisi ile değerlendirilebilir.

Aktaş ve ark. (2014), otoimmün ensefalomyelit hastalığında EGCG aracılı T hücreli NF- $\kappa$ B inhibisyonunu ve nöroproteksiyonu göstermiştir. EGCG, yapısal olarak antioksidatif özellikler içerdiğinden, canlı beyin dokusunda N-metil-D-aspartat ya da TRAIL tarafından indüklenen nöronal hasara karşı koruma sağlayabilir ve nöronlarda nörotoksik reaktif oksijen türlerinin oluşumunu doğrudan engelleyebilir. EGCG, antioksidan ve pro-oksidan olmak üzere iki işleve sahip olsa da, ROS üretiminin EGCG aracılı modülasyonunun, anti-kanser etkilerinden sorumlu olduğu rapor edilmiştir. EGCG aracılı NF- $\kappa$ B sinyal yolunun inhibisyonu, migrasyon, anjiyogenez ve hücre canlılığının inhibisyonu ile ilişkilidir (Aktaş ve ark. 2014).

Ahmad ve ark. (2000), EGCG'nin neden olduğu hücre döngüsü deregülasyonu ve kanser hücrelerinin apoptozunun NF- $\kappa$ B inhibisyonu ile oluşabileceği göstermiştir. Gupta ve ark. (2004), EGCG aracılı kaspaz aktivasyonunun, NF- $\kappa$ B'nin inhibe edilmesi ve apoptozun indüklenmesi için önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Yakın zamanda, EGCG'nin insan pankreas kanseri hücreleri üzerinde baskılayıcı etkileri gösterilmiştir. Bu antikanser etkiler, ROS üretiminin modülasyonu, NF- $\kappa$ B'nin inhibisyonu, MAPK'lerin aktivasyonunun up/downregülasyonu ve epigenetik değişimin regülasyonu ile ilişkilidir (Min ve Kwon 2013).

Bu çalışma ile ilk kez, EGCG ile sisplatin kombinasyon tedavisinin SUIT2-luc pankreas kanseri hücre büyümesi üzerine inhibe edici etkileri araştırılmıştır. EGCG'nin sisplatin kaynaklı periferik nöropati gelişimine karşı nöroprotektif etki sağlamasına rağmen, EGCG'nin *in vivo* insan pankreas kanseri SUIT2-luc hücrelerinin büyümesi üzerine anti-tümör etkisi gözlenmemiştir.

Çeşitli çalışmalar, EGCG'nin pankreas kanseri hücrelerinde güçlü bir anti-kanser etkiye sahip olduğunu göstermesine rağmen (Kürbitz ve ark. 2011, Min ve Kwon 2014, Bimonte ve ark. 2015), *in vivo* çalışmalarda ve klinikte EGCG'nin etkin kullanımını tanımlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



OT-404 ile tedavi edilmiş pankreas tümörlerinin histopatolojik analizleri, kontrol tümörlerine (canlı hücre ve büyük nükleus) kıyaslandığında anlamlı bir fark gösterirken ( $p<0.05$ ) ve EGCG uygulaması ile anlamlı bir değişim görülmemiştir. OT-404 ve/veya EGCG ile sisplatin kombinasyon tedavisi ile de nekrotik alan bulgularında değişim görülmemiştir. Histopatolojik alan değerlendirmelerimiz tümör büyüklüğü ve lüminesans bulgularımızı destekler niteliktedir.

CIPN belirleme yöntemlerinden biri de postüral değerlendirmedir. Uzun sinirlerin, daha kısa sinirlere kıyasla toksik hasara karşı daha savunmasız oldukları ve genellikle " çorap-eldiven" dağılımı olarak adlandırılan simetrik, distal, uzunluğa bağlı bir modelle ortaya çıktığı düşünülmektedir (Hershman ve ark. 2014). Periferik nöropatinin motor belirtileri için postüral değerlendirme, kuyruklarından kaldırılmış farelerin arka ayaklarının çapraz duruşu ile ortaya çıkan sisplatin kaynaklı kas güçsüzlüğünü ortaya koymaktadır. Bu, sisplatinin neden olduğu eldiven-çorap modeli nöropatinin bir göstergesidir. Çalışmada, sisplatin grubundaki farelerin arka ayaklarını çapraz pozisyonda vücutlarına yakın tutmaları, 8. günde başlayan kas güçsüzlüğünün ve motor defisitlerin bir belirtisidir. Sisplatin tedavi grubundaki farelerde 2 hafta boyunca arka ayak spastisitesi gözlenmiş olmasına rağmen NDAT, XT199, EGCG ve OT-404 ön-tedavisi uygulanan sisplatin grubu farelerde ise herhangi bir motor fonksiyon kaybı gözlenmemiştir. Kombinasyon grupları normal motor davranışlar sergilemiştir. Bu durum bileşiklerin sinir yapısını koruyarak işlevsel bütünlüğü koruyabileceğine dair kanıt sağlamaktadır.

Kanser vakalarında hastalıkla yaşam süresi boyunca kilo değişimleri hastalığın seyri açısından önemli bir parametredir. Çalışma süresi boyunca farelerin ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte, sisplatin ile tedavi edilen grupta, tedavinin ikinci haftasından sonra başlayan kilo kaybı gözlenmiştir. Buna ek olarak, NDAT, XT199, OT-404 ve EGCG ile tedavi edilen gruplar arasında vücut ağırlığında herhangi bir değişiklik kaydedilmemiştir. Bu bileşikler ile ön-tedavinin, sisplatin kaynaklı kilo kaybını azalttığı gözlenmiştir. Çalışmanın süresi boyunca ağırlıkta bir değişimin olmaması, yaygın morbidite ve toksisitenin yokluğunu göstermektedir. Geleneksel olarak uygulanan sisplatinin önemli bir toksisite riski taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenle, hayvanları sisplatin ile indüklenen nörotoksite ve kilo kaybına karşı koruyabilmek için çalışmanın süresi 21 gün sürmüştür. Deney süresi boyunca, NDAT ve

XT199 uygulaması tümör boyutunu ve lüminesansı azaltırken kilo kaybına yol açmamıştır. Bu iki ajanın, etkin ve yan etkileri az olabilecek bir tedavi alternatifleri olabileceğinin göstergesidir.

Pankreas kanserinde ilaç direncinin moleküler ve hücresel temeli, pankreas kanserini kemoterapiye duyarlı hale getirme ve pankreas kanserinde mevcut tedavilerin etkinliğini artıracak yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açacaktır. NF-κB sinyal yolunun inhibisyonu ile NF-κB aktivasyonunu baskılayan kemoprotektif ajanlar sisplatin karşı direnci azaltabilir. Böylece, sisplatin ile kombinasyon halinde kullanılan kemopreventif ajanlar pankreas kanser için yeni bir tedavi yaklaşımı sağlayacaktır.

Pankreas kanserinde ilaç direncinin üstesinden gelmek için bir molekülün veya sinyal yolunun hedeflenmesinin yeterli olmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, bu bileşikler ile çeşitli sinyal yollarının hedeflenmesi, bu bileşiklerin pankreas kanseri tedavisinde ilaç direncinin azaltma ve sisplatin tedavisinin etkinliğini arttırmada ki potansiyel etkilerinin artırılması amacıyla oldukça önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, NDAT, XT199 ve OT-404'ün pankreas kanseri tedavisinde NF-κB inhibitörü olarak, ayrıca anti-inflamatuar ve antitümör ajan olarak *in vivo* çalışmalarda ve klinikte kullanılmasına kapı aralayan orijinal terapötik ajanlar olarak değerlendirilebilir. Bu tez çalışması da, bu ajanların pankreas kanserinde anti-inflamatuar ve antitümör etkinliklerini *in vitro* ve *in vivo* olarak ortaya koyan orijinal bir çalışma niteliğindedir. Bileşiklerin etki mekanizmalarını ve çeşitli tümörlerde etkinliklerini belirleyebilmek için ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abramowski, M.C. 2010.** Chemotherapy-Induced Neuropathic Pain. *J Adv Pract Oncol.*,1: 279-283.
- Aggarwal, B.B. 2004.** Nuclear factor- $\kappa$ B: The enemy within. *Cancer Cell*, 6(3): 203-8.
- Ahmad, N., Gupta, S., Mukhtar, H. 2000.** *Arch Biochem Biophys*, 376(2): 338-46.
- Ahmed, S., Marotte, H., Kwan, K., Ruth, J.H., Campbell, P.L., Rabquer, B.J., Pakozdi, A., Koch, A.E. 2008.** Epigallocatechin-3-gallate inhibits IL-6 synthesis and suppresses transsignaling by enhancing soluble gp130 production. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(38): 14692-7.
- Ahmed, L.A., Shehata, N.I., Abdelkader, N.F., Khattab, M.M. 2014.** Tempol, a Superoxide Dismutase Mimetic Agent, Ameliorates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity through Alleviation of Mitochondrial Dysfunction in Mice. *PLoS ONE*, 9(10): E108889.
- Aktas, O., Prozorovski, T., Smorodchenko, A., Savaskan, N.E., Lauster, R., Kloetzel, P.M., Infante-Duarte, C., Brocke, S., Zipp, F. 2004.** Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate Mediates T Cellular NF- $\kappa$ B Inhibition and Exerts Neuroprotection in Autoimmune Encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, 173(9): 5794-5800.
- Albelda, S.M., Mette, S.A., Elder, D.E., Stewart, R., Damjanovich, L., Herlyn, M., Buck, C.A. 1990.** Integrin distribution in malignant melanoma: Association of the  $\beta_3$  subunit with tumor progression. *Cancer Research*, 50: 6757-6764.
- Albers, J.W., Chaudhry, V., Cavaletti, G., Donehower, R.C. 2011.** Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *Cochrane Database of Systemic Reviews*, 2: CD005228.
- Albers, J.W., Chaudhry, V., Cavaletti, G., Donehower, R.C. 2014.** Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *Cochrane Database Syst Rev.*, 3: CD005228.
- Alessandri-Haber, N., Dina, O.A., Yeh, J.J., Parada, C.A., Reichling, D.B., Levine, J.D. 2004.** Transient receptor potential vanilloid 4 is essential in chemotherapy-induced neuropathic pain in the rat. *J Neurosci.*, 24(18): 4444-52.
- Alessandri-Haber, N., Dina, O.A., Joseph, E.K., Reichling D.B., Levine, J.D. 2008.** Interaction of transient receptor potential vanilloid 4, integrin, and SRC tyrosine kinase in mechanical hyperalgesia. *J Neurosci.*, 28(5): 1046-57.
- Alkalay, I., Yaron, A., Hatzubai, A., Orian, A., Ciechanover, A., Ben-Neriah, Y. 1995.** Stimulation-dependent I $\kappa$ B $\alpha$  phosphorylation marks the NF- $\kappa$ B inhibitor for degradation via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92: 10599-10603.

**Allan, S.M., Rothwell, N.J. 2003.** Inflammation in central nervous system injury. *Phil Trans R Soc Lond.*, 358: 1669-1677.

**Allan, S.M., Tyrrell, P.J., Rothwell, N.J. 2005.** Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol.*, 5(8): 629-40.

**Allen, D.T., Kiernan, J.A. 1994.** Permeation of proteins from the blood into peripheral nerves and ganglia. *Neuroscience*, 59(3): 755-64.

**Allison, D.J., Thomas, A., Beaudry, K., Ditor, D.S. 2016.** Targeting inflammation as a treatment modality for neuropathic pain in spinal cord injury: a randomized clinical trial. *Journal of Neuroinflammation*, 13(1): 152.

**Almadrones, L., Armstrong, L., Gilbert, M., Schwartz, R. 2002.** Chemotherapy-induced neurotoxicity, current trends in management: multidisciplinary approach. Phillips Group Oncology Communications Co., Philadelphia, PA, 22 pp.

**Almeida, L.O., Abrahao, A.C., Rosselli-Murai, L.K., Giudice, F.S., Zagni, C., Leopoldino, A.M., Squarize, C.H., Castilho, R.M. 2014.** NF $\kappa$ B mediates cisplatin resistance through histone modifications in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *FEBS Open Bio.*, 4: 96-104.

**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. *Auton Neurosci.*, 86(1-2): 84-93.

**Anestakis, D., Petanidis, S., Kalyvas, S., Nday, C.M., Tsave, O., Kioseoglou E., Salifoglou, A. 2015.** Mechanism and Applications of Interleukins in Cancer Immunotherapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 16: 1691-1710.

**Anonim, 2014a.** World Health Statistics, WHO. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112738/1/9789240692671_eng.pdf)-(Erişim tarihi: 2017).

**Anonim, 2014b.** Peripheral Neuropathy Fact Sheet, NINDS. <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Fact-Sheets/Peripheral-Neuropathy-Fact-Sheet>-(Erişim tarihi: 2017).

**Anonim, 2015.** Peripheral neuropathy caused by chemotherapy. American Cancer Society. <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/physical-side-effects/peripheral-neuropathy.html>-(Erişim tarihi: 2016).

**Anonim, 2016a.** What is peripheral neuropathy. The foundation for peripheral neuropathy, FPN. <https://www.foundationforpn.org/what-is-peripheral-neuropathy/>-(Erişim tarihi: 2017).

**Anonim, 2016b.** Pancreatic Cancer: Treatment options. <http://www.cancer.net/cancer-types/pancreatic-cancer/treatment-options>-(Erişim tarihi: 2016).

**Anonim, 2017.** Understanding the peripheral neuropathy: the basics. <http://www.webmd.com/brain/understanding-peripheral-neuropathy-basics#1>-(Erişim tarihi: 2017).

**Antonacopoulou, A.G., Argriou, A.A., Scopa, C.D., Kottorou, A., Kominea, A., Peroukides, S., Kalofonos, H.P. 2010.** Integrin Beta-3 L33P: A New Insight Into the Pathogenesis of Chronic Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy? *Eur J Neurol.*, 17(7): 963-968.

**Araki, M., Aranami, T., Matsuoka, T., Nakamura, M., Miyake, S., Yamamura, T. 2013.** Clinical improvement in a patient with neuromyelitis optica following therapy with the anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab. *Mod Rheumatol.*, 23:827-831.

**Areti, A., Yerra, V.G., Naidu, V.G.M., Kumar, A. 2014.** Oxidative stress and nerve damage: Role in chemotherapy induced peripheral neuropathy. *Redox Biology*, 2: 289-295.

**Argyriou, A.A., Marmioli, P., Cavaletti, G., Kalofonos, H.P. 2011.** Epothilone-Induced Peripheral Neuropathy A Review of Current Knowledge. *J Pain Symptom Manage*, 42: 931-940.

**Argyriou, A.A., Bruna, J., Marmioli, P., Cavaletti, G. 2012.** Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): An update. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 82: 51-77.

**Argyriou, A.A., Kyritsis, A.P., Makatsoris, T., Kalofonos, H.P. 2014.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Management and Research*, 6: 135-147.

**Arlt, A., Gehrz, A., Mürkoster, S., Vorndamm, J., Kruse, M.L., Fölsh, U.R., Schafer, H. 2003.** Role of NF- $\kappa$ B and Akt/PI3K in the resistance of pancreatic carcinoma cell lines against gemcitabine-induced cell death. *Oncogene*, 22: 3243-3251.

**Arlt, A., Schafer, H., Kalthoff, H. 2012.** The 'N-factors' in pancreatic cancer: functional relevance of NF- $\kappa$ B, NFAT and Nrf2 in pancreatic cancer. *Oncogenesis*, 1: e35.

**Armstrong, T., Almadrones, L., Gilbert, M.R. 2005.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Oncology Nursing Forum*, 32(2): 305-311.

**Armstrong, T.S., Grisdale, K.A. 2006.** Peripheral neuropathy: Clinical manual for the oncology advanced practice nurse. 2 nd ed., Editörler: Camp-Sorrell, D., Hawkins, R.A., Pittsburgh, PA: Oncology Nursing Society, pp: 909-918.

**Arora, S., Bhardwaj, A., Singh, S., Srivasta, S.K., McClellan, S., Nirodi, C.S., Piazza, G.A., Grizzle, W.E., Owen, L.B., Singh, A.P. 2013.** An undesired effect of chemotherapy: gemcitabine promotes pancreatic cancer cell invasiveness through ROS-dependent, NF- $\kappa$ B- and HIF-1 $\alpha$ -mediated upregulation of CXCR4. *J Biol Chem.*, 288(29): 21197-207.

**Arosio, D., Casagrande, C. 2016.** Advancement in integrin facilitated drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.*, 1(97): 111-43.

**Asadullah, K., Sterry, W., Volk, H.D. 2013.** Interleukin-10 and Psoriasis. *Landes Bioscience*, Austin (TX), 2000-2013.

**Atmaca, E., Aksoy, A. 2009.** Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2): 79-83.

**Auer-Grumbach, M. 2004.** Hereditary sensory neuropathies. *Drugs Today (Barc)*, 40(5): 385-94.

**Austin, P.J., Moalem-Taylor, G. 2010.** The neuro-immune balance in neuropathic pain: Involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines. *Journal of Neuroimmunology*, 229: 26-50.

**Avan, A., Postma, T.J., Ceresa, C., Avan, A., Cavaletti, G., Giovannetti, E., Peters, G.J. 2015.** Platinum-induced neurotoxicity and preventive strategies: past, present, and future. *The Oncologist*, 20: 411-432.

Baeuerle, P.A., Henkel, T. 1994. **Function and activation of NF-kappa B in the immune system.** *Annu Rev Immunol.*, 12: 141-79.

**Baeuerle, P.A., Baichwal, V.R. 1997.** NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv Immunol.*, 65: 111-37.

**Bai, X.C., Lu, D., Liu, A.L., Zhang, Z.M., Li, X.M., Zou, Z.P., Zeng, W.S., Cheng, B.L., Luo, S.Q. 2005.** Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF-kappaB ligand expression in osteoblast. *J Biol Chem.*, 280(17): 17497-506.

**Baldwin A.S. 1996.** The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol.*, 14: 649-83.

**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 Opin Drug Saf*, 10(3): 407-17.

**Banerjee, S., Kaseb, A.O., Wang, Z., Deujan, K., Mohammad, M., Padhye, S., Sarkar, F.H., Mohammad, R.M. 2005a.** Antitumor Activity of Gemcitabine and Oxaliplatin Is Augmented by Thymoquinone in Pancreatic Cancer. *Cancer Res.*, 69(13): 5575-83.

**Banerjee, S., Zhang, Y., Ali, S., Bhuiyan, M., Wang, Z., Chiao, P.J., Philip, P.A., Abbruzzese, J., Sarkar, F.H. 2005b.** Molecular Evidence for Increased Antitumor Activity of Gemcitabine by Genistein In vitro and In vivo Using an Orthotopic Model of Pancreatic Cancer. *Cancer Res.*, 65(19): 9064-72.

**Banerjee, S., Wang, Z., Kong, D., Sarkar, F.H. 2009.** 3, 3'- DIINDOLYLMETHANE ENHANCES CHEMOSENSITIVITY OF MULTIPLE CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS IN PANCREATIC CANCER. *Cancer Res.*, 69(13): 5592-5600.

**Barrera, G. 2012.** Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *ISRN Oncology*, 2012: 137289.

**Barrow-McGee, R., Kishi, N., Joffre, C., Menard, L., Hervieu, A., Bakhouch, B.A., Noval, A.J., Mai, A., Guzman, C., Robbez-Masson, L., Iturrioz, X., Hulit, J., Brennan, C.H., Hart, R., Parker, P.J., Ivaska, J., Kermorgant, S. 2016.** Beta 1-integrin-c-Met cooperation reveals an inside-in survival signalling on autophagy-related endomembranes. *Nature Communications*, 7: 11942.

**Barton, D.L., Wos, E.J. Qin, R., Mattar, B.I., Green, N.B., Lanier, K.S., Bearden III, J.D., Kugler, J.W., Hoff, K.L., Reddy, P.S., Rowland, K.M., Riepl, M., Christensen, B., Loprinzi, C.L. 2011.** A double-blind, placebo-controlled trial of a topical treatment for chemotherapy-induced peripheral neuropathy: NCCTG trial N06CA. *Support Care Cancer*, 19(6): 833-841.

**Bellone, G., Smirne, C., Mauri, F.A., Tonel, E., Carbone, A., Buffolino, A., Dughera, L., Robecchi, A., Pirisi, M., Emanuelli, G. 2006.** Cytokine expression profile in human pancreatic carcinoma cells and in surgical specimens: implications for survival. *Cancer Immunol Immunother.*, 55(6): 684-698.

**Bergh, J.J., Lin, H.Y., Lansing, L., Mohamed, S.N., Davis, F.B., Mousa, S., Davis, P.J. 2005.** Integrin alphaVbeta3 contains a cell surface receptor site for thyroid hormone that is linked to activation of mitogen-activated protein kinase and inductions of angiogenesis. *Endocrinology*, 146(7): 2864-71.

**Bernard, D., Monte, D., Vanderbunder, B., Abbadie, C. 2001.** INVOLVEMENT OF REL/NF-B TRANSCRIPTION FACTORS IN CELLULAR SENESCENCE. *Miami Nature Biotechnology Short Reports The Scientific World*, 1(s3): 67SR.

**Bhagra, A., Rao, R.D. 2007.** Chemotherapy-induced Neuropathy. *Current Oncology Reports*, 9: 290-299.

**Bharali, D.J., Yalcin, M., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2013.** Tetraiodothyroacetic acid-conjugated PLGA nanoparticles: a nanomedicine approach to treat drug-resistant breast cancer. *Nanomedicine(Lond)*, 8(12): doi:10.2217/nmm.12.200.

**Bharti, A.C., Aggarwal, B.B. 2002.** Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy. *Biochem Pharmacol.*, 64(5-6): 883-8.

**Bianchi, M., Maggi, R., Pimpinelli, F., Rubino, T., Parolaro, D., Poli, V., Ciliberto, G., Panerai A.E., Sacerdote, P. 1999.** Presence of a reduced opioid response in interleukin-6 knock out mice. *European Journal of Neuroscience*, 11: 1501-1507.

**Bimonte, S., Leongito, M., Barbieri, A., Vecchio, V.D., Barbieri, M., Albino, V., Piccirillo, M., Amore, A., Giacomo, R.D., Nasto, A., Granata, V., Petrillo, A., Arra, C., Izzo, F. 2015.** Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate and bleomycin on human pancreatic cancer MiaPaca-2 cell growth. *Infectious Agents and Cancer*, 10: 22.

**Bishop, G.G., McPherson, J.A., Sanders, J.M., Hesselbacher, S.E., Feldman, M.J., McNamara, C.A., Gimble, L.W., Powers, E.R., Mousa, S.A., Sarembock, I.J. 2001.** Selective  $\alpha_v\beta_3$ -receptor blockade reduces macrophage infiltration and restenosis after balloon angioplasty in the atherosclerotic rabbit. *Circulation*, 103: 1906-1911.

**Blogowski, W., Deskur, A., Budkowska, M., Salata, D., Madej-Michniewicz, A., Krzysztof, Dabkowski, K., Dolegowska, B., Starzyncka, T. 2014.** Selected cytokines in patients with pancreatic cancer: a preliminary report. *PLoS ONE*, 9(5): e97613.

**Boyle, P., Levin, B., Eds. 2008.** World cancer report 2008. International Agency for Research on cancer (IARC), Geneva. [http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr\\_2008.pdf](http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008.pdf)-(Erişim tarihi: 6.1.2010).

**Brami, C., Bao, T., Deng, G. 2016.** Natural products and complementary therapies for chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 98: 325-324.

**Brewer, J.R., Morrison, G., Dolan, M.E., Fleming, G.F. 2016.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Current status and progress. *Gynecologic Oncology*, 140: 176-183.

**Bridoux, A., Khan, R.A., Chen, C., Cheve, G., Cui, H., Dyskin, E., Yasri, A., Mousa, S.A. 2011.** Design, synthesis, and biological evaluation of bifunctional tyrointegrin inhibitors: new anti-angiogenesis analogs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 26(6): 871-882.

**Brooks, P.C., Montgomery, A.M., Rosenfeld, M., Reisfeld R.A., Hu, T., Klier, G., Cheresch, D.A. 1994a.** Integrin alpha v beta 3 antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. *Cell*, 79(7): 1157-64.

**Brooks, P.C., Clark, R.A., Cheresch, D.A. 1994b.** Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis. *Science*, 264(5158): 569-571.

**Brooks, P.C., Strömblad, S., Klemke, R., Visscher, D., Sarkar, F.H., Cheresch, D.A. 1995.** Antiintegrin  $\alpha\beta_3$  blocks human breast cancer growth and angiogenesis in human skin. *J.Clin. Invest.*, 96:1815-1822.

**Bryant, K.L., Mancias, J.D., Kimmelman, A.C., Der, C.J. 2014.** KRAS: feeding pancreatic cancer proliferation. *Trends Biochem Sci.*, 39(2): 91-100.

**Brzezinski, K. 2012.** Chemotherapy-induced polyneuropathy. Part I. Pathophysiology. *Wspolczesna Onkol.*, 16(1): 72-78.



**Brzustewicz, E., Bryl, E. 2015.** The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis – Practical and potential application of cytokines as biomarkers and targets of personalized therapy. *Cytokine*, 76: 527-536.

**Burriss III, H.A., Moore, M.J., Andersen, J., Green, M.R., Rothenberg, M.L., Modiano, M.R., Cripps, M.C., Portenoy, R.K., Storniola, A.M., Tarassoff, P., Nelson, R., Dorr, F.A., Stephens, C.D., Von Hoff, D.D. 1997.** Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: A randomized trial. *Journal of Clinical Oncology*, 15(6): 2403-2413.

**Burton, A.W., Fanciullo, G.J., Beasley, R.D., Fisch, M.J. 2007.** Chronic Pain in the Cancer Survivor: A New Frontier. *Pain Medicine*, 8(2): 189-198.

**Cai, W., Chen, X. 2006.** Anti-angiogenic cancer therapy based on integrin alphavbeta3 antagonism. *Anticancer Agents Med Chem.*, 6(5): 407-28.

**Calabrese, L.H., Rose-John, S. 2014.** Signalling of IL-6 via the membrane-bound and soluble receptor. *Nature Reviews Rheumatology*, 10: 720-727.

**Callizot, N., Andriambelason, E., Glass, J., Revel, M., Ferro, P., Cirillo, R., Vitte, P.A., Dreano, M. 2008.** Interleukin-6 protects against paclitaxel-cisplatin and vincristine-induced neuropathies without impairing chemotherapeutic activity. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 62(6): 995-1007.

**Canta, A., Pozzi, E., Carozzi, V.A. 2015.** Mitochondrial dysfunction in chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN). *Toxics*, 3: 198-223.

**Carmichael, J., Fink, U., Russell, R.C.G., Spittle, M.F., Harris, A.L., Spiessi, G., Blatter, J. 1996.** Phase II study of gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *British Journal of Cancer*, 73: 101-105.

**Carozzi, V.A., Canta, A., Chiorazzi, A. 2015.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanism?. *Neuroscience Letters*, 596: 90-107.

**Carr, R.M., Fernandez-Zapico, M.E. 2016.** Pancreatic cancer microenvironment, to target or not to target? *EMBO Mol Med.*, 8: 80-82.

**Carter, G.T., Weiss, M.D., Han, J.J., Chance, P.F., England, J.D. 2008.** Charcot-Marie-Tooth disease. *Curr Treat Options Neurol.*, 10(2): 94-102.

**Cascinu, S., Scartozzi, M., Carbonari, G., Pierantoni, C., Verdecchia, L., Mariani, C., Squadroni, M., Antognoli, S., Silva, R.R., Giampieri, R., Berardi, R. 2007.** COX-2 and NF-KB overexpression is common in pancreatic cancer but does not predict for COX-2 inhibitors activity in combination with gemcitabine and oxaliplatin. *American Journal of Clinical Oncology*, 30(5): 526-530.

**Casper, E.S., Green, M.R., Kelsen, D.P., Heelan, R.T., Brown, T.D., Flombaum, C.D., Trochanowski, B., Tarassoff, P.G. 1994.** Phase II trial of gemcitabine (2,2'-difluorodeoxycytidine) in patients with adenocarcinoma of the pancreas. *Invest New Drugs*, 12(1): 29-34.

**Cata, J.P., Weng, H.R., Lee, B.N., Reuben, J.M., Dougherty, P.M. 2006.** Clinical and experimental findings in humans and animals with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *MINERVA ANESTESIOLOGICA*, 72(3): 151-169.

**Cavaletti, G., Marzorati, L., Bogliun, G., Colombo, N., Marzola, M., Pittelli, M.R., Tredici, G. 1992.** Cisplatin-induced peripheral neurotoxicity is dependent on total-dose intensity and single-dose intensity. *Cancer*, 69: 203-207.

**Cavaletti, G., Tredici, G., Marmioli, P., Fabbrica, D., Braga, M. 1994.** Off-treatment course of cisplatin-induced dorsal root ganglia neuropathy in rats. *IN VIVO*, 8(3): 313-316.

**Cavaletti, G., Fabbrica, D., Minoia, C., Frattola, L., Tredici, G. 1998.** Carboplatin toxic effects on the peripheral nervous system of the rat. *Ann Oncol.*, 9(4): 443-7.

**Cavaletti, G., Cavaletti, E., Oggioni, N., Sottani, C., Minoia, C., D'Incalci, M., Zucchetti, M., Marmioli, P., Tredici, G. 2000.** Distribution of paclitaxel within the nervous system of the rat after repeated intravenous administration. *Neurotoxicology*, 21(3): 389-93.

**Cavaletti, G., Tredici, G., Petruccioli, M.G., Donde, E., Tredici, P., Marmioli, P., Minoia, C., Ronchi, A., Bayssas, M., Etienne G.G. 2001.** Effects of different schedules of oxaliplatin treatment on the peripheral nervous system of the rat. *European Journal of Cancer*, 37: 2457-2463.

**Cavaletti, G., Petruccioli, M.G., Marmioli, P., Rigolio, R., Galbiati, S., Zoia, C., Ferrarese, C., Tagliabue, E., Dolci, C., Bayssas, M., Etienne, G.G., Tredici, G. 2002.** Circulating nerve growth factor level changes during oxaliplatin treatment-induced neurotoxicity in the rat. *Anticancer Res.*, 22(6C): 4199-4204.

**Cavaletti, G., Marmioli, P. 2004.** Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Expert Opinion on Drug Safety*, 3(6): 535-546.

**Cavaletti, G., Marmioli, P. 2006.** The role of growth factors in the prevention and treatment of chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity. *Curr Drug Saf.*, 1(1): 35-42.

**Cavaletti, G., Miloso, M., Nicolini, G., Scuteri, A., Tredici, G. 2007.** Emerging role of mitogen-activated protein kinases in peripheral neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 12: 175-194.

**Cavaletti, G., Nicolini, G., Marmioli, P. 2008.** Neurotoxic effects of antineoplastic drugs: the lesson of pre-clinical studies. *Frontiers in Bioscience*, 13: 3506-3524.

**Cavaletti, G., Alberti, P., Marmiroli, P. 2011.** Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity in the era of pharmacogenomics. *Lancet Oncol.*, 12: 1151-61.

**Cece, R., Barajon, I., Tredici, G. 1995.** Cisplatin Induces Apoptosis in SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cell Line. *Anticancer Res.*, 15(3): 777-782.

**Cersosimo, R.J., 1989.** Cisplatin neurotoxicity. *Cancer Treat Rev.*, 16(4): 195-211.

**Chalaris, A., Schmidt-Arras, D., Yamamoto, K., Rose-John, S. 2012.** Interleukin-6 Trans-Signaling and Colonic Cancer Associated with Inflammatory Bowel Disease. *Digestive Diseases*, 30(5): 492-9.

**Chamberlain, M.C. 2010.** Neurotoxicity of Cancer Treatment. *Curr Oncol Rep.*, 12:60-67.

**Chang, G.C., Hsu, S.L., Tsai, J.R., Wu, W.J., Chen, C.Y., Sheu, G.T. 2004.** Extracellular signal-regulated kinase activation and Bcl-2 downregulation mediate apoptosis after gemcitabine treatment partly via a p53-independent pathway. *European Journal of Pharmacology*, 502: 169-183.

**Chanput, W., Mes, J., Vreeburg, R.A., Savelkoul, H.F., Wichers, H.J. 2010.** Transcription profiles of LPS-stimulated THP-1 monocytes and macrophages: a tool to study inflammation modulating effects of food-derived compounds. *Food Funct.* 1(3): 254-61.

**Chaudhry, V., Rowinsky, E.K. Sartorius, S.E., Donehower, R.C., Cornblath, D.R. 1994.** Peripheral Neuropathy from Taxol and Cisplatin Combination Chemotherapy: Clinical and Electrophysiological Studies. *Ann Neurol.*, 35: 304-311.

**Chen, C.C., Manning, A.M. 1995.** Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: a dominant role for NF-kappa B. *Agents Actions Suppl.*, 47: 135-141.

**Chen, F.E., Ghosh, G. 1999.** Regulation of DNA binding by Rel/NF-kB transcription factors: structural views. *Oncogene*, 18: 6845-6852.

**Chen, G., Goeddel, D.V. 2002.** TNF-R1 Signaling: A Beautiful pathway. *Science*, 296: 1634-1635.

**Chen, B., Xu, M., Zhang, H., Wang, J.X., Zheng, P., Gong, L., Wu, G.J., Dai, T. 2013.** Cisplatin-induced non-apoptotic death of pancreatic cancer cells requires mitochondrial cyclophilin-D-p53 signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 437: 526-531.

**Chtourou, Y., Aouey, B., Kebieche, M., Fetoui, H. 2015.** Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat

striatum via suppressing ROS-mediated NF- $\kappa$ B and P53 signaling pathways. *Chem Biol Interact*, 239: 76-86.

**Chuang, S.E., Yeh, P.Y., Lu, Y.S., Lai, G.M., Liao, C.M., Gao, M., Cheng, A.L. 2002.** Basal levels and patterns of anticancer drug-induced activation of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB), and its attenuation by tamoxifen, dexamethasone, and curcumin in carcinoma cells. *Biochem Pharmacol.*, 63(9): 1709-16.

**Chuang, W.J., Shiu, J.H., Chang, Y.T., Chen, C.Y., Chen, C. 2013.** Design of integrin-specific drugs for pancreatic cancer. *Annals of Oncology*, 24(4): iv38-iv121.

**Chung, W.H., Boo, S.H., Chung, M.K., Lee, H.S., Cho, Y.S., Hong, S.H. 2008.** Proapoptotic effects of NF- $\kappa$ B on cisplatin-induced cell death in auditory cell line. *Acta Oto-Laryngologica*, 128(10): 1063-1070.

**Chvalova, K., Brabec, V., Kasparkova, J. 2007.** Mechanism of the formation of DNA-protein cross-links by antitumor cisplatin. *Nucleic Acids Res.*, 35(6): 1812-1821.

**Ciarimboli, G. 2012.** Membrane transporters as mediators of cisplatin effects and side effects. *Scientifica*, <http://dx.doi.org/10.6064/2012/473829>.

**Coleman, P.J., Brashear, K.M., Askew, B.C., Hutchinson, J.H., McVean, C.A., Duong, L.T., Feuston, B.P., Fernandez-Metzler, C., Gentile, M.A., Hartman, G.D., Kimmel, D.B., Leu, C.T., Lipfert, L., Merkle, K., Pennypacker, B., Prueksaritanont, T., Rodan, G.A., Wesolowski G.A., Rodan, S.B., Duggan, M.E. 2004.** Nonpeptide  $\alpha$ v $\beta$ 3 antagonists. Part 11: discovery and preclinical evaluation of potent  $\alpha$ v $\beta$ 3 antagonists for the prevention and treatment of osteoporosis. *J Med Chem.*, 47: 4829-4837.

**Collins, T., Cybulsky, M.I. 2001.** NF-kappaB: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J Clin Invest.*, 107(3): 255-64.

**Colomer, R., Llombart-Cussac, A., Lluch, A., Barnadas, A., Ojeda, B., Caranava, V., Fernandez, Y., Garcia-Conde, J., Alonso, S., Montero, Hornedo, J., Guillem, V. 2004.** Biweekly paclitaxel plus gemcitabine in advanced breast cancer: phase II trial and predictive value of HER2 extracellular domain. *Annals of Oncology*, 15: 201-206.

**Colucci, G., Giuliani, F., Gebbia, V., Biglietto, M., Rabitti, P., Uomo, G., Cigolari, S., Testa, A., Maiello, E., Lopez, M. 2002.** Gemcitabine alone or with cisplatin for the treatment of patients with locally advanced and/or metastatic pancreatic carcinoma. *Cancer*, 94: 902-10.

**Colucci, G., Labianca, R., Costanzo, F.D., Gebbia, V., Carteni, G., Massidda, B., Dapretto, E., Manzione, L., Piazza, E., Sannicola, M., Ciaparrone, M., Cavanna, L., Giuliani, F., Maiello, E., Testa, A., Pederzoli, P., Falconi, M., Gallo, C., Maio, M.D., Perrone, F. 2010.** Randomized Phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with single-agent gemcitabine as first-line treatment of patients with advanced pancreatic cancer: The GIP-1 study. *Journal of Clinical Oncology*, 28(10): 1645-1651.

- Conroy, T.C., Desseigne, F., Ychou, M., Bouche, O., Guimbaud, R., Becouarn, Y., Adenis, A., Raoul, J.L., Gourgou-Bourgade, S., Fouchardiere, C., Bennouna, J., Bachet, J.B., Khemissa-Akouz, F., Pere-Verge, D., Delbaldo, C., Assenat, E., Chauffert, B., Michel, P., Montoto-Grillot, C., Ducreux, M., for the Groupe Tumeurs of Unicancer and the PRODIGE Intergroup. 2011. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N ENGL J MED*, 364(19): 1817-25.
- Contassot, E., Beer, H.D., French, L.E. 2012. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly.*, 142: w13590.
- Copper, C.R., Chay, C.H., Pienta, K.J. 2002. The role of  $\alpha\beta3$  in prostate cancer progression. *Neoplasia*, 4(3): 191-194.
- Copray, J.C., Mantingh, I., Brouwer, N., Biber, K., Küst, B.M., Liem, R.S., Huitinga, I., Tilders, F.J., Van Dam, A.M., Boddeke, H.W. 2001. Expression of interleukin-1 beta in rat dorsal root ganglia. *J Neuroimmunol.*, 118(2): 203-11.
- Costigan, M., Moss, A., Latremoliere, A., Johnston, C., Verma-Gandhu, M., Herbert, T.A., Barrett, L. Brenner, G.Y. Vardeh, D., Woolf, C.J., Fitzgerald, M. 2009. T-cell infiltration and signaling in the adult dorsal spinal cord is a major contributor to neuropathic pain-like hypersensitivity. *J Neurosci.*, 29(46): 14415-22.
- Courtois, G., Gilmore, T.D. 2006. Mutations in the NF- $\kappa$ B signaling pathway: implications for human disease. *Oncogene*, 25: 6831-6843.
- Cui, Y., Brosnan, J.A., Blackford, A.L., Sur, S., Hruban, R.H., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Maitra, A., Diaz, L.A., Iacobuzio-Donahue, C.A., Eshleman, J.R. 2012. Genetically defined subsets of human pancreatic cancer show unique *in vitro* chemosensitivity. *Clin Cancer Res.*, 18(23): 6519-30.
- Cully, M. 2014. Targeting IL-17 in pancreatic cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(7): 493.
- Dang, C.V. 1999. C-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism. *Mol Cell Biol*, 19(1): 1-11.
- Davies, A.M., Chansky, K., Lara, P.N., Gumerlock, P.H., Crowley, J., Albain, K.S., Vogel S.J. Gandara, D.R. 2009. Bortezomib plus gemcitabine/carboplatin as first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer: A phase II Southwest Oncology Group study (S0339). *J Thorac Oncol.*, 4(1): 87-92.
- Davis, F.B., Tang, H.Y., Shih, A., Keating, T., Lansing, L., Herbergs, A., Fenstermaker, R.A., Mousa, A., Mousa, S.A., Davis, P.J., Lin, H.Y. 2006. Acting via a cell surface receptor, thyroid hormone is a growth factor for glioma cells. *Cancer Res.*, 66(14): 7270-7275.

**Davis, P.J., Davis, F.B., Mousa, S.A., Luidens, M.K., Lin, H.Y. 2011.** Membrane receptor for thyroid hormone: physiologic and pharmacologic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 51: 99-115.

**Davis, P.J., Lin, H.J., Sudha, T., Yalcin, M., Tang, H.J., Hercbergs, A., Leith, J.T., Luidens, M.K., Ashur-Fabian, O., Incerpi, S., Mousa, S.A. 2014.** Nanotetrac targets integrin  $\alpha\beta 3$  on tumor cells to disorder cell defense pathways and block angiogenesis. *Onco Targets Ther.*, 7: 1619-1624.

**Davis, P.J., Glinsky, G.V., Lin, H.Y., Leith, J.T., Hercbergs, A., Tang, H.Y., Ashur-Fabian, O., Incerpi, S., Mousa, S.A. 2015.** Cancer cell gene expression modulated from plasma membrane integrin  $\alpha\beta 3$  by thyroid hormone and nanoparticulate tetrac. *Front Endocrinol (Lausanne).*, 5: 240.

**Davis, P.J., Goglia, F., Leonard, J.L. 2016.** Nongenomic actions of thyroid hormone. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 12(2): 111-121.

**Day, Y.J., Liou, J.T., Lee, C.M., Lin, Y.C., Mao, C.C., Chou, A.H., Liao, C.C., Hee, H.C. 2014.** Lack of interleukin-17 leads to a modulated micro-environment and amelioration of mechanical hypersensitivity after peripheral nerve injury in mice. *Pain*, 155(7): 1293-302.

**De Santis, S., Pace, A., Bove, L., Cognetti, F., Properzi, F., Fiore, M., Triaca, V., Savarese, A., Simone, M.D., Jandolo, B., Manzione, L., Aloe, L. 2000.** Patients treated with antitumor drugs displaying neurological deficits are characterized by a low circulating level of nerve growth factor. *Clinical Cancer Research*, 6: 90-95.

**DeLeo, J.A., Colburn R.W., Nichols, M., Malhotra, A. 1996.** Interleukin-6-mediated hyperalgesia/allodynia and increased spinal IL-6 expression in a rat mononeuropathy model. *J Interferon Cytokine Res.* 16(9): 695-700.

**Deng-Bryant, Y., Singh, I.N., Carrico, K.M., Hall, E.D. 2008.** Neuroprotective effects of tempol, a catalytic scavenger of peroxynitrite-derived free radicals, in a mouse traumatic brain injury model. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 28: 1114-1126.

**Deng, G.E., Frenkel, M., Cohen, L., Cassileth, B.R., Abrams, D.I., Capodice, J.L., Courneya, K.S., Dryden, T., Hanser, S., Kumar, N., Labriola, D., Wardell, D.W., Sagar, S. 2009.** Evidence-based clinical practice guidelines for integrative oncology. Complementary therapies and botanicals. *Journal of the society for integrative oncology*, 7(3): 85-120.

**Desgrosellier, J.S., Barnes, L.A., Shields, D.J., Huang, M., Lau, S.K., Prevost, N., Tarin, D., Shattill, S.J., Cheresch, D.A. 2009.** An integrin  $\alpha(v)\beta(3)$ -c-Src oncogenic unit promotes anchorage-independence and tumor progression. *Nat Med.*, 15(10): 1163-9.

- Desgrosellier, J.S., Cheresh, D.A. 2010.** Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*, 10(1): 9-22.
- di Magliano, M.P., Logsdon, C.D. 2013.** Roles for KRAS in pancreatic tumor development and progression. *Gastroenterology*, 144(6): 1220-1229.
- DiDonato, J., Mercurio, F., Rosette, C., Wu-Li, J., Suyang, H., Ghosh, S., Karin, M. 1996.** Mapping of the Inducible I $\kappa$ B Phosphorylation Sites That Signal Its Ubiquitination and Degradation. *Molecular and Cellular Biology*, 16(4): 1295-1304.
- Dina, O.A., Parada, C.A., Yeh, J., Chen, X., McCarter, G.C., Levine, J.D. 2004.** Integrin signaling in inflammatory and neuropathic pain in the rat. *Eur J Neurosci.*, 19(3): 634-42.
- Dina, O.A., Hucho, T., Yeh, J., Malik-Hall, M., Reichling, D.B., Levine, J.D. 2005.** Primary afferent second messenger cascades interact with specific integrin subunits in producing inflammatory hyperalgesia. *Pain*, 115(1-2): 191-203.
- Dinarello, C.A. 2004.** Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol.*, 4(4): 378-85.
- Dinarello, C.A. 2009.** Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annu. Rev. Immunol.*, 27: 519-50.
- Dinarello, C.A. 2011.** Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 117(14): 3720-32.
- Diplock, A. 1988.** Healthy lifestyles nutrition and physical activity: antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59 p., Belgium.
- Dormann, A.J., Grünewald, T., Wigglinghaus, B., Huchzermeyer, H. 1998.** Gemcitabine-associated autonomic neuropathy. *The Lancet*, 351(28): 644.
- Driessler, F., Venstrom, K., Sabat, R., Asadullah, K., Schottelius, A.J. 2004.** Molecular mechanism of interleukin-10 mediated inhibition of NF- $\kappa$ B activity: a role for p50. *Clin Exp Immunol.*, 135: 64-73.
- Drory, V.E., Lev, D., Groozman, G.B., Gutmann, M., Klausner, J.M. 1998.** Neurotoxicity of isolated limb perfusion with tumor necrosis factor. *Journal of the Neurological Sciences*, 158(1): 1-4.
- Du, J., Olney, K., Schrock, H., Moser, J., Wagner, B., Sibenaller, Z., Buettner, G., Cullen, J. 2010.** Tempol inhibits pancreatic cancer cell growth. *Free Radical Biology and Medicine*, 49: S58.
- Du, F., Garg, A.V., Kosar, K., Majumder, S., Kugler, D.G., Mir, G.H., Maggio, M., Henkel, M., Lacy-Hulbert, A., McGeachy, M.J. 2016.** Inflammatory Th17 cells express integrin  $\alpha_v\beta_3$  for pathogenic function, *Cell Reports*, 16: 1339-1351.

**Dubovy, P., Jancalek, R., Klusakova, I., Svizenska, I., Pejchalova, K. 2006.** Intra- and extraneuronal changes of immunofluorescence staining for TNF-alpha and TNFR1 in the dorsal root ganglia of rat peripheral neuropathic pain models. *Cell Mol Neurobiol.*, 26(7-8): 1205-17.

**Dunlap, B., Paice, J.A. 2006.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A need for standardization in measurement. *The Journal of Supportive Oncology*, 4(8): 398-9.

**Dworkin, R.H., O'Connor, A.B., Backonja, M., Farrar, J.T., Finnerup, N.B., Jensen, T.S., Kalso, E.A., Loeser, J.D., Miaskowski, C., Nurmikko, T.J., Portenoy, R.K., Rice, A.S.C., Stacey, B.R., Treede, R.D., Turk, D.C., Wallace, M.S. 2007.** Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain*, 132: 237-251.

**Dzagnidze, A., Katsarava, Z., Makhalova, J., Liedert, B., Yoon, M.S., Kaube, H., Limmroth, V., Thomale, J. 2007.** *The Journal of Neuroscience*, 27(35): 9451-9457.

**Empl, M., Renaud, S., Erne, B., Fuhr, P., Straube, A., Schaeren-Wiemers, N., Steck, A.J. 2001.** TNF-alpha expression in painful and nonpainful neuropathies. *Neurology*, 56(10): 1371-7.

**Erdreich-Epstein, A., Shimada, H., Groshen, S., Liu, M., Metelitsa, L.S., Kim, K.S., Stins, M.F., Seeger, R.C., Durden, D.L. 2000.** *Cancer Research*, 60: 712-721.

**Erker, L., Schubert, R., Yakushiji, H., Barlow, C., Larson, D., Mitchell, J.B., Wynshaw-Boris, A. 2005.** Cancer chemoprevention by the antioxidant tempol acts partially via the p53 tumor suppressor. *Hum Mol Genet.*, 14(12): 1699-708.

**Erta, M., Quintana, A., Hidalgo, J. 2012.** Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *International Journal of Biological Sciences*, 8(9): 1254-1266.

**Evangelista, S. 2015.** Novel therapeutics in the field of capsaicin and pain. *Expert Rev Pharmacol.*, 8(4): 373-375.

**Fallon, M.T. 2013.** Neuropathic pain in cancer. *British Journal of Anaesthesia*, 111(1): 105-11.

**Fallon, M.T., Storey, D.J., Krishan, A., Weir, C.J., Mitchell, R., Fleetwood-Walker, S.M., Scott, A.C., Colvin, L.A. 2015.** Cancer treatment-related neuropathic pain: proof of concept study with menthol-a TRPM8 agonist. *Support Care Cancer*, 23: 2769-2777.

**Felding-Habermann, B., O'Toole, T.E., Smith, J.W., Fransvea, E., Ruggeri, Z.M., Ginsberg, M.H., Hughes, P.E., Pampori, N., Shattil, S.J., Saven, A., Mueller, B.M. 2001.** Integrin activation controls metastasis in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci.*, 98(4): 1853-1858.



- Felding-Habermann, B., Fransvea, E., O'Toole, T.E., Manzuk, L., Faha, B., Hensler, M. 2002.** Involvement of tumor cell integrin  $\alpha v \beta 3$  in hematogenous metastasis of human melanoma cells. *Clinical and Experimental Metastasis*, 19: 427.
- Ferreti, S., Bonneau, O., Dubois, G.R., Jones, C.E., Trifileff, A. 2003.** IL-17, produced by lymphocytes and neutrophils, is a necessary for lipopolysaccharide-induced airway neutrophilia: IL-15 as a possible trigger. *J Immunol.*, 170(4): 2106-12.
- Fidanboyu, M., Griffiths, L.A., Flatters, S.J.L. 2011.** Global Inhibition of Reactive Oxygen Species (ROS) Inhibits Paclitaxel-Induced Painful Peripheral Neuropathy. *PLoS ONE*, 6(9): e25212.
- Fink, D., Howell, S.B. 2000.** How does cisplatin kill cells?: Platinum-based drugs in cancer therapy, Ed: Kelland, L.R., Farrell, N., Humana Press: Totowa NJ, pp: 149-167.
- Fioranelli, M., Rocchia, M.G. 2014.** Twenty-five years of studies and trials for the therapeutic application of IL-10 immunomodulating properties. From high doses administration to low dose medicine new paradigm. *J Integr Cardiol.*, DOI: 10.15761/JIC.1000102.
- Fischer, S.J., Podratz, J.L., Windebank, A.J. 2001.** Nerve growth factor rescue of cisplatin neurotoxicity is mediated through the high affinity receptor: studies in PC12 cells and p75 null mouse dorsal root ganglia. *Neuroscience Letters*, 308(1): 1-4.
- Flatters, S.J., Xiao, W.H., Bennett, G.J. 2006.** Acetyl-L-carnitine prevents and reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy. *Neurosci Lett.*, 397(3): 219-23.
- Forester, S.C., Lambert, J.D. 2011.** Antioxidant effects of green tea. *Mol Nutr Food Res.*, 55(6): 844-854.
- Fossa, S.D., de Wit, R., Roberts, J.T., Wilkinson, P.M., de Mulder, P.H., Mead, G.M., Cook, P., de Prijck, L., Stenning, S., Aaronson, N.K., Bottomley, A., Collette, L., European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group 30941; Medical Research Council Testicular Cancer Study Group TE20. 2003.** Quality of life in good prognosis patients with metastatic germ cell cancer: a prospective study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group/Medical Research Council Testicular Cancer Study Group (30941/TE20). *J Clin Oncol.*, 21(6): 1107-18.
- Fregnan, F., Muratori, L., Simoes, A.R., Giacobini-Robecchi, M.G., Raimondo, S. 2012.** Role of inflammatory cytokines in peripheral nerve injury. *Neural Regeneration Research*, 7: 1-8.
- Friess, H., Guo, X.Z., Nan, B.C., Kleeff, J. Büchler, M.W. 1999.** Growth factors and cytokines in pancreatic carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 880: 110-21.

- Fujioka, S., Sclabas, G.M., Schmidt, C., Frederick, W.A., Dong, Q.G., Abbruzzese, J.L., Evans, D.B., Baker, C., Chiano, P.J. 2003.** Function of nuclear factor kappaB in pancreatic cancer metastasis. *Clin Cancer Res.*, 9(1): 346-54.
- Furuta, T., Ueda, T., Aune, G., Sarasin, A., Kraemer, K.H., Pommier, Y. 2002.** Transcription-coupled nucleotide excision repair as a determinant of cisplatin sensitivity of human cells. *Cancer Res.*, 62(17): 4899-902.
- Gaffen, S.L. 2009.** Role of IL-17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep.*, 11(5): 365-370.
- Gahmberg, C.G., Fagerholm, S.C., Nurmi, S.M., Chavakis, T., Marchesan, S., Gronholm, M. 2009.** Regulation of integrin activity and signaling. *Biochem Biophys Acta*, 1790: 431-4.
- Gahring, L.C., Carlson, N.G., Kulmar, R.A., Rogers, S.W. 1996.** Neuronal expression of tumor necrosis factor alpha in the murine brain. *Neuroimmunomodulation*, 3(5): 289-303.
- Gao, Y.J., Ji, R.R. 2010.** Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol Ther.*, 126(1): 56-68.
- Gariboldi, M.B., Lucchi, S., Caserini, C., Supino, R., Oliva, C., Monti, E. 1998.** ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF THE PIPERIDINE NITROXIDE TEMPOL ON NEOPLASTIC AND NONNEOPLASTIC MAMMALIAN CELL LINES. *Free Radical Biology & Medicine*, 24(6): 913-923.
- Gariboldi, M.B., Ravizza, R., Petterino, C., Castagnaro, M., Finocchiaro, G., Monti, E. 2003.** Study of in vitro and in vivo effects of the piperidine nitroxide Tempol—a potential new therapeutic agent for gliomas. *European Journal of Cancer*, 39: 829-837.
- Gariboldi, M.B., Terni, F., Ravizza, R., Meschini, S., Marra, M., Condello, M., Arancia, G., Monti, E. 2006.** The nitroxide Tempol modulates anthracycline resistance in breast cancer cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 40: 1409-1418.
- George, A., Schmidt, C., Weishaupt, A., Toyka, K.V., Sommer, C. 1999.** Serial determination of tumor necrosis factor-alpha content in rat sciatic nerve after chronic constriction injury. *Exp Neurol.*, 160(1): 124-32.
- George, A., Marziniak, M., Schafers, M., Toyka, K.V., Sommer, C. 2000.** Thalidomide treatment in chronic constrictive neuropathy decreases endoneurial tumor necrosis factor-alpha, increases interleukin-10 and has long-term effects on spinal cord dorsal horn met-enkephalin. *Pain*, 88(3): 267-75.
- George, A., Buehl, A., Sommer, C. 2005.** Tumor necrosis factor receptor 1 and 2 proteins are differentially regulated during Wallerian degeneration of mouse sciatic nerve. *Experimental Neurology*, 192(1): 163-166.

**Ghosh, S., May, M.J., Kopp, E.B. 1998.** NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.*, 16: 225-60.

**Gilbert, M.R. 1998.** The neurotoxicity of chemotherapy. *The Neurologist*, 4:43-53.

**Gill, J.S., Windebank, A.J. 1998.** Cisplatin-induced apoptosis in rat dorsal root ganglion neurons is associated with attempted entry into the cell cycle. *The Journal of Clinical Investigation*, 101: 2842-2850.

**Gilmore, T.D. 2006.** Introduction to NF-kB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25: 6680-6684.

**Gilmore, T.D., Herscovitch, M., 2006.** Inhibitors of NF-kB signaling: 785 and counting. *Oncogene*, 25: 6887-6899.

**Gladson, C.L., Hancock, S., Arnold, M.M., Faye-Petersen, O.M., Castleberry, R.P., Kelly, D.R. 1996.** Stage-specific expression on integrin  $\alpha\beta3$  in neuroblastic tumors. *American Journal of Pathology*, 148(5): 1423-1434.

**Glardini, A., Avilla, R.L., Oggioni, N., Rodriguez-Menendez, V., Bossi, M., Canta, A., Cavaletti, G., Kirschner, D.A. 2012.** Myelin structure is unaltered in chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *NeuroToxicology*, 33: 1-7.

**Glendenning, J.L., Barbachano, Y., Norman, A.R., Dearnaley, D.P., Horwich, A., Huddart, R.A. 2010.** Long-Term Neurologic and Peripheral Vascular Toxicity After Chemotherapy Treatment of Testicular Cancer. *Cancer.*, 116: 2322-31.

**Glinskii, A.B., Glinsky, G.V., Lin, H.Y., Tang, H.Y., Sun, M., Davis, F.B., Luidens, M.K., Mousa, S.A., Herbergs, A.H., Davis, P.J. 2009.** Modification of survival pathway gene expression in human breast cancer cells by tetraiodothyroacetic acid (tetrac). *Cell Cycle*, 8(21): 3562-3570.

**Goldstein, D., Von Hoff, D.D., Moore, M., Greeno, E., Tortora, G., Ramanathan, R.K., Macarulla, T., Helen, L., Pilot, R., Ferrara, S., Lu, B. 2016.** Development of peripheral neuropathy and its association with survival during treatment with nab-paclitaxel plus gemcitabine for patients with metastatic adenocarcinoma of the pancreas: A subset analysis from a randomised phase III trial (MPACT). *European Journal of Cancer*, 52: 85-91.

**Gonzalez, E., Peterson, A., Malley, S., Daniel, M., Lambert, D., Kosofsky, M., Vizzard, M.A. 2015.** The effects of tempol on cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat micturition reflexes. *Scientific World Journal*, 2015: 545048.

**Goswami, S. 2013.** Importance of integrin receptors in the field of pharmaceutical & medical science. *Advances in Biological Chemistry*, 3(2): 224-252.

**Gray, P.W., Goeddel, D.V. 1982.** Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, 298(5877): 859-63.

**Gregg, R.W., Molepo, J.M., Monpetit, V.J., Mikael, N.Z., Redmond, D., Gadia, M., Stewart, D.J. 1992.** Cisplatin neurotoxicity: the relationship between dosage, time, and platinum concentration in neurologic tissues, and morphologic evidence of toxicity. *J Clin Oncol.*, 10(5): 795-803.

**Grisold, W., Cavaletti, G., Windebank, A.J. 2012.** Peripheral neuropathies from chemotherapeutics and targeted agents: diagnosis, treatment, and prevention. *Neuro-Oncology*, 14: iv45-iv54.

**Grolleau, F., Gamelin, L., Boisdrion-Celle, M., Lapied, B., Pelhate, M., Gamelin, E. 2001.** A possible explanation for a neurotoxic effect of the anticancer agent oxaliplatin on neuronal voltage-gated sodium channels. *J Neurophysiol*, 85(5): 2293-7.

**Grunberg, S.M., Sonka, S., Stevenson, L.L., Muggia, F.M. 1989.** Progressive paresthesias after cessation of therapy with very high-dose cisplatin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 25(1): 62-64.

**Gui, W.S., Wei, X., Mai, C.L., Murugan, M., Wu, L.J., Xin, W.J., Zhou, L.J., Liu, X.G. 2016.** Interleukin-1 $\beta$  overproduction is a common cause for neuropathic pain, memory deficit, and depression following peripheral nerve injury in rodents. *Molecular Pain*, 12: 1-15.

**Guminski, A.D., Balleine, R.L., Chiew, Y.E., Webster, L.R., Tapner, M., Farrell, G.C., Harnett, P.R., Defazio, A. 2006.** MRP2 (ABCC2) and cisplatin sensitivity in hepatocytes and human ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*, 100(2): 239-46.

**Gupta, S., Hastak, K., Afaq, F., Ahmad, N., Mukhtar, H. 2004.** Essential role of caspases in epigallocatechin-3-gallate-mediated inhibition of nuclear factor kappa B and induction of apoptosis. *Oncogene*, 23(14): 2507-22.

**Gupta, S.C., Sundaram, C., Reuter, S., Aggarwal, B.B. 2010.** Inhibiting NF- $\kappa$ B Activation by Small Molecules As a Therapeutic Strategy. *Biochim Biophys Acta.*, 1799(10-12): 775-787.

**Guptarak, J., Wanchoo, S., Durham-Lee, J., Wu, Y., Zivadinovic, D., Paulucci-Holthausen, A., Nesic, O. 2013.** Inhibition of IL-6 signaling: a novel therapeutic approach to treating spinal cord injury pain. *Pain*, 154(7): 1115-28.

**Hah, S.S, Stivers, K.M., de Vere White, R.W., Henderson, P.T. 2006.** Kinetics of carboplatin-DNA binding in genomic DNA and bladder cancer cells as determined by accelerator mass spectrometry. *ChemRes Toxicol.*, 19: 622-6.

**Han, X., Li, J., Brasky, T.M., Xun, P., Stevens, J., White, E., Gammon, M.D., He, K. 2013.** Antioxidant intake and pancreatic cancer risk: the vitamins and lifestyle (vital) study. *Cancer*, 119(7): 1314-1320.

**Harder, H.C., Rosenberg, B. 1970.** Inhibitory effects of anti-tumor platinum compounds on DNA, RNA and protein syntheses in mammalian cells *in vitro*. *International Journal of Cancer*, 6(2): 207-216.

**Hartmann, J.T., Lipp, H.P. 2003.** Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother.*, 4(6): 889-901.

**Hasko, G., Szabo, C., Nemeth, Z.H., Kvetan, V., Pastores, S.M., Vizi, E.S. 1996.** Adenosine receptor agonists differentially regulate IL-10, TNF-alpha, and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages and in endotoxemic mice. *J Immunol.*, 157(10): 4634-40.

**Hausheer, F.H., Schilsky, R.L., Bain, S., Berghorn, E.J. Lieberman, F. 2006.** Diagnosis, Management, and Evaluation of Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy. *Semin Oncol.*, 33(1): 15-49.

**Hayata, K., Iwahashi, M., Ojima, T., Katsuda, M., Iida, T., Nakamori, M., Ueda, K., Nakamura, M., Miyazawa, M., Tsuji, T., Yamaue, H. 2013.** Inhibition of IL-17A in tumor microenvironment augments cytotoxicity of tumor-infiltrating lymphocytes in tumor-bearing mice. *PLOS ONE*, 8(1): e53131.

**Hayden, M.S., Ghosh, S. 2004.** Signaling to NF- $\kappa$ B. *Genes & Development*, 18: 2195-2224.

**He, B., You, L., Uematsu, K., Zang, K., Xu, Z., Lee, A.Y., Costello, J.F., McCormick, F., Jablons, D.M. 2003.** SOCS-3 is frequently silenced by hypermethylation and suppresses cell growth in human lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 100(24): 14133-8.

**Heinemann, V., Wilke, H., Mergenthaler, H.G., Clemens, M., König, H., Illiger, H.J., Arning, M., Schalhorn, A., Possinger, K., Fink, U. 2000.** Gemcitabine and cisplatin in the treatment of advanced or metastatic pancreatic cancer. *Annals of Oncology*, 11: 1399-1403.

**Heinemann, V., Quietzsch, D., Gieseler, F., Gonnermann, M., Schönekas, H., Rost, A., Neuhaus, H., Haag, C., Clemens, M., Heinrich, B., Vehling-Kaiser, U., Fuchs, M., Fleckenstein, D., Gesierich, W., Uthgenannt, D., Einsele, H., Holstege, A., Hinke, A., Schalhorn, A., Wilkowski, R. 2006.** Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol.*, 24(24): 3946-52.

**Heinemann, V., Boeck, S., Hinke, A., Labianca, R., Louvet, C. 2008.** Meta-analysis of randomized trials: evaluation of benefit from gemcitabine-based combination chemotherapy applied in advanced pancreatic cancer. *BMC Cancer*, 8:82.

**Heinrich, P.C., Behrmann, I., Müller-Newen, G., Schaper, F., Graeve, L. 1998.** Interleukin-6 type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem. J.*, 334: 297-314.

**Hershman, D.L., Lacchetti, C., Dworkin, R.H., Smith, E.M.L., Bleeker, J., Cavaletti, G., Chauhan, C., Gavin, P., Antoinette, L., Lustberg, M.B., Paice, J., Schneider, B., Smith, M.L., Smith, T., Terstriep, S., Wagner-Johnston, N., Bak, K., 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*, 32(18): 1941-1967.

**Hilkens, P.H.E., van den Bent, M.J. 1997.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J. Periph. Nerv. Syst.*, 2: 350-361.

**Hirota, H., Kiyama, H., Kishimoto, T., Taga, T. 1996.** Accelerated Nerve Regeneration in Mice by upregulated expression of interleukin (IL) 6 and IL-6 receptor after trauma. *J Exp Med.*, 183: 2627–2634.

**Hoffmann, S., Spitkovsky, D., Radicella, P., Epe, B., Wiesner, R.J., 2003.** Reactive oxygen species derived from the mitochondrial respiratory chain are not responsible for the basal levels of oxidative base modifications observed in nuclear DNA of mammalian cells. *Free Radic Biol Med.*, 36(6): 765-73.

**Hoffmann, J., Junker, H., Schmieder, A., Venz, S., Brandt, R., Multhoff, G., Falk, W., Radons, J. 2011.** EGCG downregulates IL-1RI expression and suppresses IL-1-induced tumorigenic factors in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Biochemical Pharmacology*, 82: 1153-1162.

**Holmes, J., Stanko, J., Varchenko, M., Ding, H., Madden, V.J., Bagnell, C.R., Wyrick, S.D., Chaney, S.G. 1998.** Comparative neurotoxicity of oxaliplatin, cisplatin, and ormaplatin in a Wistar rat model.

**Hood, J.D., Cheresch, D.A. 2002.** Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer*, 2(2): 91-100.

**Horiuchi, T., Uwagawa, T., Shirai, Y., Saito, N., Iwase, R., Haruki, K., Shiba, H., Ohashi, T., Yanaga, K. 2016.** New treatment strategy with NF- $\kappa$ B inhibitor for pancreatic cancer. *Journal of Surgical Research*, 206(1): 1-8.

**Hosotani, R., Kawaguchi, M., Masui, T., Koshiha, T., Ida, J., Fujimoto, K., Wada, M., Doi, R., Imamura, M. 2002.** Expression of integrin  $\alpha$ v $\beta$ 3 in pancreatic carcinoma: relation to MMP-2 activation and lymph node metastasis. *Pancreas*, 25(2): e30-e35.

**Hu, P., McLachlan, E.M. 2002.** Macrophage and lymphocyte invasion of dorsal root ganglia after peripheral nerve lesions in the rat. *Neuroscience*, 112(1): 22-38.

**Hu, X., Li, W.P., Meng, C., Ivashkiv, L.B. 2003.** Inhibition of IFN- $\gamma$  signaling by glucocorticoids. *J Immunol.*, 170(9): 4833-9.

**Hu, X., Ivashkiv, L.B. 2009.** Cross-regulation of signaling pathways by interferon- $\gamma$ : implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*, 31(4): 539-50.

- Hu, Y., Shen, F., Crellin, N.K., Ouyang, W. 2011.** The IL-17 pathway as a major therapeutic target in autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci.*, 1217: 60-76.
- Huang, H., Zhu, L., Reid, B.R., Drobny, G.P., Hopkins, P.B. 1995.** Solution structure of a cisplatin-induced DNA interstrand cross-link. *Science*, 270(5243): 1842-5.
- Huang, D., Fang, J., Luo, G. 2016.** Meta-analysis of gemcitabine and cisplatin combination chemotherapy versus gemcitabine alone for pancreatic cancer. *J Can Res Ther.*, 12: 104-108.
- Hucho, T., Levine, J.D. 2007.** Signaling pathways in sensitization: toward a nociceptor cell biology. *Neuron*, 55: 365-376.
- Hughes, R.A.C. 2002.** Peripheral neuropathy. *BMJ.*, 324: 466-469.
- Humphries, M.J., 2000.** Integrin structure. *Biochemical Society Transactions*, 28(4): 311-340.
- Hunt, D., Raivich, G., Anderson, P.N. 2012.** Activating transcription factor 3 and the nervous system. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5(7): 1-17.
- Hunter, C.A., Jones, S.A. 2015.** IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nature Immunology*, 16: 448-457.
- Husain, K., Francois, R.A., Yamauchi, T., Perez, M., Sebti, S.M., Malafa, M.P. 2011.** Vitamin E  $\delta$ -Tocotrienol Augments the Antitumor Activity of Gemcitabine and Suppresses Constitutive NF- $\kappa$ B Activation in Pancreatic Cancer. *Mol Cancer Ther.*, 10(12): 2363-72.
- Hussein, D., Mo, H. 2009.** d- $\delta$ -Tocotrienol-mediated suppression of the proliferation of human PANC-1, MIA PaCa-2, and BxPC-3 pancreatic carcinoma cells. *Pancreas*, 38(4): e124-36.
- Hsu, A.R., Veeravagu, A., Cai, W., Hou, L.C, Tse, V., Chen, X. 2007.** Integrin alpha v beta 3 antagonists for anti-angiogenic cancer treatment. *Recent Pat Anticancer Drug Discov.*, 2(2): 143-58.
- Hynes, R.O. 2002.** Integrins: Bidirectional allosteric signaling machines. *Cell*, 110: 673-687.
- Ignatowski, T.A., Covey, W.C., Knight, P.R., Severin, C.M., Nickola, T.J., Spengler, R.N. 1999.** Brain-derived TNF $\alpha$  mediates neuropathic pain. *Brain Research*, 841: 70-77.
- Inagaki-Ohara, Kondo, T., Ito, M., Yoshimura, A. 2013.** SOCS, inflammation, and cancer. *JAK-STAT*, 2(3): e24053.

- Inagaki-Ohara, K., Mayuzumi, H., Kato, S., Minokoshi, Y., Otsuba, T., Kawamura, Y.I., Dohi, T., Matsuzaki, G., Yoshimura, A. 2014.** Enhancement of leptin receptor signaling by SOCS3 deficiency induces development of gastric tumors in mice. *Oncogene*, 33(1): 74-84.
- Ip, V., Liu, J.J., Mercer, J.F., McKeage, M.J. 2010.** Differential expression of ATP7A, ATP7B and CTR1 in adult rat dorsal root ganglion tissue. *Mol Pain*, 6:53.
- Ishida, S., Lee, J., Thiele, D.J., Herskowitz, I. 2002.** Uptake of the anticancer drug cisplatin mediated by the copper transporter Ctr1 in yeast and mammals. *Proc Natl Acad Sci.*, 99(22): 14298-14302.
- Ivanenkov, Y.A., Balakin, K., Lavrovsky, Y. 2011.** Small Molecule Inhibitors of NF- $\kappa$ B and JAK/STAT Signal Transduction Pathways as Promising Anti-Inflammatory Therapeutics. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(1): 55-78.
- Iwahori, K., Serada, S., Fujimoto, M., Nomura, S., Osaki, T., Lee, C.M., Mizuguchi, H., Takahashi, T., Ripley, B., Okumura, M., Kawase, I., Kishimoto, T., Naka, T. 2011.** Overexpression of SOCS3 exhibits preclinical antitumor activity against malignant pleural mesothelioma. *Int J Cancer*, 129(4): 1005-17.
- Izycki, D., Niezgodna, A.A., Kazmierczak, M., Piorunek, T., Izycka, N., Karaszewska, B., Nowak-Markwitz, E. 2016.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy-diagnosis, evolution and treatment. *Ginekologia Polska*, 87(7): 516-521.
- Jacobs, J.M. 1978.** Vascular Permeability and Neurotoxicity. *Environmental Health Perspectives*, 26: 107-116.
- Jaggi, A.S., Singh, N. 2012.** Mechanisms in cancer-chemotherapeutic drugs-induced peripheral neuropathy. *Toxicology*, 291: 1-9.
- Jamieson, E.R., Lippard, S.J. 1999.** Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chem Rev.*, 99(9): 2467-98.
- Jancalek, R., Dubovy, P., Svizenska, I., Klusakova, I. 2010.** Bilateral changes of TNF- $\alpha$  and IL-10 protein in the lumbar and cervical dorsal root ganglia following a unilateral chronic constriction injury of the sciatic nerve. *J Neuroinflammation*, 7(11): 1-9.
- Jeter, M.D., Janne, P.A., Brooks, S., Burstein, H.J., Wen, P., Fuchs, C.S., Loeffler, J.S., Devlin, P.M., Salgia, R. 2002.** *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, 53(2): 394-400.
- Jesus-Acosta, A.D., Oliver, G.R., Blackford, A., Kinsman, K., Flores, E.I., Wilfong, L.S., Zheng, L., Donehower, R.C., Cosgrove, D., Laheru, D., Le, D.T., Chung, K., Diaz, L.A. 2012.** A multicenter analysis of GTX chemotherapy in patients with locally advanced and metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 69(2): 415-424.



**Jiang, Y., Guo, C., Vasko, M.R., Kelley, M.R. 2008.** Implications of Ape1 in reactive oxygen signalling response following cisplatin treatment of dorsal root ganglion neurons. *Cancer Res.*, 68(15): 6425-6434.

**Jong, N.N., Nakanishi, T., Liu, J.J., Tamai, I., McKeage, M.J. 2011.** Oxaliplatin transport mediated by organic cation/carnitine transporters OCTN1 and OCTN2 in overexpressing human embryonic kidney 293 cells and rat dorsal root ganglion neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 338(2): 537-547.

**Jones, D.R., Broad, R.M., Madrid, L.V., Baldwin, A.S., Mayo, M.W. 2000.** Inhibition of NF-kappaB sensitizes non-small cell lung cancer cells to chemotherapy-induced apoptosis. *Ann Thorac Surg.*, 70(3): 930-6.

**Jones, R. 2004.** The pain of integrins. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(3): 169.

**Jones, V.S., Huang, R.Y., Chen, L.P., Chen, Z.S., Fu, L., Huang, R.P. 2016.** Cytokines in cancer drug resistance: Cues to new therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1865: 255-265.

**Kaley, T.J., DeAngelis, L.M. 2009.** Therapy of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *British Journal of Haematology*, 145: 3-14.

**Kaltschmidt, B., Kaltschmidt, C., Hehner, S.P., Dröge, W., Schmitz, M.L. 1999.** Repression of NF-kB impairs HeLa cell proliferation by functional interference with cell cycle checkpoint regulators. *Oncogene*, 18: 3213-3225.

**Kalvakolanu, D.V. 2003.** Alternative interferon signaling pathways. *Pharmacology & Therapeutics*, 100: 1-29.

**Kannarkat, G., Lasher, E.E., Schiff, D. 2007.** Neurologic complications of chemotherapy agents. *Current Opinion in Neurology*, 20: 719-725.

**Karabulut, S., Karabulut, M., Alış, H., Dagoglu, N., Tambas, M., Kapan, S., Oran, E., Oguz, H., Tas, F. 2016.** Pankreas adenokanserli hastalarda serum ekstrasellüler matriks proteinlerinin prognostik ve prediktif değerinin araştırılması. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 12: 24-32.

**Karandish, F., Mallik, S. 2016.** Biomarkers and targeted therapy in pancreatic cancer. *Biomarkers in Cancer*, 8(S1): 27-35.

**Karin, M., Ben-Neriah, Y. 2000.** Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol.*, 18: 621-63.

**Karin, M., Lawrence, T., Nizet, V. 2006.** Innate Immunity Gone Awry: Linking Microbial Infections to Chronic Inflammation and Cancer. *Cell*, 124: 823-835.

**Karin, M. 2009.** NF-kB as a Critical Link Between Inflammation and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 1: a00141.

**Kasibhatla, S., Brunner, Y., Genestier, L., Echeverri, F., Mahboubi, A., Green, D.R. 1998.** DNA damaging agents induce expression of Fas ligand and subsequent apoptosis in T lymphocytes via the activation of NF-kappa B and AP-1. *Mol. Cell*, 1: 542-551.

**Kawanokuchi, J., Shimizu, K., Nitta, A., Yamada, K., Mizuno, T., Takeuchi, H., Suzumura, A. 2008.** Production and functions of IL-17 in microglia. *J Neuroimmunol.*, 194(1-2): 54-61.

**Kawasaki, Y., Zhang, L., Cheng, J.K., Ji, R.R. 2008.** Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of interleukin-1beta, interleukin-6, and tumor necrosis factor-alpha in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci.*, 28(20): 5189- 94.

**Kellner, H. 2013.** Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential. *Ther Adv Musculoskelet Dis.*, 5(3): 141-152.

**Kerr, J.S., Slee, A.M., Mousa, S.A. 2002.** The alpha v integrin antagonists as novel anticancer agents: an update. *Expert Opin Investig Drugs*, 11(12): 1765-74.

**Key, L.L., Ries, W.L., Rodriguiz, R.M, Hatcher, H.C. 1992.** Recombinant human interferon gamma therapy for osteopetrosis. *J Pediatr.*, 121(1): 119-24.

**Khabour, O.F., Alzoubi, K.H., Mfady, D.S., Alasseiri, M., Hasheesh, T.F. 2014.** Tempol protects human lymphocytes from genotoxicity induced by cisplatin. *Int J Clin Exp Med.*, 7(4): 982-988.

**Khan, N., Afaq, F., Saleem, M., Ahmad, N., Mukhtar, H. 2006.** Targeting Multiple Signaling Pathways by Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate. *Cancer Research*, 66(5): 2500-5.

**Khan, N., Mukhtar, H. 2013.** Tea and health. Studies in humans. *Curr Pharm Des.*, 19(34): 6141-7.

**Khan, J., Ramadan, K., Korczeniewska, O., Anwer, M.M., Benoliel, R., Eliav, E. 2015.** Interleukin-10 levels in rat models of nerve damage and neuropathic pain. *Neurosci Lett.*, 592: 99-106.

**Kiguchi, N., Maeda, T., Kobayashi, Y., Ozaki, M., Kishioka S. 2008.** The critical role of invading peripheral macrophag-derived interleukin-6 in vincristine-induced mechanical allodynia in mice. *European Journal of Pharmacology*, 592(1-3): 87-92.

**Kiguchi, N., Maeda, T., Kobayashi, Y., Fukazawa, Y., Kishioka, S. 2010.** Macrophage inflammatory protein-1alpha mediates the development of neuropathic pain following peripheral nerve injury through interleukin-1beta up-regulation. *Pain*, 149(2): 305-15.

**Kim, S.H., Chung, J.M. 1992.** An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental nerve ligation in the rat. *Pain*, 50(3): 355-63.

**Kim, S.B., Kim, J.S., Lee, J.H., Yoon, W.J., Lee, D.S., Ko, M.S., Kwon, B.S., Choi, D.H., Cho, H.R., Lee, B.J., Chung, D.K., Lee, H.W., Park, J.W. 2006.** NF- $\kappa$ B activation is required for cisplatin-induced apoptosis in head and neck squamous carcinoma cells. *FEBS Letters*, 580(1): 311-318.

**Kim, C.F., Moalem-Taylor, G. 2011.** Interleukin-17 contributed to neuroinflammation and neuropathic pain following peripheral nerve injury in mice. *The Journal of Pain*, 12(3): 370-383.

**Kim, H.S., Quon, M.J., Kim, J.A. 2014.** New insights into the mechanism of polyphenols beyond antioxidant properties: lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. *Redox Biology*, 2: 187-195.

**Kimball, A.B., Kawamura, T., Tejura, K., Boss, C., Hancox, A.R., Vogel, J.C., Steinberg, S.M., Turner, M.L., Blauvelt, A. 2002.** Clinical and immunologic assessment of patients with psoriasis in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial using recombinant human interleukin 10. *Arch Dermatol.*, 138(10): 1341-6.

**Kimura, J. (2001).** Assessment of Individual Nerves. *Electrodiagnosis in Diseases of Nerve and Muscle: Principles and Practice*. 3rd Edition, Oxford University Press, New York, pp: 130-177.

**Klein, M.A., Moller, J.C., Jones, L.L., Bluethmann, H., Kreutzberg, G.W., Raivich, G. 1997.** Impaired neuroglial activation in interleukin-6 deficient mice. *GLIA*, 19(3): 227-233.

**Kleinschnitz, C., Hofstetter, H.H., Meuth, S.G., Braeuninger, S., Sommer, C., Stoll, G. 2006.** T cell infiltration after chronic constriction injury of mouse sciatic nerve is associated with interleukin-17 expression. *Exp Neurol.*, 200(2): 480-5.

**Koca, N., Karadeniz, F. 2003.** Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, (Erişim tarihi: 16.12.2003), s. 32-37.

**Kopp, E.B., Ghosh, S. 1995.** NF-kappa B and rel proteins in innate immunity. *Adv Immunol.*, 58: 1-27.

**Korneev, K.V., Atretkhany, K.S.N., Drutskaya, M.S., Grivennikov, S.I., Kuprash, D.V., Nedospasov, S.A. 2017.** TLR-signaling and proinflammatory cytokines as drivers of tumorigenesis. *Cytokine*, 89: 127-135.

**Krarup-Hansen, A., Fugleholm, K., Helweg-Larsen, S., Hauge-EN, Schmalbruch, H., Trojaborg, W., Krarup, C. 1993.** Examination of distal involvement in cisplatin-induced neuropathy in man. An electrophysiological and histological study with particular reference to touch receptor function. *Brain*, 116(Pt5): 1017-41.

**Krarp-Hansen, A., Helweg-Larsen, S., Schmalbruch, H., Rorth, M., Krarp, C. 2007.** Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: prospective clinical and neurophysiological studies. *Brain*, 130: 1076-1088.

**Kumar, C.C. 2003.** Integrin alpha v beta 3 as a therapeutic target for blocking tumor-induced angiogenesis. *Curr Drug Targets*, 4(2): 123-31.

**Kunnumakkara, A.B., Guha, S., Krishnan, S., Diagaradjane, P., Gelovani, J., Aggarwal, B.B. 2007.** Curcumin Potentiates Antitumor Activity of Gemcitabine in an Orthotopic Model of Pancreatic Cancer through Suppression of Proliferation, Angiogenesis, and Inhibition of Nuclear Factor- $\kappa$ B-Regulated Gene Products. *Cancer Res.*, 67(8): 3853-3861.

**Kunnumakkara, A.B., Sung, B., Ravindran, J., Diagaradjane, P., Deorukhkar, A., Dey, S., Koca, C., Yadav, V.R., Tong, Z., Gelovani, J.G., Guha, S., Krishnan, S., Aggarwal, B.B. 2010.**  $\gamma$ -Tocotrienol Inhibits Pancreatic Tumors and Sensitizes Them to Gemcitabine Treatment by Modulating the Inflammatory Microenvironment. *Cancer Res.* 70(21): 8695-8705.

**Kuyruklyıldız, U., Küpeli, İ., Bedir, Z., Özmen, Ö., Onk, D., Süleyman, B., Mammadov, R., Süleyman, H. 2016.** The effect of Anakinra on Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathic Pain in Rats. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 44: 287-94.

**Kürbitz, C., Heise, D., Redmer, T., Goumas, F., Arlt, A., Lemke, J., Rimbach, G., Kalthoff, H., Trauzold, A. 2011.** Epicatechin gallate and catechin gallate are superior to epigallocatechin gallate in growth suppression and anti-inflammatory activities in pancreatic tumor cells. *Cancer Sci.*, 102(4): 728-734.

**Laight, D.W., Andrews, T.J., Haj-Yehia, A.I., Carrier, M.J., Anggard, E.E. 1997.** Microassay of superoxide anion scavenging activity in vitro. *Environ Toxicol Pharmacol.*, 3(1): 65-8.

**Lakhan, S.E., Avramut, M. 2012.** Matrix Metalloproteinases in Neuropathic Pain and Migraine: Friends, Enemies, and Therapeutic Targets. *Pain Research and Treatment*, 2012: 1-10.

**Landen, C.N., Kim, T.J., Lin, Y.G., Merritt, W.M., Kamat, A.A., Han, L.Y., Spanuth, W.A., Nick, A.M., Jennings, N.B., Kinch, M.S., Tice, D., Sood, A.K. 2008.** Tumor-selective response to antibody-mediated targeting of  $\alpha_v\beta_3$  integrin in ovarian cancer 1. *Neoplasia*, 10(11): 1259-1267.

**Lawrence, T. 2009.** The Nuclear Factor NF- $\kappa$ B Pathway in Inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 1: a001651.

**Ledeboer, A., Gamanos, M., Lai, W., Martin, D., Maier, S.F., Watkins, L.R., Quan, N. 2005.** Involvement of spinal cord nuclear factor  $\kappa$ B activation in rat models of proinflammatory cytokine-mediated pain facilitation. *European Journal of Neuroscience*, 22: 1977-1986.

**Ledoux, A.C., Perkins, N.D. 2014.** NF- $\kappa$ B and the cell cycle. *Biochemical Society Transactions*, 42: 76-81.

**Lee, E.Q. 2010.** Overview of neurologic complications of platinum-based chemotherapy: American Society of Clinical Oncology 2010 Educational Book, Ed: Drews, R.E., Wen, P.Y. <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-neurologic-complications-of-platinum-based-chemotherapy>.

**Lees, J.G. Duffy, S.S., Moalem-Taylor, G. 2013.** Immunotherapy targeting cytokines in neuropathic pain. *Front Pharmacol.*, 4(142): 1-4.

**Lees, J.G., Makker, P.G.S., Tonkin, R.S., Abdulla, M., Park, S.B., Golsdtein, D., Moalem-Taylor, G. 2017.** Immune-mediated processes implicated in chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *European Journal of Cancer*, 73: 22-29.

**Leonardi, C.L., Kimball, A.B., Papp, K.A., Yeilding, N., Guzzo, C., Wang, Y., Li, S., Dooley, L.T., Gordon, K.B., for the PHOENIX1 study investigators. 2008.** Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin -12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1). DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60725-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60725-4).

**Lersh, C., Schmelz ,R., Eckel, F., Erdmann, J., Mayr, M., Schulte-Frohlinde, E., Quasthoff, S., Grosskreutz, J., Adelsberger, H. 2002.** Prevention of oxaliplatin-induced peripheral sensory neuropathy by carbamazepine in patients with advanced colorectal cancer. *Clinics in Colorectal Cancer*, 2(1): 54-8.

**Lesina, M., Kurkowski, M.U., Ludes, K., Rose-John, S., Treiber, M., Klöppel, G., Yoshimura, A., Reindi, W., Sipos, B., Akira, S., Schmid, R.M., Algül, H. 2011.** Stat3/Socs3 Activation by IL-6 Transsignaling Promotes Progression of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Development of Pancreatic Cancer. *Cancer Cell*, 19: 456-469.

**Leung, L., Cahill, C.M. 2010.** TNF- $\alpha$  and neuropathic pain- a review. *Journal of Neuroinflammation*, 7(27): 1-11.

**Li, Z.W., Chu, W., Hu, Y., Delhase, M., Deerinck, T., Ellisman, M., Johnson, R., Karin, M. 1999.** The IKK $\beta$  Subunit of I $\kappa$ B Kinase (IKK) is Essential for Nuclear Factor  $\kappa$ B Activation and Prevention of Apoptosis. *J. Exp. Med.*, 189(11): 1839-1845.

**Li, Q., Estepa, G., Mehmet, S., Israel, A., Verma, I.M. 2000.** Complete lack of NF- $\kappa$ B activity in IKK1 and IKK2 double-deficient mice: additional defect in neurulation. *Genes & Development*, 14: 1729-1733.

**Li, Q., Verma, I.M. 2002.** NF- $\kappa$ B regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol.*, 2(10): 725-34.

- Li, Y., Ahmed, F., Ali, S., Philip, P.A., Kucuk, O., Sarkar, F.H. 2005.** Inactivation of nuclear  $\kappa$ B by soy isoflavone genistein contributes to increased apoptosis induced by chemotherapeutic agents in human cancer cells. *Cancer Res.*, 65(15): 6934-42.
- Li, H., Xie, W., Strong, J.A., Zhang, J.M. 2007.** Systemic antiinflammatory corticosteroid reduces mechanical pain behaviour, sympathetic sprouting, and elevation of proinflammatory cytokines in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology*, 107(3): 469-77.
- Li, M., Zhang, Y., Feurino, L.W., Wang, H., Fisher, W.E., Brunicardi, F.C., Chen, C., Yao, Q. 2008.** Interleukin-8 increases vascular endothelial growth factor and neuropilin expression and stimulates ERK activation in human pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, 99(4): 733-7.
- Li, M., Liu, J.T., Pang, X.M., Han, C.J., Mao, J.J. 2012.** Epigallocatechin-3-gallate inhibits angiotensin II and interleukin-6-induced C-reactive protein production in macrophages. *Pharmacological Reports*, 64: 912-918.
- Liang, Q., Smith, A.D., Pan, S., Tyurin, V.A., Kagan, V.E., Hasting, T.G., Schor, N.F. 2005.** Neuroprotective effects of TEMPOL in central and peripheral nervous system models of Parkinson's disease. *Biochemical Pharmacology*, 70(9): 1371-1381.
- Liaw, W.J., Chen, T.H., Lai, Z.Z., Chen, S.J. Chen, A., Tzao, C., Wu, J.Y., Wu, C.C. 2005.** Effects of a membrane-permeable radical scavenger, Tempol, on intraperitoneal sepsis-induced organ injury in rats. *Shock*, 23(1): 88-96.
- Lim, K.S., Jeyaseelan K., Whiteman, M., Jenner, A., Halliwell, B. 2005.** Oxidative damage in mitochondrial DNA is not extensive. *Ann NY Acad Sci.*, 1042: 210-20.
- Lin, L., Ghosh, S. 1996.** A Glycine-Rich Region in NF- $\kappa$ B p105 Functions as a Processing Signal for the Generation of the p50 Subunit. *Molecular and Cellular Biology*, 16(5): 2248-2254.
- Lin, H.Y., Tang, H.Y., Shih, A., Keating, T., Cao, G., Davis, P.J., Davis, F.B. 2007.** Thyroid hormone is a MAPK-dependent growth factor for thyroid cancer cells and its anti-apoptotic. *Steroid*, 72: 180-187.
- Lin, H.Y., Sun, M., Tang, H.Y., Lin, C., Luidens, M.K., Mousa, S.A., Incerpi, S., Drusano, G.L., Davis, F.B., Davis, P.J. 2009.**  $L$ -Thyroxine vs. 3,5,3'-triiodo- $L$ -thyronine and cell proliferation: activation of mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase. *Am J Physiol Cell Physiol.*, 296: C980-C991.
- Lin, H.Y., Landersdorfer, C.B., London, D., Meng, R., Lim, C.U., Lin, C., Lin, S., Tang, H.Y., Brown, D., Scoy, B.V., Kulawy, R., Queimado, L., Drusano, G.L., Louie, A., Davis, F.B., Mousa, S.A., Davis, P.J. 2011.** Pharmacodynamic modeling of anti-cancer activity of tetraiodothyroacetic acid in a perfused cell culture system. *PLoS Comput Biol.*, 7(2): e1001073.

**Lin, T.H., Tamaki, Y., Pajarinen, J., Waters, H.A., Woo, D.K., Yao, Z., Goodman, S.B. 2014.** Chronic inflammation in biomaterial-induced periprosthetic osteolysis: NF- $\kappa$ B as a therapeutic target. *Acta Biomaterialia*, 10: 1-10.

**Lin, H.Y., Chin, Y.T., Nana, A.W., Shih, Y.J., Lai, H.Y., Tang, H.Y., Leinung, M., Mousa, S.A., Davis, P.J. 2016.** Actions of L-thyroxine and Nano-diamino-tetrac (Nanotetrac) on PD-L1 in cancer cells. *Steroids*, 114: 59-67.

**Ling, J., Kang, Y., Zhao, R., Xia, Q., Lee, D.F., Chang, Z., Li, J., Peng, B., Fleming, J.B., Wang, H., Liu, J., Lemischka, I.R., Hung, M.C., Chiao, P.J. 2012.** Kras<sup>G12D</sup>-Induced IKK2/ $\beta$ /NF- $\kappa$ B Activation by IL-1 $\alpha$  and p62 Feedforward Loops Is Required for Development of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Cell*, 21(1): 105-120.

**Liu, S.F., Malik, A.B. 2006.** NF- $\kappa$ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*, 290: L622-L645.

**Liu, Y.L., Zhou, L.J., Hu, J.T., Wu, C.Y., Zhang, T., Li, Y.Y., Liu, X.G. 2007.** Tumor necrosis factor-alpha induces long-term potentiation of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn in rats with nerve injury: the role of NF-kappa B, JNK and p38 MAPK. *Neuropharmacology*, 52(3): 708-15.

**Liu, Z., Wang, F., Chen, X. 2008.** Integrin  $\alpha_v\beta_3$ -targeted cancer therapy. *Drug Dev Res.*, 69(6): 329-339.

**Liu, C., Qian, W., Qian, Y., Giltiay, N.V., Yu, Y., Misra, S., Deng, L., Chen, Z.J., Li, X. 2009.** Act1, a novel U-box E3 ubiquitin ligase for IL-17R-mediated signalling. *Sci Signal.*, 2(92): ra63.

**Liu, J.J., Lu, J., McKeage, M.J. 2012.** Membrane transporters as determinants of the pharmacology of platinum anticancer drugs. *Curr Cancer Drug Targets*, 12(8): 962-86.

**Lo, C.W., Chen, M.W., Hsiao, M., Wang, S. Chen, C.A., Hsiao, S.M., Chang, J.S., Lai, T.C. Rose-John, S., Kuo, M.L., Wei, L.H. 2011.** IL-6 trans-signaling in formation and progression of malignant ascites in ovarian cancer. *Cancer Res.*, 71(2): 424-34.

**Locksley, R.M., Killeen, N., Lenardo, M.J. 2001.** The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, 104(4): 487-501.

**Long, J., Zhang, Y., Yu, X., Yang, J., LeBrun, D., Chen, C., Yao, Q., Li, M. 2011.** Overcoming drug resistance in pancreatic cancer. *Expert Opin Ther Targets*, 15(7): 817-828.

**Loram, L.C., Harrison, J.A., Sloane, E.M., Hutchinson, M.R., Sholar, P., Taylor, F.R., Berkelhammer, D., Coats, B.D., Poole, S., Milligan, E.D., Maier, S.F., Rieger, J., Watkins, L.R. 2009.** Enduring reversal of neuropathic pain by a single intrathecal injection of adenosine 2A receptor agonists: a novel therapy for neuropathic pain. *J Neurosci.*, 29(44): 14015-14025.

**Louvet, C., Labianca, R., Hammel, P., Lledo, G., Zampino, M.G., Andre, T., Zaniboni, A., Ducreux, M., Aitini, E., Taieb, J., Faroux, R., Lepere, C., de Gramont, A. 2005.** Gemcitabine in Combination With Oxaliplatin Compared With Gemcitabine Alone in Locally Advanced or Metastatic Pancreatic Cancer: Results of a GERCOR and GISCAD Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 23(15): 3509-3516.

**Lu, X., Lu, D., Scully, M., Kakkar, V. 2008.** The role of integrins in cancer and the development of anti-integrin therapeutic agents for cancer therapy. *Perspectives in Medical Chemistry*, 2: 52-73.

**Lucas, S.M., Rothwell, N.J., Gibson, R.M. 2006.** The role of inflammation in CNS injury and disease. *British Journal of Pharmacology*, 147: S2332-S240.

**Luqmani, Y.A. 2005.** Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Med Princ Pract.*, 14(Suppl 1): 35-48.

**Lynch, M.E., Cesar-Rittenberg, P., Hohmann, A.G. 2014.** A double-blind, placebo-controlled, crossover pilot trial extension using an oral mucosal cannabinoid extract for treatment of chemotherapy-induced neuropathic pain. *J Pain Symptom Manage*, 47(1): 166-73.

**Ma, W., Bisby, M.A. 1998.** Increase of preprotachykinin mRNA and substance P immunoreactivity in spared dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injury. *European Journal of Neuroscience*, 10(7): 2388-2399.

**MacEwan, D.J. 2002.** TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cell Signal*, 14(6): 477-92.

**Mahmoud, H.H, Pui, C.H., Kenned, W., Jaffe, H.S., Crist, W.M., Murphy, S.B. 1992.** Phase I study of recombinant human interferon gamma in children with relapsed acute leukemia. *Leukemia*, 6(11): 1181-1184.

**Malik, B., Stillman, M. 2008.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Curr Neurol Neurosci Rep.*, 8(1): 56-65.

**Marth, C., Widschwendter, Kaern, J., Jorgensen, N.P., Windbichler, G., Zeimet, A.G., Trope, C., Daxenbichler, G. 1997.** Cisplatin resistance is associated with reduced interferon- $\gamma$ -sensitivity and increased HER-2 expression in cultured ovarian carcinoma cells. *British Journal of Cancer*, 76(10): 1328-1332.

**Martin, D.A., Towne, J.E., Kricorian, G., Klekotka, P., Gudjonsson, J.E., Krueger, J.G., Russell, C.B. 2013.** The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: preclinical and clinical findings. *J Invest Dermatol.*, 133(1): 17-26.

**Marullo, R., Werner, E., Degtyareva, N., Moore, B., Altavilla, G., Ramalingam, S.S., Doetsch, P.W. 2013.** Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetics functions. *Plos one*, 8(11): e81162.



**Masoumi-Moghaddam, S., Amini, A., Wei, A.Q., Robertson, G., Morris, D. L. 2015.** Intratumoral interleukin-6 predicts ascites formation in patients with epithelial ovarian cancer: a potential tool for close monitoring. *Journal of Ovarian Research*, 8(58): 1-6.

**Masson-Gadais, B., Houle, F., Laferriere, J., Huot, J. 2003.** Integrin alphavbeta3, requirement for VEGFR2-mediated activation of SAPK2/p38 and for Hsp90-dependent phosphorylation of local adhesion kinase in endothelial cells activated by VEGF. *Cell Stress Chaperones*, 8(1): 37-52.

Mattson, M.P., Camandola, S. 2001. **NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders.** *J Clin Invest.*, 107(3): 247-54.

**McAllister, F., Bailey, J.M., Alsina, J., Nirschl, C.J., Sharma, R., Fan, H., Rattigan, Y., Roeser, J.C., Lankapalli, R.H., Zhang, H., Jaffee, E.M., Drake, C.G., Housseau, F., Maitra, A., Kolls, J.K., Sears, C.L., Pardoll, D.M., Leach, S.D. 2014.** Oncogenic Kras activates a hematopoietic-to-epithelial IL-17 signaling axis in preinvasive pancreatic neoplasia. *Cancer Cell*, 25(5): 621-637.

**McCabe, N.P., De, S., VasANJI, A., Brainard, J., Byzova, T.V. 2007.** Prostate cancer specific integrin  $\alpha_v\beta_3$  modulates bone metastatic growth and tissue remodeling. *Oncogene*, 26(42): 6238-6243.

**McDonald, E.S., Windebank, A.J. 2002.** Cisplatin-induced apoptosis of DRG neurons involves bax redistribution and cytochrome c release but fas receptor signaling. *Neurobiol Dis.*, 9(2): 220-33.

**McDonald, E.S., Random, K.R., Knight, A., Windebank, A.J. 2005.** Cisplatin preferentially binds to DNA in dorsal root ganglion neurons in vitro and in vivo: a potential mechanism for neurotoxicity. *Neurobiol Dis.*, 18(2): 305-13.

**McHugh, K.P., Hodivala-Dilke, K., Zheng, M.H., Namba, N., Lam, J., Novack, D., Feng, X., Ross, F.P., Hynes, R.O, Teitelbaum, S.L. 2000.** Mice lacking beta3 integrins are osteosclerotic because of dysfunctional osteoclasts. *J Clin Invest.*, 105(4): 433-40.

**McKeage, M.J. 1995.** Comparative adverse effect profiles of platinum drugs. *Drug Safety*, 13(4): 228-244.

**McKeage, M.J., Hsu, T., Screnci, D., Haddad, G., Baguley, B.C. 2001.** Nucleolar damage correlates with neurotoxicity induced by different platinum drugs. *British Journal of Cancer*, 85(8): 1219-1225.

**McMahon, S.B., Cafferty, W.B.J., Marchand, F. 2005.** Immune and glial factors as pain mediators and modulators. *Experimental Neurology*, 192: 44-462.

**McNamee, K.E., Alzabin, S., Hughes, J.P., Anand, P., Feldmann, M., Williams, R.O., Inglis, J.J. 2011.** IL-17 induces hyperalgesia via TNF-dependent neutrophil infiltration. *Pain*, 152(8): 1838-45.

**McWhinney, S.R., Goldberg, R.M., McLeod, H.L. 2009.** Platinum neurotoxicity pharmacogenetics. *Mol Cancer Ther.*, 8(1): 10-16.

**Meerovitch, K., Bergeron, F., Leblond, L., Grouix, B., Poirier, C., Bubenik, M., Chan, L., Gourdeau, H., Bowlin, T., Attardo, G. 2003.** A novel RGD antagonist that targets both  $\alpha v\beta 3$  and  $\alpha 5\beta 1$  induces apoptosis of angiogenic endothelial cells on type I collagen. *Vascul Pharmacol*, 40(2): 77-89.

**Meijer, C., Vries, E.G., Marmioli, P., Tredici, G., Frattola, L., Cavaletti, G. 1999.** Cisplatin-induced DNA-platination in experimental dorsal root ganglia neuropathy. *Neurotoxicology*, 20(6): 883-887.

**Meng, R., Tang, H.Y., Westfall, J., London, D., Cao, J.H., Mousa, S.A., Luidens, M., Hercbergs, A., Davis, F.B., Davis, P.J., Lin, H.Y. 2011.** Crosstalk between Integrin  $\alpha v\beta 3$  and estrogen receptor-  $\alpha$  is involved in thyroid hormone-induced proliferation in human lung carcinoma cells. *PLoS ONE*, 6(11): e27547.

**Mercurio, F., Manning, A.M. 1999.** NF- $\kappa$ B as a primary regulator of the stress response. *Oncogene*, 18: 6163-6171. **Meyer, T., Begitt, A., Lödige, I., van Rossum, M., Vinkemeer, U. 2002.** Constitutive and IFN- $\gamma$ -induced nuclear import of STAT1 proceed through independent pathways. *The EMBO Journal*, 21(3): 344-354.

**Mezencev, R., Matyunina, L.V., Wagner, G.T., McDonald, J.F. 2016.** Acquired resistance of pancreatic cancer cells to cisplatin is multifactorial with cell context-dependent involvement of resistance genes. *Cancer Gene Ther.*, 23(12): 446-453.

**Millard, M., Odde, S., Neamati, N. 2011.** Integrin targeted therapeutics. *Theranostics*, 1: 154-188.

**Miller, D.W., Fontain, M., Kolar, C., Lawson, T. 1996.** The expression of multidrug resistance-associated protein (MRP) in pancreatic adenocarcinoma cell lines. *Cancer Lett.* 107(2): 301-6.

**Miller, R.J., Jung, H., Bhangoo, S.K., White, F.A. 2009.** Cytokine and chemokine regulation of sensory neuron function. *Handb Exp Pharmacol.*, 194: 417-449.

**Milligan, E.D., O'Connor, K.A., Nguyen, K.T., Armstrong, C.B., Twining, C., Gaykema, R.P., Holguin, A., Martin, D., Maier, S.F., Watkins, L.R. 2001.** Intrathecal HIV-1 envelope glycoprotein gp120 induces enhanced pain states mediated by spinal cord proinflammatory cytokines. *J Neurosci.*, 21(8). 2808-19.

**Milligan, E.D., Langer, S.J., Sloane, E.M., He, L., Wiessler-Frank, J., O'Connor, K., Martin, D., Forsayeth, J.R., Maier, S.F., Johnson K., Chavez, R.A., Leinwand, L.A., Watkins, L.R. 2005a.** Controlling pathological pain by adenovirally driven spinal production of the anti-inflammatory cytokine, interleukin-10. *Eur J Neurosci.*, 21(8): 2136-48.

**Milligan, E.D., Sloane, E.M., Langer, S.J., Cruz, P.E., Chacur, M., Spataro, L., Wieseler-Frank, J., Hammack, S.E., Maier, S.F., Flotte, T.R., Forsayeth, J.R., Leinwand, L.A., Chavez, R., Watkins, L.R. 2005b.** Controlling neuropathic pain by adeno-associated virus driven production of the anti-inflammatory cytokine, interleukin-10. *Mol Pain*, 1(9): 1-13.

**Milligan, E.D., Penzkover, K.R., Soderquist, R.G., Mahoney, M.J. 2012.** Spinal Interleukin-10 Therapy to Treat Peripheral Neuropathic Pain. *Neuromodulation*, 15(6): 520-526.

**Miltenburg, N.C., Boogerd, W. 2014.** Chemotherapy-induced neuropathy: A comprehensive survey. *Cancer Treatment Reviews*, 40: 872-882.

**Min, K.J., Kwon, T.K. 2014.** Anticancer effects and molecular mechanisms of epigallocatechin-3-gallate. *Integrative Medicine Research*, 3(1): 16-24.

**Miron, N., Miron, M.M., Milea, V.G., Cristea, V. 2010.** Proinflammatory cytokines: an insight into pancreatic oncogenesis. *Roum Arch Microbiol Immunol.*, 69(4): 183-9.

**Moalem, G. Tracey, D.J. 2006.** Immune and inflammatory mechanism in neuropathic pain. *Brain Research Reviews*, 51: 240-264.

Mohammad, R.M., Wang, S., Banerjee, S., Wu, X., Chen, J., Sarkar, F.H. 2005. **Nonpeptidic small-molecule inhibitor of Bcl-2 and Bcl-XL, (-)-Gossypol, enhances biological effect of genistein against BxPC-3 human pancreatic cancer cell line.** *Pancreas*, 31(4): 317-24.

**Mollman, J.E., Glover, D.J., Hogan, M., Furman, R.E. 1988.** Cisplatin neuropathy. *Cancer*, 61: 2192-2195.

**Mollman, J.E. 1990.** Cisplatin neurotoxicity. *N Engl J Med.*, 322: 126-127.

**Moore, M. 1996.** Activity of gemcitabine in patients with advanced pancreatic carcinoma. A review. *Cancer*, 78(3): 633-8.

**Moore, P.S., Sipos, B., Orlandini, S., Sorio, C., Real, F.X, Lemoine, N.R., Gress, T., Bassi, C., Klöppel, G., Kalthoff, H., Ungefroren, H., Löhr, M., Scarpa, A. 2001.** Genetic profile of 22 pancreatic carcinoma cell lines. Analysis of K-ras, p53, p16 and DPC4/Smad4. *Virchows Arch*, 439(6): 798-802.

**Morgan, M.J, Liu, Z.G. 2011.** Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.*, 21(1): 103-15.

**Mosser, D.M., Zhang, X. 2008.** Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev.*, 226: 205-218.

**Mota-Filipe, H., McDonald, M., Cuzzocrea, S., Thiernemann, C. 1999.** A membrane-permeable radical scavenger reduces the organ injury in hemorrhagic shock. *Shock*, 12: 255-261.

**Moulin, D.E., Boulanger, A., Clark, A.J, Clarke, H., Dao, T., Finley, G.A., Furlan, A., Gilron, I., Gordon, A., Morley-Forster, P.K., Sessle, B.J., Squire, P., Stinson, J., Taenzer, P., Velly, A., Ware, M.A., Weinberg E.L., Williamson, O.D. 2014.** Pharmacological management of chronic neuropathic pain: revised consensus statement from the canadian pain society. *Pain Res Manag.*, 19(6): 328-335.

**Mousa, S.A. 2002.** Anti-integrin as novel drug-discovery targets: potential therapeutic and diagnostic implications. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(4): 534-541.

**Mousa, S.A., Feng, X., Xie, J., Du, Y., Hua, Y., He, H., O'Connor, L., Linhardt, R.J. 2006.** Synthetic oligosaccharide stimulates and stabilizes angiogenesis: structure-function relationships and potential mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 48(2): 6-13.

**Mousa, S.A., Bergh, J.J., Dier, E., Rebbaa, A., O'Connor, L.J., Yalcin, M., Aljada, A., Dyskin, E., Davis, F.B., Lin, H.Y., Davis, P.J. 2008.** Tetraiodothyroacetic acid, a small molecule integrin ligand, blocks angiogenesis induced by vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor. *Angiogenesis*, 11(2): 183-90.

**Mousa, S.A., Yalcin, M., Bharali, D.J., Meng, R., Tang, H.Y., Lin, H.Y., Davis, F.B., Davis, P.J. 2012.** Tetraiodothyroacetic acid and its nanoformulation inhibit thyroid hormone stimulation of non-small cell lung cancer cells in vitro and its growth in xenografts. *Lung Cancer*, 76(1): 39-45.

**Mousa, S.A., Lin, H.J., Tang, H.Y., Herberg, A., Luidens, M.K., Davis, P.J. 2014.** Modulation of angiogenesis by thyroid hormone and hormone analogues: implications for cancer management. *Angiogenesis*, 17(3): 463-469.

**Mukhtar, H., Ahmad, N. 2000.** Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. *Am J Clin Nutr.*, 71(suppl): 1698S-1702S.

**Murakami, T., Kanchiku, T., Suzuki, H., Imajo, Y., Yoshida, Y., Nomura, H., Cui, D., Ishikawa, T., Ikeda, E., Taguchi, T. 2013.** Anti-interleukin-6 receptor antibody reduces neuropathic pain following spinal cord injury in mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 6: 1194-1198.

**Muralidharan- Chari, V., Kohan, H.G., Asimakopoulos, A.G., Sudha, T., Sell, S., Kannan, K., Boroujerdi, M., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2016.** Microvesicle removal of anticancer drugs contributes to drug resistance in human pancreatic cancer cells. *Oncotarget*, 7(31): 50365-50379.

**Murphy, P.G., Ramer, M.S., Bortwick, L., Gauldie, J., Richardson, P.M., Bisby, M.A. 1999.** Endogenous interleukin-6 contributes to hypersensitivity to cutaneous stimuli and changes in neuropeptides associated with chronic nerve constriction in mice. *Eur J Neurosci*. 11(7): 2243-53.

**Murray, K.N., Parry-Jones, A.R., Allan, S.M. 2015.** Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci.*, 9(18): 1-17.

**Murugaiyan, G., Saha, B. 2009.** Protumor vs antitumor functions of IL-17. *The Journal of Immunology*, 183: 4169-4175.

**Nakamura, I., Pilkington, M.F., Lakkakorpi, P.T., Lipfert, L., Sims, S.M., Dixon, S.J., Rodan, G.A., Duong, L.T. 1999.** Role of alpha(v)beta(3) integrin osteoclast migration and formation of the sealing zone. *J Cell Sci.* 112(Pt 22): 3985-93.

**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.

**Nemeth, J.A., Nakada, M.T., Trikha, M., Lang, Z., Gordon, M.S., Jayson, G.C., Corringham, R., Prabhakar, U., Davis, H.M., Beckman, R.A. 2007.** Alpha-v integrins as therapeutic targets in oncology. *Cancer Investigation*, 25(7): 632-46.

**Neurath, M.F., Finotto, S. 2011.** IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 22(2): 83-9.

**Nishikori, M. 2005.** Classical and Alternative NF-kB Activation Pathways and Their Roles in Lymphoid Malignancies. *J. Clin. Exp. Hematopathol.*, 45(1): 15-24.

**Niu, X., Liu, W., Wang, Y., Liu, X., Zhang, H., Li, Z., Li, H., Iwakura, Y., Deng, W. 2016.** IL-17A exacerbates cisplatin-based resistance of OVCA via upregulating the expression of ABCG2 and MDR1 through Gli1-mediated Hh signaling. *Oncotarget*, doi: 10.18632/oncotarget.10655.

**Noma, B., Sasaki, T., Fujimoto, Y., Serikawa, M., Kobayashi, K., Inoue, M., Itsuki, H., Kamigaki, M., Minami, T., Chayama, K. 2008.** Expression of multidrug resistance-associated protein 2 is involved in chemotherapy resistance in human pancreatic cancer. *International Journal of Oncology*, 33: 1187-1194.

**Norman, G.J., Karelina, K., Zhang, N., Walton, J.C., Morris, J.S., DeVries, A.C. 2010.** Stress and IL-1 $\beta$  contribute to the development of depressive- like behavior following peripheral nerve injury. *Mol Psychiatry*, 15(4): 404-414.

**Noubade, R., Kremontsov, D.N., Del Rio, R., Thornton, T., Nagaleekar, V., Saligrama, N., Spitzack, A., Spach, K., Sabio, G., Davis, R.J., Rincon, M., Teuscher C. 2011.** Activation of p38 MAPK in CD4T cells controls IL-17 production and autoimmune encephalomyelitis. *Blood*, 118(12): 3290-300.

**Nuki, G., Bresnihan, B., Bear, M.B., McCabe, D., European Group of Clinical Investigators. 2002.** Long-term safety and maintenance of clinical improvement following treatment with anakinra (recombinant human interleukin-1 receptor antagonist) in patients with rheumatoid arthritis: extension phase of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.*, 46(11): 2838-46.

Numasaki, M., Watanabe, M., Suzuki, T., Takahashi, H., Nakamura, A., McAllister, F., Hishinuma, T., Goto, J., Lotze, M.T., Kolls, J.K., Sasaki, H. 2005. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human non-small cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR-2-dependent angiogenesis. *J Immunol.*, 175(9): 6177-89.

Ocean, A.J., Vahdat, L.T. 2004. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: pathogenesis and emerging therapies. *Support Care Cancer*, 12: 619-625.

Olive, K.P., Jacobetz, M.A., Davidson, C.J, Gopinathan, A., McIntyre, D., Honess, D., Madhu, B., Goldgraben, M.A., Caldwell, M.E., Allard, D., Frese, K.K., DeNicola, G., Feig, C., Combs, C., Winter, S.P., Ireland, H., Reichelt, S., Howat, W.J., Chang, A., Dhara, M., Wang, L., Rückert, F., Grützmann, R., Pilarsky, C., Izeradjene, K., Hingorani, S.R., Huang, P., Davies, S.E., Plunkett, W., Egorin, M., Hruban, R.H., Whitebread, N., McGovern, K., Adams, J., Iacobuzio-Donahue, C., Griffiths, J., Tuveson, D.A. 2009. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 324(5933): 1457-61.

Oeckinghaus, A., Ghosh, S. 2009. The NF- $\kappa$ B Family of Transcription Factors and Its Regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 1: a000034.

Ogata, A., Morita, T., Yoshida, Y., Tanaka, T. 2015. Subcutaneous formulation of tocilizumab for treatment of rheumatoid arthritis. *Ther Deliv.*, 6(3): 283-95.

Ogawa, Y., Duru, E.A., Ameredes, B.T. 2008. Role of IL-10 in the resolution of airway inflammation. *Curr Mol Med.*, 8(5): 437-45.

Ohtori, S., Takahashi, K., Moriya, H., Myers, R.R. 2004. TNF-alpha and TNF-alpha receptor type 1 upregulation in glia and neurons after peripheral nerve injury: studies in murine DRG and spinal cord. *Spine (Phila Pa 1976)*, 29(10): 1082-8.

Ohtori, S., Miyagi, M., Eguchi, Y., Inoue, G., Orita, S., Ochiai, N., Kishida, S., Kuniyoshi, K., Nakamura, J., Aoki, Y., Ishikawa, T., Arai, G., Kamoda, H., Suzuki, M., Takaso, M., Furuya, T., Kubota, G., Sakuma, Y., Oikawa, Y., Toyone, T., Takahashi, K. 2012a. Efficact of epidural administration of anti-interleukin-6 receptor antibody onto spinal nerve for treatment of sciatica. *Eur Spine J.*, 21: 2079-2084.

Ohtori, S., Miyagi, M., Eguchi, Y., Inoue, G., Orita, S., Ochiai, N., Kishida, S., Kuniyoshi, K., Nakamura, J., Aoki, Y., Ishikawa, T., Arai, G., Komoda, H., Suzuki, M., Takaso, M., Furuya, T., Toyone, T., Takahashi, K. 2012b. Epidural administration of spinal nerves with the tumor necrosis factor-alpha inhibitor, etanercept, compared with dexamethasone for treatment of sciatica in patients with lumbar spinal stenosis: a prospective randomized study. *Spine (Philia Pa 1976).*, 37(6): 439-44.

Okamoto, K., Martin, D.P., Schmelzer, J.D., Mitsui, Y., Low, P.A. 2001. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in rat sciatic nerve chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Exp Neurol.*, 169(2): 386-91.

**Onda, A., Yabuki, S., Kikuchi, S. 2003.** Effects of neutralizing antibodies to tumor necrosis factor-alpha on nucleus pulposus-induced abnormal nociceptive responses in rat dorsal horn neurons. *Spine (Phila Pa 1976)*, 28(10): 967-972.

**Otani, K., Watanabe, T., Tanigawa, T., Okazaki, H., Yamagami, H., Watanabe, K., Tominaga, K., Fujiwara, Y., Oshitani, N., Arakawa, T. 2009.** Anti-inflammatory effects of IL-17A on Helicobacter pylori-induced gastritis. *Biochem Biophys Res Commun.*, 382(2): 252-8.

**Ouyang, G., Liu, Z., Huang, S., Li, Qianglong., Xiong, Li., Miao, X., Wen, Y. 2016.** Gemcitabine plus cisplatin versus gemcitabine alone in the treatment of pancreatic cancer: a meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*, 14: 59.

**Oztas, E. 2003.** Neuronal tracing. *Neuroanatomy*, 2: 2-5.

**Pachman, D.R., Barton, D.L., Watson, J.C., Loprinzi, C.L. 2011.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 90(3): 377-387.

**Pahl, H.L. 1999.** Activators and target genes of Rel/NF- $\kappa$ B transcription factors. *Oncogene*, 18: 6853-6866.

**Paice, J.A. 2009.** Clinical challenges: chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Seminars in Oncology Nursing*, 25(2): S8-S19.

**Park, S.B., Krishnan, A.V., Lin, C.S.Y., Goldstein, D., Friedlander, M., Kiernan, M.C. 2008.** Mechanisms underlying chemotherapy-induced neurotoxicity and the potential for neuroprotective strategies. *Current Medicinal Chemistry*, 15: 3081-3094.

**Park, S.B., Goldstein, D., Krishnan, A.V., Lin, C.S.Y., Friedlander, M.L., Cassidy, J., Koltzenburg, M., Kiernan, M.C. 2013.** Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity: a critical analysis. *CA Cancer J Clin.*, 63: 419-437.

**Park, H.J. 2014.** Chemotherapy induced peripheral neuropathic pain. *Korean J Anesthesiol*, 67(1): 4-7.

**Parkin, D.M., Pisani, P., Ferlay, J. 1999.** Global cancer statistics. *CA CANCER J CLIN.*, 49: 33-64.

**Peng, N., Liu, J.T., Guo, F., Li, R. 2010.** Epigallocatechin-3-gallate inhibits interleukin-6- and angiotensin II-induced production of C-reactive protein in vascular smooth muscle cells. *Life Sciences*, 86: 410-415.

**Pergolizzi, J.V., LeQuang, J.A. 2012.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: Chemotherapy-induced neuropathic pain, Editorler: Raffa, R.B., Langford, R., Pergolizzi, J.V., Porreca, F., Tallarida, R.J., CRC Press, US, pp: 19-94.

**Peters, C.A., Jimenez-Andrade, M., Kuskowski, M.A., Ghilardi, J.R., Mantyh, P.W. 2007a.** An evolving cellular pathology occurs in dorsal root ganglia, peripheral nerve and spinal cord following intravenous administration of paclitaxel in the rat. *Brain Res.*, 1168: 46-59.

**Peters, C.M., Jimenez-Andrade, J.M., Jonas, B.M, Sevcik, M.A., Koewler, N.J., Ghilardi, J.R., Wong, G.Y., Mantyh, P.W. 2007b.** Intravenous paclitaxel administration in the rat induces a peripheral sensory neuropathy characterized by macrophage infiltration and injury to sensory neurons and their supporting cells. *Experimental Neurology*, 203: 42-54.

**Pevida, M., Lastra, A., Hidalgo, A., Baamonde, A., Menendez, L. 2013.** Spinal CCL2 and microglial activation are involved in paclitaxel-evoked cold hyperalgesia. *Brain Res Bull.*, 95: 21-7.

**Philip, P.A. 2002.** Gemcitabine and platinum combinations in pancreatic cancer. *Cancer*, 95: 908-11.

**Piccolo, J., Kolesar, J.M. 2014.** Prevention and treatment of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Am J Health Syst Pharm.*, 71: 19-25.

**Pisani, P., Parkin, D.M., Bray, F., Ferlay, J. 1999.** Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int. J. Cancer*, 83: 18-29.

**Pizzi, M., Sarnico, I., Boroni, F., Benarese, M., Steimberg, N., Mazzoleni, G., Dietz, G.P., Bahr, M., Liou, H.C., Spano, P.F. 2005.** NF-kappaB factor c-Rel mediates neuroprotection elicited by mGlu5 receptor agonists against amyloid beta-peptide toxicity. *Cell Death Differ.*, 12(7): 761-72.

**Plotkin, S.R., Wen, P.Y. 2003.** Neurologic complications of cancer therapy. *Neurol Clin N Am.*, 21: 279-318.

**Plow, E.F., Haas, T.A., Zhang, L., Loftus, J., Smith, J.W. 2000.** Ligand binding to integrins. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(29): 21785-21788.

**Podratz, J.L., Knight, A.M., Ta, L.E., Staff, N.P., Gass, J.M., Genelin, K., Schlattau, A., Lathroum, L., Winebank, A.J. 2011.** Cisplatin induced mitochondrial DNA damage in dorsal root ganglion neurons. *Neurobiol Dis.*, 41(3): 661-668.

**Pollock, J., McFarlane, S.M., Connell, M.C., Zehavi, U., Vandenabeele, P., MacEwan, D.J., Scott, R.H. 2002.** TNF-alpha receptors simultaneously activate Ca<sup>2+</sup> mobilisation and stress kinases in cultured sensory neurones. *Neuropharmacology*, 42(1): 93-106.

**Polytarchou, C., Papadimitriou, E. 2004.** Antioxidants inhibit angiogenesis in vivo through down-regulation of nitric oxide synthase expression and activity. *Free Radic Res.*, 38(5): 501-8.



- Poncelet, A.N. 1998.** An algorithm for the evaluation of peripheral neuropathy. *Am Fam Physician*, 57(4): 755-764.
- Poole, S., Cunha, F.Q., Selkirk, S., Lorenzetti, B.B., Ferreira, S.H. 1995.** Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-10. *British Journal of Pharmacology*, 115: 684-688.
- Popiolek-Barczyk, K., Makuch, W., Rojewska, E., Pilat, D., Mika, J. 2014.** Inhibition of intracellular signaling pathways NF- $\kappa$ B and MEK1/2 attenuates neuropathic pain development and enhances morphine analgesia. *Pharmacological Reports*, 66(5): 845-851.
- Postma, T.J., Heimans, J.J. 2000.** Grading of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Annals of Oncology*, 11: 509-513.
- Pozzi, A., Zent, R. 2003.** Integrins: sensors of extracellular matrix and modulators of cell function. *Nephron Exp Nephrol.*, 94(3): e77-84.
- Prabhu, L., Mundade, R., Korc, M., Loehrer, P.J., Lu, T. 2014.** Critical role of NF- $\kappa$ B in pancreatic cancer. *Oncotarget*, 5(22): 10969-10975.
- Qanungo, S., Uys, J.D., Manevich, Y., Distler, A.M., Shaner, B., Hill, E.G., Mieczal, J.J., Lemasters, J.J., Townsend, D.M., Nieminen, A.L. 2014.** N-acetyl-L-cysteine sensitizes pancreatic cancers to gemcitabine by targeting the NF $\kappa$ B pathway. *Biomed Pharmacother.*, 68(7): 855-864.
- Qian, Y., Liu, C., Hartupee, J., Altuntas, C.Z., Gulen M.F., Jane-Wit, D., Xiao, J., Lu, Y., Giltiy, N., Liu, J., Kordula, T., Zhang, Q.W., Vallance, B., Swaidani, S., Aronica, M., Tuohy, V.K., Hamilton, T., Li, X. 2007.** The adaptor Act1 is required for interleukin 17- dependent signaling associated with autoimmune and inflammatory disease. *Nat Immunol.*, 8(3): 247-56.
- Quasthoff, S., Hartung, H.P. 2002.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol.*, 249: 9-17.
- Quesada, J.R., Talpaz, M., Rios, A., Kurzrock, R., Gutterman, J.U. 1986.** Clinical toxicity of interferons in cancer patients: a review. *J Clin Oncol.*, 4(2): 234-43.
- Racz, I., Nadal, X., Alferink, J., Banos, J.E., Rehnelt, J., Martin, M., Pintado, B., Gutierrez-Adan, A., Sanguino, E., Bellora, N., Manzanares, J., Zimmer, A., Maldonado, R. 2008.** Interferon- $\gamma$  is a critical modulator of CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor signaling during neuropathic pain. *The Journal of Neuroscience*, 28(46): 12136-12145.
- Raffa, R.B., Pergolizzi, J.V. 2012.** Cancer chemotherapy-induced neuropathic pain: Chemotherapy-induced neuropathic pain, Editörler: Raffa, R.B., Langford, R., Pergolizzi, J.V., Porreca, F., Tallarida, R.J., CRC Press, US, pp: 113-135.

**Raimondi, S., Maisonneuve, P., Lowenfels, A.B. 2009.** Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*, 6(12): 699-708.

**Ramer, M.S., Murphy, P.G., Richardson, P.M., Bisby, M.A. 1998.** Spinal nerve lesion-induced mechanoallodynia and adrenergic sprouting in sensory ganglia are attenuated in interleukin-6 knockout mice. *Pain*, 78(29): 115-21.

**Ramesh, G., MacLean, A.G., Philipp, M.T. 2013.** Cytokines and chemokines at the crossroads of neuroinflammation, neurodegeneration, and neuropathic pain. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/480739>.

**Ramesh, R., Kozhaya, L., McKevitt, K., Djuretic, I.M., Carlson, T.J., Quintero, M.A., McCauley, J.L., Abreu, M.T., Unutmaz, D., Sundrud, M.S. 2014.** Pro-inflammatory human Th17 cells selectively express P-glycoprotein and are refractory to glucocorticoids. *J Exp Med.*, 211(1): 89-104.

**Rayet, B., Gelinas, C. 1999.** Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene*, 18: 6938-6947.

**Razaghi, A., Owens, L., Heimann, K. 2016.** Review of the recombinant human interferon gamma as an immunotherapeutic: impacts of production platforms and glycosylation. *Journal of biotechnology. Journal of Biotechnology*, 240: 48-60.

**Rebbaa, A., Chu, F., Davis, F.B., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2008.** Novel function of the thyroid hormone analog tetraiodothyroacetic acid: a cancer chemosensitizing and anti-cancer agent. *Angiogenesis*, 11(3): 269-276.

**Rebbaa, A., Patil, G., Yalcin, M., Sudha, T., Mousa, S.A. 2013.** OT-404, multi-targeted anti-cancer agent affecting tumor proliferation, chemo-resistance, and angiogenesis. *Cancer Letters*, 332: 55-62.

**Ren, K., Torres, R. 2009.** Role of interleukin-1 $\beta$  during pain and inflammation. *Brain Res Rev.*, 60(1): 57-64.

**Riaz, S.S., Tomlinson, D.R. 1996.** Neurotrophic factors in peripheral neuropathies: pharmacological strategies. *Progress in Neurobiology*, 49: 125-143.

**Richter, F., Natura, G., Ebbinghaus, M., von Banchet, G.S., Hensellek, S., König, C., Brauer, R., Schaible, H.G. 2012.** Interleukin-17 sensitizes joint nociceptors to mechanical stimuli and contributes to arthritic pain through interleukin-17 receptors in rodents. *Arthritis & Rheumatism*, 64(12): 4125-4134.

**Rieger, P.T. 2004.** The biology of cancer genetics. *Seminars in Oncology Nursing*, 20: 145-154.

**Robertson, B., Xu, X.J., Hao, J.X., Wiesenfeld-Hallin, Z., Mhlanga, J., Grant, G., Kristenson, K. 1997.** Interferon-gamma receptors in nociceptive pathways: role in neuropathic pain-related behaviour. *Neuroreport*, 8(5): 1311-6.

**Rose, M.I. 2012.** Nerve decompression for chemotherapy-induced neuropathic pain: Chemotherapy-induced neuropathic pain, Editörler: Raffa, R.B., Langford, R., Pergolizzi, J.V., Porreca, F., Tallarida, R.J., CRC Press, US, pp: 195-204.

**Rose-John, S., Scheller, J., Elson, G., Jones, S.A. 2006.** Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, 80: 227-236.

**Rose-John, S. 2012.** IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int. J. Biol. Sci.*, 8: 1237-1247.

**Rosenberg, B. 1985.** Fundamental studies with cisplatin. *Cancer*, 55: 2303-2316.

**Roshani, R., McCarthy, F., Hagemann, T. 2014.** Inflammatory cytokines in human pancreatic cancer. *Cancer Letters*, 345: 157-163.

**Ruohonen, S., Khademi, M., Jagodic, M., Taskinen, H.S., Olsson, T., Røyttä, M. 2005.** Cytokine responses during chronic denervation. *J Neuroinflammation*, 2(26): 1-11.

**Russell, J.W., Windebank, A.J., McNiven, M.A., Brat, D.J., Brimijoin, W.S. 1995.** Effect of cisplatin and ACTH4-9 on neural transport in cisplatin induced neurotoxicity. *Brain Res.*, 676(2): 258-67.

**Russell, M.T., Nassif, A.S, Cacayorin, E.D., Awwad, E., Perman, W., Dunphy, F. 2001.** Gemcitabine-associated posterior reversible encephalopathy syndrome: MR imaging and MR spectroscopy findings. *Magn Reson Imaging*, 19(1): 129-32.

**Ryerson, M.H. 2011.** Chapter 9: The nervous system and homeostasis. [https://www.mheducation.ca/web\\_resources/sch/Biology%2012%20Sampler.pdf](https://www.mheducation.ca/web_resources/sch/Biology%2012%20Sampler.pdf) (Erişim tarihi: 2017).

**Sacerdote, P., Franchi, S., Trovato, A.E., Valsecchi, A.E., Panerai, A.E., Colleoni, M. 2008.** Transient early expression of TNF-alpha in sciatic nerve and dorsal root ganglia in a mouse model of painful peripheral neuropathy. *Neurosci Lett.*, 436(2): 210-3.

**Safaei, R. 2006.** Role of copper transporters in the uptake and efflux of platinum containing drugs. *Cancer Lett.*, 234(1): 34-9.

**Sahni, A., Francis, C.W. 2004.** Stimulation of endothelial cell proliferation by FGF-2 in the presence of fibrinogen requires  $\alpha_v\beta_3$ . *Blood*, 104: 3635-3641.

**Samad, T.A., Moore, K.A., Sapirstein, A., Billet, S., Allchorne, A., Poole, S., Bonventre, J.V., Woolf, C.J. 2001.** Interleukin-1 $\beta$ -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature*, 410: 471-475.

**Sanders, L.C., Felding-Haberman, B., Mueller, B.M., Cheresch, D.A. 1992.** Role of  $\alpha_v$  integrins and vitronectin in human melanoma cell growth. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, doi:10.1101/SQB.1992.057.01.028.

**Santulli, G., Basilicata, M.F., Simone, M.D., Giudice, C.D., Anastasio, A., Sorriento, D., Saviano, M., Gatto, A.D., Trimarco, B., Pedone, C., Zaccaro, G.I. 2011.** Evaluation of the anti-angiogenic properties of the new selective  $\alpha_v\beta_3$  integrin antagonist RGDechiHCit. *Journal of Translational Medicine*, 9:7.

**Schaefer, S.D., Post, J.D., Close, L.G., Wright, C.G. 1985.** Ototoxicity of low- and moderate-dose cisplatin. *Cancer*, 56(8): 1934-1939.

**Schafers, M., Sorkin, L.S., Geis, C., Shubayev, V.I. 2003a.** Spinal nerve ligation induces transient upregulation of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 in injured and adjacent uninjured dorsal root ganglia in the rat. *Neuroscience Letters*, 347: 179-182.

**Schafers, M., Geis, C., Svensson, C.I., Luo, Z.D., Sommer, C. 2003b.** Selective increase of tumor necrosis factor- $\alpha$  in injured and spared myelinated primary afferents after chronic constrictive injury of rat sciatic nerve. *Eur J Neurosci.*, 17(4). 791-804.

**Schafers, M., Lee, D.H., Brors, D., Yaksh, T.L., Sorkin, L.S. 2003c.** Increased sensitivity of injured and adjacent uninjured rat primary sensory neurons to exogenous tumor necrosis factor- $\alpha$  after spinal nerve ligation. *The Journal of Neuroscience*, 23(7): 3028-3038.

**Schafers, M., Svensson, C.I., Sommer, C., Sorkin, L.S. 2003d.** Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces mechanical allodynia after spinal nerve ligation by activation of p38 MAPK in primary sensory neurons. *The Journal of Neuroscience*, 23(7): 2517-2521.

**Schafers, M., Sorkin, L. 2008.** Effect of cytokines on neuronal excitability. *Neuroscience Letters*, 437: 188-193.

**Schafers, M., Sommer, C., Geis, C., Hagenacker, T., Vandenabeele, P., Sorkin, L.S. 2008.** Selective stimulation of either tumor necrosis factor receptor differentially induces pain behavior in vivo and ectopic activity in sensory neurons in vitro. *Neuroscience*, 157(2): 414-23.

**Scheller, J., Chalaris, Schmidt-Arras, D., Rose-John, S. 2011.** The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813: 878-888.

**Schindler, R., Gelfand, J.A., Dinarello, C.A. 1990.** Recombinant C5a stimulates transcription rather than translation of interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor: translational signal provided by lipopolysaccharide or IL-1 itself. *Blood*, 76(8):1631-8.

**Schlafani, F., Iyer, R., Cunningham, D., Starling, N. 2015.** Management of metastatic pancreatic cancer: current treatment options and potential new therapeutic targets. *Crit Rev Oncol Hematol*, 95(3): 318-336.

**Schloss, J.M, Colosimo, M., Airey, C., Masci, P.P., Linnane, A.W., Vitetta, L. 2013.** Nutraceuticals and chemotherapy induced peripheral neuropathy (CIPN): a systematic review. *Clinical Nutrition*, 32(6): 888-893.

**Schloss, J.M., Colosimo, M., Airey, C., Vitetta, L. 2015.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy (CIPN) and vitamin B12 deficiency. *Support Care Cancer*, 23(7): 1843-50.

**Schloss, J., Colosimo, M., Vitetta, L. 2016.** New insights into potential prevention and management options for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Asia Pac J Oncol Nurs*. 3(1): 73-85.

**Schmidt, Y., Unger, J.W., Bartke, I., Reiter, R. 1995.** Effect of nerve growth factor on peptide neurons in dorsal root ganglia after taxol or cisplatin treatment and in diabetic (db/db) mice. *Exp., Neurol.*, 132(1): 16-23.

**Schmitz, M.L., Baeuerle, P.A. 1991.** The p65 subunit is responsible for the strong transcription activating potential of NF-kappa B. *EMBO J.*, 10(12): 3805-3817.

**Schoenborn, J.R., Wilson, C.B. 2007.** Regulation of interferon- $\gamma$  during innate and adaptive immune responses. *Advances in immunology*, 96: 41-101.

**Scholz, J., Woolf, C.J. 2007.** The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci.*, 10(11): 1361-8.

**Schreiber, S., Fedorak, R.N., Nielsen, O.H., Wild, G., Williams, C.N., Nikolaus, S., Jacyna, M., Lashner, B.A., Gangl, A., Rutgeerts, P., Isaacs, K., van Deventer, S.J.H., Koningsberger, J.C., Cohard, M., LeBeaut, A., Hanauer, S.B. 2000.** Safety and efficacy of recombinant human interleukin 10 in chronic active Chron's disease. Crohn's disease IL-10 cooperative study group. *Gastroenterology*, 119(6): 1461-72.

**Schroder, K., Hertzog, P.J., Ravasi, T., Hume, D.A. 2004.** Interferon- $\gamma$ : an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, 75(2): 163-189.

**Schroder, K., Sweet, M.J., Hume, D.A. 2006.** Signal integration between IFN $\gamma$  and TLR signalling pathways in macrophages. *Immunobiology*, 211: 511-524.

**Schubert, R., Erker, L., Barlow, C., Yakushij H., Larson, D., Russo, A., Mitchell, J.B., Wynshaw-Boris, A. 2004.** Cancer chemoprevention by the antioxidant tempol in *Atm*-deficient mice. *Human Molecular Genetics*, 13(16): 1793-1802.

**Schwartz, M.A., Schaller, M.D., Ginsberg, M.H. 1995.** Integrins: Emerging paradigms of signal transduction. *Annu Rev. Cell Dev. Biol.* 11: 549-99.

**Schweizer, A., Feige, U., Fontana, A., Müller, K., Dinarello, C.A. 1988.** Interleukin-1 enhances pain reflexes. Mediation through increased prostaglandin E2 levels. *Agents Actions*, 225(3-4): 246-51.

**Scott, R.H., Woods, A.J., Lacey, M.J., Fernando, D., Crawford, J.H. 1995.** An electrophysiological investigation of the effects of cisplatin and the protective actions of dexamethasone on cultured dorsal root ganglion neurones from neonatal rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 352(3): 247-255.

**Screnci, D., McKeage, M.J. 1999.** Platinum neurotoxicity: clinical profiles, experimental models and neuroprotective approaches. *J Inorg Biochem.*, 77(1-2): 105-110.

**Screnci, D., McKeage, M.J., Galettis, P., Hambley, T.W., Palmer, B.D., Baguley, B.C. 2000.** Relationships between hydrophobicity, reactivity, accumulation and peripheral nerve toxicity of a series of platinum drugs. *British Journal of Cancer*, 82(4): 966-972.

**Scuteri, A., Galimberti, A., Maggioni, D., Ravasi, M., Pasini, S., Nicolini, G., Bossi, M., Miloso, M., Cavaletti, G., Tredici, G. 2009.** Role of MAPKs in platinum-induced neuronal apoptosis. *NeuroToxicology*, 30(2): 312-319.

**Scuteri, A., Galimberti, A., Ravasi, M., Pasini, S., Elisabetta Donzelli, E., Cavaletti, G., Tredici, G. 2010.** NGF protects Dorsal Root Ganglion neurons from oxaliplatin by modulating JNK/Sapk and ERK1/2. *Neuroscience Letters*, 486(3): 141-145.

**Seguin, L., Desgrosellier, J.S., Weis, S.M., Cheresch, D.A. 2015.** Integrins and cancer: regulators of cancer stemness, metastasis, and drug resistance. *Trends in Cell Biology*, 25(4): 234-240.

**Sen, R., Baltimore, D. 1986.** Inducibility of K Immunoglobulin Enhancer-Binding Protein NF- $\kappa$ B by a Posttranslational Mechanism. *Cell*, 47: 921-928.

**Seretny, M., Currie, G.L., Sena, E.S., Ramnarine, S., Grant, R., MacLeod, M.R., Colvin, L.A., Fallon, M. 2014.** Incidence, prevalence, and predictors of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A systematic review and meta-analysis. *Pain*, 155: 2461-2470.

**Sfikakis, P.P. 2010.** The first decade of biologic TNF antagonists in clinical practice: lessons learned, unresolved issues and future directions. *Curr Dir Autoimmun.*, 11: 180-210.

**Shamash, S., Reichert, F., Rotshenker, S. 2002.** The Cytokine Network of Wallerian Degeneration: Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Interleukin-1 $\alpha$ , and Interleukin-1 $\beta$ . *The Journal of Neuroscience*, 22(8): 3052-3060.

**Shankar, S., Ganapathy, S., Hingorani, S.R., Srivastava, R.K. 2008.** EGCG inhibits growth, invasion, angiogenesis and metastasis of pancreatic cancer. *Front Biosci*, 1(13): 440-52.

**Shankar, S., Marsh, L., Srivastava, R.K. 2013.** EGCG inhibits growth of human pancreatic tumors orthotopically implanted in Balb C nude mice through modulation of FKHL1/FOXO3a and neuropilin. *Mol Cell Biochem*, 372: 83-94.

**Shao, Q., Li, Y., Wang, Q., Zhao, J. 2015.** IL-10 and IL-1 $\beta$  mediate neuropathic-pain like behavior in the ventrolateral orbital cortex. *Neurochemical Research*, 40(4): 733-739.

**Sharawy, N., Rashed, L., Youakim, M.F. 2015.** Evaluation of multi-neuroprotective effects of erythropoietin using cisplatin induced peripheral neurotoxicity model. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 67(4): 315-322.

**Shembade, N., Harhaj, E.W. 2011.** IKKi: a novel regulator of Act1, IL-17 signaling and pulmonary inflammation. *Cellular & Molecular Immunology*, 8: 447-449.

**Shinderman-Maman, E., Cohen, K., Weingarten, C., Nabriski, D., Twito, O., Baraf, L., Hercbegs, A., Davis, P.J., Werner, H., Ellis, M., Ashur-Fabian, O. 2016.** The thyroid hormone- $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin axis in ovarian cancer: regulation of gene transcription and MAPK-dependent proliferation. *Oncogene*, 35: 1977-1987.

**Shuai, K., Liu, B. 2003.** Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat Rev Immunol.*, 3(11): 900-11.

**Shubayev, V.I., Myers, R.R. 2000.** Upregulation and interaction of TNF-alpha and gelatinases A and B in painful peripheral nerve injury. *Brain Res.*, 855(1): 83-9.

**Shubayev, V.I., Myers, R.R. 2002.** Anterograde TNF alpha transport from rat dorsal root ganglion to spinal cord and injured sciatic nerve. *Neurosci Lett.*, 320(1-2). 99-101.

**Siegel, R., Naishadham D., Jemal, A. 2013.** Cancer statistics. *CA Cancer J CLIN.*, 63: 11-30.

**Shih, R.H., Wang, C.Y., Yang, C.M. 2015.** NF-kappaB Signaling Pathways in Neurological Inflammation: A Mini Review. *Front. Mol. Neurosci.*, 8(77): 1-8.

**Simi, A., Tsakiri, N., Wang, P., Rothwell, N.J. 2007.** Interleukin-1 and inflammatory neurodegeneration. *Biochemical Society Transactions*, 35(5): 1122-1126.

**Singh, J.A., Beg, S., Lopez-Olivo, M.A. 2010.** Tocilizumab for rheumatoid arthritis. *Cochane Database Syst Rev.* 7: CD008331.

**Singh, B.N., Shankar, S., Srivastava, R.K. 2011.** Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol.*, 82(12): 1807-1821.

**Singh, D., Upadhyay, G., Srivastava, R.K., Shankar, S. 2015.** Recent advances in pancreatic cancer: biology, treatment, and prevention. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1856: 13-27.

**Singh, A.K. Umar, S., Riegsecker, S., Chourasia, M., Ahmed, S. 2016.** Regulation of TAK1 activation by epigallocatechin-3-gallate in RA synovial fibroblasts: suppression of K63-linked autoubiquitination of TRAF6. *Arthritis Rheumatol.*, 68(2): 347-358.

**Smith, E.M., Pang, H., Cirrincione, C., Fleishman, S., Paskett, E.D., Ahles, T., Bressler, L.R., Fadul, C.E., Knox, C., Le-Lindqwister, N., Gimán, P.B., Shapiro, C.L., Alliance for Clinical Trials in Oncology. 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): 1359-67.

**Smith, M.T., Anand, P., Rice, A.S. 2016.** Selective small molecule angiotensin II type 2 receptor antagonist for neuropathic pain: preclinical and clinical studies. *Pain*, 157 Suppl 1: S33-41.

**Somanath, P.R., Ciocea, A., Byzova T.V. 2009.** Integrin and growth factor receptor alliance in angiogenesis. *Cell Biochem Biophys.*, 53(2): 53-64.

**Sommer, C., Schmidt, C., George, A. 1998a.** Hyperalgesia in experimental neuropathy is dependent on the TNF receptor 1. *Exp Neurol.*, 151(1): 138-42.

**Sommer, C., Marziniak, M., Myers, R.R. 1998b.** The effect of thalidomide treatment on vascular pathology and hyperalgesia caused by chronic constriction injury of rat nerve. *Pain*, 74(1): 83-91.

**Sommer, C., Petrusch, S., Lindenlaub, T., Toyka, K.V. 1999.** Neutralizing antibodies to interleukin 1-receptor reduce pain associated behavior in mice with experimental neuropathy. *Neurosci Lett.*, 270(1): 25-8.

**Sommer, C., Lindenlaub, T., Teuteberg, P., Schafers, M., Hartung, T., Toyka, K.V. 2001a.** Anti-TNF-neutralizing antibodies reduce pain-related behaviour in two different mouse models of painful mononeuropathy. *Brain Research*, 913(1): 86-89.

**Sommer, C., Schafers, M., Marziniak, M., Toyka, K.V. 2001b.** Etanercept reduces hyperalgesia in experimental painful neuropathy. *J Peripher Nerv Syst.*, 6(2): 67-72.

**Sun, T., Song, W.G., Fu, Z.J., Liu, Z.H., Liu, Y.M., Yao, S.L. 2006.** Alleviation of neuropathic pain by intrathecal injection of antisense oligonucleotides to p65 subunit of NF- $\kappa$ B. *British Journal of Anaesthesia*, 97(4): 553-8.

**Sommer, C., Kress, M. 2004.** Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neurosci Lett.*, 361(1-3): 184-7.

**Sorkin, L.S., Doom, C.M. 2000.** Epineurial application of TNF elicits an acute mechanical hyperalgesia in the awake rat. *J Peripher Nerv Syst.*, 5(2): 96-100.

**Soudy, R., Byeon, N., Raghuvanshi, Y., Ahmed, S., Lavasanifar, A., Kaur, K. 2016.** Engineered peptides for applications in cancer targeted drug delivery and tumor detection. *Mini Rev Med Chem.*, DOI: 10.2174/1389557516666160219121836.



**Sprowl, J.A., van Doorn, L., Hu, S., van Gerven, L., de Bruijin, P., Li, L., Gibson, A.A., Mathijssen, R.H., Sparreboom, A. 2013.** Conjunctive therapy of cisplatin with the OCT2 inhibitor cimetidine: influence on antitumor efficacy and systemic clearance. *Clin Pharmacol Ther.*, 94(5): 585-92.

**Srichai, M.B., Zent, R. 2010.** Integrin structure and function: Cell-extracellular matrix interactions in cancer, Ed.: Zent, R., Pozzi, A., Springer Science+Business Media, LLC, pp: 19-41.

**Srirangan, S., Choy, E.H. 2010.** The role of Interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Ther Adv Musculoskel Dis.*, 2(5): 247-256.

**Stacchiotti, A., Rezzani, R., Rodella, L., Ventura, R.G. 1995.** Lysosomal changes in rat spinal ganglia neurons after prolonged treatment with cisplatin. *Acta Ana.*, 153: 236-242.

**Starkweather, A., 2010.** Increased Interleukin-6 activity associated with painful chemotherapy-induced peripheral neuropathy in women after breast cancer treatment. *Nursing Research and Practice*, 210: 281531.

**Stillman, M., Cata, J.P. 2006.** Management of Chemotherapy-induced Peripheral Neuropathy. *Current Pain and Headache Reports*, 10: 279-287.

**Storey, D.J., Colvin, L.A., Mackean, M.J., Mitchell, R., Fleet-Walker, S.M., Fallon, M.T. 2010.** Reversal of dose-limiting carboplatin-induced peripheral neuropathy with TRPM8 activator, menthol, enables further effective chemotherapy delivery. *Letters*, 39(6): e2-e4.

**Strumberg, D., Brügge, M., Korn, W., Koeppen, S., Ranft, J., Scheiber, G., Reiners, C., Möckel, C., Seeber, S., Scheulen, M.E. 2002.** Evaluation of long-term toxicity in patients after cisplatin-based chemotherapy for non-seminomatous testicular cancer. *Annals of Oncology*, 13:229-236.

**Sudha, T., Bharali, D.J., Darwish, N.H.E., Debreli-Coskun, M., Lin, Q., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2016.** Abstract 2166: Targeted delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors via systemic Nano-diamino-tetrac. AACR 107th Annual Meeting, 16-20 April, 2016, Orleans, LA.

**Sudha, T., Bharali, D.J., Yalcin, M., Darwish, N.H.E., Debreli-Coskun, M. Keating, K.A., Lin, H.Y., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2017a.** Targeted delivery of paclitaxel and doxorubicin to cancer xenografts via the nanoparticle of nano-diamino-tetrac. *International Journal of Nanomedicine*, 12: 1305-1315.

**Sudha, T., Bharali, D.J., Yalcin, M., Darwish, N.H.E., Debreli-Coskun, M. Keating, K.A., Lin, H.Y., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2017b.** Targeted delivery of cisplatin to tumor xenografts via the nanoparticle component of nano-diamino-tetrac. *Nanomedicine (Lond.)*, 12(3): 195-205.

**Sul, J.K., Deangelis, L.M. 2006.** Neurologic complications of cancer chemotherapy. *Semin Oncol.*, 33(3): 324-32.

**Sykam, A., Gutlapalli, V.R., Tenali, S.P., Meena, A.K., Chandran, P., Pratap, D.V.S., Suneetha, S., Suneetha, L.M. 2015.** Association of tumor necrosis factor-alpha and interferon gamma gene polymorphisms and their plasma levels in leprosy, HIV and other peripheral neuropathies. *Cytokine*, 76: 473-479.

**Swardfager, W., Lanctot, K., Rothenburg, L., Wong, A., Cappell, J. Herrmann, N. A 2010.** Meta-Analysis of Cytokines in Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry.*, 68(10):930-41.

**Sweitzer, S., Martin, D., DeLeo, J.A. 2001.** Intrathecal interleukin-1 receptor antagonist in combination with soluble tumor necrosis factor receptor exhibits an anti-allodynic action in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience*, 103(2): 529-539.

**Ta, L.E., Espeset, L., Podratz, J., Windebank, A.J. 2006.** Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology*, 27(6): 992-1002.

**Ta, L.E., Schmelzer, J.D., Bieber, A.J., Loprinzi, C.L., Sieck, G.C., Brederson, J.D., Low, P.A., Windebank, A.J. 2013.** A novel and selective poly (ADP-Ribose) polymerase inhibitor ameliorates chemotherapy-induced painful neuropathy. *PLOS ONE*, 8(1): e54161.

**Tak, P.P., Firestein, G.S. 2001.** NF- $\kappa$ B: a key role in inflammatory diseases. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(1): 7-11.

**Takada-Takatori, Y., Kume, T., Sugimoto, M., Katsuki, H., Sugimoto, H., Akaike, A. 2006.** Acetylcholinesterase inhibitors used in treatment of Alzheimer's disease prevent glutamate neurotoxicity via nicotinic acetylcholine receptors and phosphatidylinositol 3-kinase cascade. *Neuropharmacology*, 51(3): 474-86.

**Talar-Wojnarowska, R., Gasiorowska, A., Smolarz, B., Romanowicz-Makowska, H., Kulig, A., Malecka-Panas, E. 2009.** Clinical significance of interleukin-6 (IL-6) gene polymorphism and IL-6 serum level in pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci.*, 54(3): 683-9.

**Tang, S.N., Fu, J., Shankar, S., Srivastava, R.K. 2012.** EGCG enhances the therapeutic potential of gemcitabine and CP690550 by inhibiting STAT3 signaling pathway in human pancreatic cancer. *PLoS One*, 7(2): e31067.

**Tartour, E., Fossiez, F., Joyeux, I., Galinha, A., Gey, A., Claret, E., Sastre-Garau, X., Couturier, J., Mosseri, V., Vives, V., Bancherau, J. Fridman, W.H., Wijdenes, J., Lebecque, S., Sautes-Fridman, C. 1999.** Interleukin 17, a T-cell-derived cytokine, promotes tumorigenicity of human cervical tumors in nude mice. *Cancer Research*, 59: 3698-3704.

- Taskinen, H.S., Olsson, T., Bucht, A., Khademi, M., Svelander, L., Roytta, M. 2000.** Peripheral nerve injury induces endoneurial of IFN-gamma, IL-10 and TNF- alpha mRNA. *J Neuroimmunol.*, 102(1): 17-25.
- Teitelbaum, S.L. 2000.** Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 289(5484): 1504-8.
- Thacker, M.A., Clark, A.K., Marchand, F. McMahon, S.B. 2007.** Pathophysiology of Peripheral neuropathic pain: immune cells and molecules. *Anesth Analg.*, 105(3): 838-47.
- Thiemermann, C. 2003.** Membrane-permeable radical scavenger (tempol) for shock, ischemia-reperfusion injury, and inflammation. *Crit Care Med.*, 31(1 Suppl): S76-84.
- Thompson, S., Davis, L.E., Kornfeld, M., Hilgers, R.D., Standefer, J.C. 1984.** Cisplatin neuropathy. *Cancer*, 54: 1269-1275.
- Todd, P.A., Goa, K.L. 1992.** Interferon gamma-1b. *Drugs*, 43(1): 111-122.
- Tokuda, H., Takai, S., Hanai, Y., Matsushima-Nishiwaki, R., Hosoi, T., Harada, A., Ohta, T., Kozawa, O. 2007.** (-)-Epigallocatechin gallate suppresses endothelin-1-induced interleukin-6 synthesis in osteoblasts: Inhibition of p44/p42 MAP kinase activation. *FEBS Letters*, 581(7): 1311-1316.
- Tonini, G., Santini, D., Vincenzi, B., Borzomati, D., Dicuonzo, G., La Cesa, A., Onori, N., Coppola, R. 2002.** Oxaliplatin may induce cytokine-release syndrome in colorectal cancer patients. *J Biol Regul Homeost Agents*, 16(2): 105-9.
- Torpy, J.M., Kincaid, J.L., Glass, R.M. 2010.** Peripheral neuropathy. *JAMA.*, 303(15): 1556.
- Tracy, J.A., Dyck, P.J. 2008.** The spectrum of diabetic neuropathies. *Phys Med Rehabil Clin N Am.*, 19(1): 1-26.
- Traenckner, E.B., Pahl, H.L., Henkel, T., Schmidt, K.N., Wilk, S., Baeuerle, P.A. 1995.** Phosphorylation of human I kappa B-alpha on serines 32 and 36 controls I kappa B-alpha proteolysis and NF-kappa B activation in response to diverse stimuli. *EMBO J.*, 14(12): 2876-83.
- Trivedi, M.S., Hershman, D.L., Crew, K.D. 2015.** Management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *The American Journal of Hematology/Oncology*, 11(1): 1-10.
- Tsuda, M., Masuda, T., Kitano, J., Shimoyama, H., Tozaki-Saitoh, H., Kazuhide, I. 2009.** IFN- $\gamma$  receptor signaling mediates spinal microglia activation driving neuropathic pain. *PNAS*, 106(19): 8032-8037.
- Tucker, G.C. 2003.** Alpha v integrin inhibitors and cancer therapy. *Curr Opin Investig Drugs*, 4(6): 722-31.

- Tulley, P.N., Neale, M., Jackson, D., Chana, J.S., Grover, R., Cree, I., Grobbelaar, A.O., Wilson, G.D. 2004.** The relation between c-myc expression and interferon sensitivity in uveal melanoma. *Br J Ophthalmol.*, 88: 1563-1567.
- Turaga, R.C., Yin, L., Yang, J.J., Lee, H., Ivanov, I., Yan, C., Yang, H., Grossniklaus, H.E., Wang, S., Ma, C., Sun, L., Liu, Z.R. 2016.** Rational design of a protein that binds integrin  $\alpha_v\beta_3$  outside the ligand binding site. *Nat Commun*, 7: 11675.
- Tuveson, D.A. 2009.** Inhibition of hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*, 324(5933): 1457-1461.
- Tzartos, J.S., Friese, M.A., Craner, M.J., Palace, J., Newcombe, J., Esiri, M.M., Fugger, L. 2008.** Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *The American Journal of Pathology*, 172(1): 146-155.
- Uceyler, N., Valenza, R., Stock, M., Schedel, R., Sprotte, G., Sommer, C. 2006.** Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. *Arthritis & Rheumatism*, 54(8): 2656-2664.
- Uceyler, N., Tschärke, A., Sommer, C. 2007.** Early cytokine expression in mouse sciatic nerve after chronic constriction nerve injury depends on calpain. *Brain Behav Immun.*, 21(5): 553-60.
- Uceyler, N., Schafers, M., Sommer, C. 2009.** Mode of action of cytokines on nociceptive neurons. *Exp Brain Res.*, 196(1): 67-78.
- Uceyler, N., Kafke, W., Riediger, N., He, L., Necula, G., Toyka, K.V., Sommer, C. 2010.** Elevated proinflammatory cytokine expression in affected skin in small fiber neuropathy. *Neurology*, 74(22): 1806-13.
- van der Flier, A., Sonnenberg, A. 2001.** Function and interactions of integrins. *Cell Tissue Res.*, 305(3): 285-98.
- Velasco, R., Bruna, J. 2010.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: an unresolved issue. *Neurologia*, 25(2): 116-131.
- Venkatraman, M., Anto, R.J., Nair, A., Varghese, M., Karunagaran, D. 2005.** Biological and chemical inhibitors of NF-kappaB sensitize SiHa cells to cisplatin-induced apoptosis. *Mol Carcinog.*, 44(1): 51-9.
- Verma, R., Balakrishnan, L., Sharma, K., Khan, A.A., Advani, J., Gowda, H., Tripathy, S.P., Suar, M., Pandey, A., Gandotra, S., Prasad, T.S.K., Shankar, S. 2016.** A network map of Interleukin-10 signaling pathway. *J Cell Commun Signal.*, 10: 61-67.
- Verstappen, C.C., Heimans, J.J., Hoekman, K., Postma, T.J. 2003.** Neurotoxic complications of chemotherapy in patients with cancer: clinical signs and optimal management. *Drugs*, 63(15): 1549-63.

**Vikman, K.S., Siddall, P.J., Duggan, A.W. 2005.** Increased responsiveness of rat dorsal horn neurons in vivo following prolonged intrathecal exposure to interferon-gamma. *Neuroscience*, 135(3): 969-977.

**Vikman, K.S., Duggan, A.W., Siddall, P.J. 2007.** Interferon-gamma induced disruption of GABAergic inhibition in the spinal dorsal horn in vivo. *Pain*, 133(1-3): 18-28.

**Viret, F., Ychou, M., Lepille, D., Mineur, L., Navarro, F., Topart, D., Fonck, M., Goineau, J., Madroszyk-Flandin, A., Chouaki, N. 2004.** Gemcitabine in combination with cisplatin (GP) versus gemcitabine (G) alone in the treatment of locally advanced or metastatic pancreatic cancer: Final results of a multicenter randomized phase II study. *J Clin Oncol.*, 22: abstract 4118.

**Visovsky, C., Collins, M., Abbott, L., Aschenbrenner, J., Hart, C. 2007.** Putting evidence into practice: Evidence-based interventions for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 11(6): 901-909.

**Von Hoff, D.D., Ervin, T., Arena, F.P., Chiorean, G., Infante, J., Moore, M., Seay, T., Tjulandin, S.A., Ma, W.W., Saleh, M.N., Harris, M., Reni, M., Dowden, S., Laheru, D., Bahary, N., Ramanathan, R.K., Tabernero, J., Hidalgo, M., Goldstein, D., Cutsem, E.V., Wei, X., Iglesias, J., Renschler, M.F. 2013.** Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *N Engl J Med.*, 369(18): 1691-1703.

**Von Schlippe, M., Fowler, C.J., Harland, S.J. 2001.** Cisplatin neurotoxicity in the treatment of metastatic germ cell tumour: time course and prognosis. *British Journal of Cancer*, 85(6): 823-826.

**Voutsadakis, I.A. 2011.** Molecular predictors of gemcitabine response in pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol.*, 3(11): 153-164.

**Wagner, R., Myers, R.R. 1996.** Endoneurial injection of TNF-alpha produces neuropathic pain behaviors. *Neuroreport*, 7(18): 2897-901.

**Wagner, R., Janjigian, M., Myers, R.R. 1998.** Anti-inflammatory interleukin-10 therapy in CCI neuropathy decreases thermal hyperalgesia, macrophage recruitment, and endoneurial TNF-alpha expression. *Pain*, 74(1): 35-42.

**Wajant, H., Pfizenmaier, K., Scheurich, P. 2003.** Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death and Differentiation*, 10: 45-65.

**Walker, T.L., White, J.D., Esdale, W.J., Burton, M.A., DeCruz, E.E. 1996.** Tumour cells surviving *in vivo* cisplatin chemotherapy display elevated c-myc expression. *British Journal of Cancer*, 73: 610-614.

**Walker, M., Ni, O. 2007.** Neuroprotection during chemotherapy. *Am J Clin Oncol.*, 30: 82-92.

- Wanyong, Y., Zefeng, T., Xiufeng, X., Dawei, D., Xiaoyan L., Ying, Z., Yaogao, F. 2015.** Tempol alleviates intracerebral hemorrhage-induced brain injury possibly by attenuating nitrative stress. *Neuroreport*, 26(14): 842-9.
- Wang, C.Y., Mayo, M.W., Korneluk, R.G., Goeddel, D.V., Baldwin, A.S. 1998.** NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science*, 281(5383): 1680-3.
- Wang, C.Y., Guttridge, D.C., Mayo, M.W., Baldwin, A.S. 1999a.** NF- B Induces Expression of the Bcl-2 Homologue A1/Bfl-1 To Preferentially Suppress Chemotherapy-Induced Apoptosis. *Molecular and Cellular Biology*, 19(9): 5923-5929.
- Wang, W., Abbruzzese, J.L., Evans, D.B., Larry, L., Cleary, K.R., Chiao, P.J. 1999b.** The Nuclear Factor-  $\kappa$ B RelA Transcription Factor Is Constitutively Activated in Human Pancreatic Adenocarcinoma Cells. *Clinical Cancer Research*, 5: 119-127.
- Wang, D., Lippard, S.J. 2005.** Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.*, 4(4): 307-20.
- Wang, X.M., Hamza, M., Wu, T.X., Dionne, R.A. 2009.** Up-regulation of IL-6, IL-8 and CCL2 gene expression after acute inflammation: correlation to clinical pain. *Pain*, 142(3): 275-283.
- Wang, X.M., Lehky, T.J. 2012.** Discovering cytokines as targets for chemotherapy-induced painful peripheral neuropathy. *Cytokine*, 59(1): 3-9.
- Wang, Y., Zhou, Y., Zhou, H., Jia, G., Liu, J., Han, B., Cheng, Z., Jiang, H., Pan, S., Sun, B. 2012.** Pristimerin causes G1 arrest, induces apoptosis, and enhances the chemosensitivity to gemcitabine in pancreatic cancer cells. *PLoS One*, 7(8): e43826.
- Warsame, R., Grothey, A. 2012.** Treatment options for advanced pancreatic cancer: a review. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 12(10): 00-00.
- Warwick, R.A., Hanani M. 2013.** The contribution of satellite glial cells to chemotherapy- induced neuropathic pain. *Eur J Pain.*, 17(4): 571–80.
- Weber, A., Wasiliew, P., Kracht, M. 2010a.** Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Science Signalling*, 3(105): 1-6.
- Weber, A., Wasiliew, P., Kracht, M., 2010b.** Interleukin-1beta (IL-1beta) processing pathway. *Sci Signal.*, 3(105): cm2.
- Wei, X.H., Zang, Y., Wu, C.Y., Xu, J.T., Xin, W.J., Liu, X.G. 2007.** Peri-sciatic administration of recombinant rat TNF-alpha induces mechanical allodynia via upregulation of TNF-alpha in dorsal root ganglia and in spinal dorsal horn: the role of NF-kappa B pathway. *Exp Neurol.*, 205(2): 471-84.

**Wei, F., Guo, W., Zou, S., Ren, K., Dubner, R. 2008.** Supraspinal glial-neuronal interactions contribute to descending pain facilitation. *J Neurosci.*, 28(42): 10482-95.

**Wei, M., Duan, D. 2016.** Efficacy and safety of monoclonal antibodies targeting interleukin-17 pathway for inflammatory arthritis: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Drug Des Devel Ther.*, 10: 2771-2777.

**Weijl, N.I., Cleton, F.J., Osanto, S. 1997.** Free radicals and antioxidants in chemotherapy induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 23: 209-240.

**Weis, S.M., Cheresch, D.A. 2011.**  $\alpha_v$  integrins in angiogenesis and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.*, 1(1): a006478.

**Wickham, R. 2007.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a review and implications for oncology nursing practice. *Clin J Oncol Nurs.*, 11(3): 361-76.

**Wigmore, S.J., Fearon, K.C.H., Sangster, K., Maingay, J.P., Garden, O.J., Ross, J.A. 2002.** Cytokine regulation of constitutive production of interleukin-8 and -6 by human pancreatic cancer cell lines and serum cytokine concentrations in patients with pancreatic cancer. *International Journal of Oncology*, 21: 881-886.

**Wilcox, C.S. 2010.** Effects of tempol and redox-cycling nitroxides in models of oxidative stress. *Pharmacol Ther.*, 126(2): 119-145.

**Wilder, R.L. 2002.** Integrin alpha V beta 3 as a target for treatment of rheumatoid arthritis and related rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.*, 61(Suppl II): ii96-ii99.

**Wilkes, G. 2007.** Peripheral neuropathy related to chemotherapy. *Seminars in Oncology Nursing*. 23(3): 162-173.

**Willis, W.D. 2000.** The nervous system: In R.M. Berne & M.N. Levy (Eds.), Principles of physiology, St. Louis, Mosby, pp: 68-94.

**Wils, J.A., Kok, T., Wagener, D.J., Selleslags, J., Duez, N. 1993.** Activity of cisplatin in adenocarcinoma of the pancreas. *Eur J Cancer*, 29A(2): 203-4.

**Windebank, A.J. 1999.** Chemotherapeutic neuropathy. *Current Opinion in Neurology*, 12(5): 565-571.

**Windebank, A.J., Grisold, W. 2008.** Chemotherapy-induced neuropathy. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 13: 27-46.

**Winton, T., Livingston, R., Johnson, D., Rigas, J., Johnston, M., Butts, C., Cormier, Y., Goss, G., Incullet, R., Vallieres, E., Fry, W., Bethune, D., Ayoub, J., Ding, K., Seymour, L., Graham, B., Tsao, M.S., Gandara, D., Kesler, K., Demmy, T., Shepherd, F. for the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group and the National Cancer Institute of the United States Intergroup JBR.10 Trial**

**Investigators. 2005.** Vinorelbine plus Cisplatin vs. Observation in Resected Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 352: 2589-97.

**Wolf, G., Gabay, E., Tal, M., Yirmiya, R., Shavit, Y. 2006.** Genetic impairment of interleukin-1 signaling attenuates neuropathic pain, autotomy, and spontaneous ectopic neuronal activity, following nerve injury mice. *Pain*, 120(3): 315-24.

**Wolf, S., Barton, D., Kottschade, L., Grothey, A., Loprinzi, C. 2008.** Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. *European Journal of Cancer*, 44: 1507-1515.

**Wright ,G., Singh, I.S. ,Hasday, J.D., Farrance, I.K., Hall, G., Cross, A.S., Rogers, T.B. 2002.** Endotoxin stress-response in cardiomyocytes: NF-kappaB activation and tumor necrosis factor-alpha expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 282(3): H872-9.

**Wu, L., Zepp, J., Li, X. 2012.** Function of Act1 in IL-17 family signaling and autoimmunity. *Adv Exp Med Biol.*, 946: 223-35.

**Xiao, W.H., Zheng, H., Zheng, F.Y., Nuydens, R., Meert, T.F., Bennett, G.J. 2011.** Mitochondrial abnormality in sensory, but not motor, axons in paclitaxel-evoked painful peripheral neuropathy in the rat. *Neuroscience*, 199: 461-469.

**Xu, Y., Tang, H., Gong, L., Hu ,H., Chen, L., Sui, X., Xia, D., Pan, H. 2016.** Interferon- $\gamma$  Upregulates SOCS3 Expression to Reduce Cisplatin Chemoresistance in Non-Small Cell Lung Cancer A549 Cells. *Chemo Open Access*, 5(3): 1-4.

**Yalcin, M., Bharali, D.J., Lansing, L., Dyskin, E., Mousa, S.S., Hercbergs, A., Davis, F.B., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2009.** Tetraiodothyroacetic acid (tetrac) and tetrac nanoparticles inhibit growth of human renal cell carcinoma xenografts. *Anticancer Res.*, 29(10): 3825-31.

**Yalcin, M., Dyskin, E., Lansing, L., Bharali, D.J., Mousa, S.S., Bridoux, A., Hercbergs, A.H., Lin, H.Y., Davis, F.B., Glinsky, G.V., Glinskii, A., Ma, J., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2010a.** Tetraiodothyroacetic acid (tetrac) and nanoparticulate tetrac arrest growth of medullary carcinoma of the thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.*, 95: 1972-1980.

**Yalcin, M., Bharali, D.J., Dyskin, E., Dier, E., Lansing, L., Mousa, S.S., Davis, F.B., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2010b.** Tetraiodothyroacetic acid and tetraiodothyroacetic acid nanoparticle effectively inhibit the growth of human follicular thyroid cell carcinoma. *Thyroid*, 20(3): 281-286.

**Yalcin, M., Lin, H.Y., Sudha, T., Bharali, D.J., Meng, R., Tang, H.Y., Davis, F.B., Stain, S.C., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2013.** Response of human pancreatic cancer cell xenografts to tetraiodothyroacetic acid nanoparticules. *Horm Cancer*, 4(3):176-85.



**Yamamoto, Y., Gaynor, R.B. 2001.** Therapeutic potential of inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(2): 135-142.

**Yamasaki, M., Makino, T., Masuzawa, T., Kurokawa, Y., Miyata, H., Takiguchi, S., Nakajima, K., Fujiwara, Y., Matsuura, N., Mori, M., Doki, Y. 2011.** Role of multidrug resistance protein 2 (MRP2) in chemoresistance and clinical outcome in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, 104(4): 707-713.

**Yan, H.Q., Banos, M.A., Herregodts, P., Hooghe, R., Hooghe-Peters, E.L. 1992.** Expression of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6 and their respective receptors in the normal rat brain and after injury. *European Journal of Immunology*, 22(11): 2963-2971.

**Yang, C.S., Maliakal, P., Meng, X. 2002.** Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 42: 25-54.

**Yang, Y., Yu, C. 2016.** Advances in silica based nanoparticles for targeted cancer therapy. *Nanomedicine*, 12(2): 317-32.

**Yeh, P.H., Chuang, S.E., Yeh, K.H., Song, Y.C., Ea, C.K., Cheng, A.L. 2002.** Increase of the resistance of human cervical carcinoma cells to cisplatin by inhibition of the MEK to ERK signaling pathway partly via enhancement of anticancer drug-induced NF kappa B activation. *Biochem Pharmacol.*, 63(8): 1423-30.

**Yokota, S., Imagawa, T., Mori, M., Miyame, T., Aihara, Y., Takei, S., Iwata, N., Umebayashi, H., Murata, T., Miyoshi, M., Tomiita, M., Nishimoto, N., Kishimoto, T. 2008.** Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial. *Lancet*, 371(9617): 998-1006.

**Youn, C.K., Kim, J., Jo, E.R., Oh, J., Do, N.Y. 2016.** Protective Effect of Tempol against Cisplatin-Induced Ototoxicity. *Int. J. Mol. Sci.*, 17(11): E1931.

**Yu, J.H., Kim, H. 2014.** Oxidative stress and cytokine in the pathogenesis of pancreatic cancer. *J Cancer Prev.*, 19(2): 97-102.

**Yu, L., Li, L., Medeiros, L.J., Young, K.H. 2017.** NF- $\kappa$ B signaling pathway and its potential as a target for therapy in lymphoid neoplasms. *Blood Reviews*, 31(2): 77-92.

**Yuksel, B.C., Serdar, S.E., Tuncel, A., Uzum, N., Ataoglu, O., Atan, A., Hengirmen, S., Iskit, A.B., Guc, M.O. 2009.** Effect of tempol, a membrane-permeable radical scavenger, on mesenteric blood flow and organ injury in a murine cecal ligation and puncture model of septic shock. *Eur Surg Res.*, 43: 219-227.

**Zadik, Y., Yarom, N., Elad, S. 2012.** Orofacial Neuropathy and Pain in Cancer Patients: Chemotherapy-induced neuropathic pain, Editörler: Raffa, R.B., Langford, R., Pergolizzi, J.V., Porreca, F., Tallarida, R.J., CRC Press, US, pp: 95-117.

**Zandi, E., Rothwarf, D.M., Delhase, M., Hayakawa, M., Karin, M. 1997.** The I $\kappa$ B Kinase Complex (IKK) Contains Two Kinase Subunits, IKK $\alpha$  and IKK $\beta$ , Necessary for I $\kappa$ B Phosphorylation and NF- $\kappa$ B Activation. *Cell*, 91: 243-252.

**Zelenka, M., Schafers, M., Sommer, C. 2005.** Intraneural injection of interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropathic pain. *Pain*, 116(3): 257-63.

**Zhang, J.M., An, J. 2007.** Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol.*, 45(2): 27-37.

**Zhang, Y., Yan, W., Mathew, E., Bednar, F., Shanshan, W., Collins, M.A., Evans, R.A., Welling, T.H., Vonderhelde, R.H., di Magliano, M.P. 2014.** CD4<sup>+</sup> T Lymphocyte Ablation Prevents Pancreatic Carcinogenesis in Mice. *Cancer Immunol Res.*, 2(5): 423-435.

**Zhang, H., Li, Y., Carvalho-Barbosa, M., Kavelaars, A., Heijnen, C.J. Albrecht, P.J. Dougherty, P.M. 2016.** Dorsal root ganglion infiltration by macrophages contributes to paclitaxel chemotherapy induced peripheral neuropathy. *J Pain*, 17(7): 775-86.

**Zhao, Y., Bachelier, R., Treilleux, I., Pujuguet, P., Peyruchaud, O., Baron, R., Clement-Lacroix, P., Clezardin, P. 2007.** Tumor  $\alpha_v\beta_3$  integrin is a therapeutic target for breast cancer bone metastases. *Cancer Res.*, 67: 5821-5830.

**Zheng, D.Q., Woodard, A.S., Fornaro, M., Tallini, G., Languino, L.R. 1999.** Prostatic carcinoma cell migration via  $\alpha(v)\beta_3$  integrin is modulated by a focal adhesion kinase pathway. *Cancer Res.*, 59(7): 1655-64.

**Zhou, Z., Peng, X., Hao, S., Fink, D.J., Mata, M. 2008.** HSV-mediated transfer of interleukin-10 reduces inflammatory pain through modulation of membrane tumor necrosis factor  $\alpha$  in spinal cord microglia. *Gene Ther.*, 15(3): 183-190.

**Zhou, Y.Q., Liu, Z., Liu, Z.H., Chen, S.P., Li, M., Shahveranov, A., Ye, D.W., Tian, Y.K. 2016.** Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain. *Journal of Neuroinflammation*, 13(141): 1-9.

**Zhu, C., Raber, J., Eriksson, L.A. 2005.** Hydrolysis process of the second generation platinum-based anticancer drug *cis-ammine dichlorocyclohexylamineplatinum (II)*. *J Phys Chem B.*, 109(24): 12195-12205.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Melis DEBRELİ COŞKUN

Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa / 1983

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Özel Namık Sözeri Lisesi (1998-2001)

Lisans : U.Ü.F.E.F. Biyoloji Bölümü (2002-2006)

Yüksek Lisans : A.Ü.F.F. Moleküler Biyoloji Bilim Dalı (2010-2012)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl :

İletişim (e-posta) : meliscoskunn@gmail.com

Yayınları\* :

### **Makaleler ve Posterler**

**Coskun, D.M., Kutlu, H.M., Guney, G. 2011.** Application of magnetic nanoparticles in cancer treatment. TechConnect World 2011 Conferences and Expo, 13-16 June, 2011, Boston, USA. (Poster)

**Coskun, D.M., Kutlu, H.M., Guney, G., Iscan, A. 2011.** Effect of  $\beta$ -carotene on H-ras transformed 5RP7 cell line. 10<sup>th</sup> Multinational Congress on Microscopy, 4-9 September, 2011, Urbino, Italy. (Poster)

**Ulukaya, E., Yılmaz, T.V., Celikler, S., Dere, E., Oral, Y.A., Ari, F., Sarimahmut, M., Cevatemre, B., Coskun, D.M., Aztopal, N., Karakas, D., Iysel, C., Gezgic, B. 2012.** Uludag Multidisipliner Kanser Araştırma Laboratuvarı (UMKAL). Uludağ Üniversitesi II. Bilgilendirme ve Ar-Ge Günleri, 13-15 Kasım, 2012, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye. (Poster)

**Ari, F., Karakas, D., Cevatemre, B., Coskun, D.M., Ulukaya, E. 2012.** Bitki ekstraktlarında kullanılan MTT metodu ne kadar güvenilir ?. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 3-7 Eylül, 2012, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye. (Poster)

**Coskun, D.M., Karakas, D., Cevatemre, B., Oral, Y.A., Kutlu, M.H., Yılmaz, T.V., Ulukaya, E. 2012.** Sarkom tedavisi için yeni bir yaklaşım: Uludağ Üniversitesi tarafından yeni sentez edilen palladyum (II) bileşiği. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 3-7 Eylül, 2012, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye. (Poster)

**Sarimahmut, M., Cevatemre, B., Aztopal, N., Coskun, D.M., Ulukaya, E. 2012.** Fenretinid ve TRAIL kombinasyonu tedavisinin meme kanseri hücre soyları üzerindeki sitotoksik/apoptotik etkilerinin araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 3-7 Eylül, 2012, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye. (Poster)

**Coskun, D.M., Ari, F., Oral, Y.A., Sarimahmut, M., Kutlu, M.H., Yılmaz, T.V., Ulukaya, E. 2013.** Promising anti-growth effects of palladium (II) saccharinate complex of terpyridine by inducing apoptosis on transformed fibroblasts *in vitro*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21: 4698-4705. (Makale)

**MChari, V., Cui, H., Saad, G., Coskun, D.M., Mousa, S.A. 2014.** Microparticles facilitate chemoresistance in drug-resistance cancer cells. ACPHS fourth annual research forum, 25 January, 2014, Albany Student Center, Albany, NY, USA. (Poster)

**Ur-Rehman, M., Darwish, N.H., Peerzada, L., Debreli-Coskun, M., Satti, J., Sudha, T., Mousa, S.A. 2015.** Design, development and implementation of a small animal tumor irradiation protocol for superficial kilo-voltage x-ray energy. First International Nanomedicine Symposium and Workshop, 3-7 August, 2015, Albany Student Center, Albany, NY, USA. (Poster)

**Debreli-Coskun, M. ve Mousa, S.A. 2015.** Effects of antioxidant and  $\alpha\beta3$  integrin antagonists on gemcitabine-induced NF- $\kappa$ B in HeLa cells. First International Nanomedicine Symposium and Workshop, 3-7 August, 2015, Albany Student Center, Albany, NY, USA. (Poster)

**Debreli-Coskun, M. ve Mousa, S.A., 2015.** Effects of antioxidant and  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  integrin antagonists on LPS induced NF- $\kappa\text{B}$  induction in Human Monocytic cells. First International Nanomedicine Symposium and Workshop, 3-7 August, 2015, Albany Student Center, Albany, NY, USA. (Poster)

**Sudha, T., Bharali, D.J., Darwish, N.H., Debreli-Coskun, M., Lin, Q., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2016.** Abstract 2166: Targeted delivery of chemotherapeutic agents to solid tumors via systemic Nano-diamino-tetrac. AACR 107th Annual Meeting, 16-20 April, 2016, New Orleans, LA, USA. (Poster)

**Sudha T., Bharali, D.J., Yalcin, M., Darwish, N.H., Debreli-Coskun, M., Keating, K.A., Lin, H.Y., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2017.** Targeted delivery of cisplatin to tumor xenografts via the nanoparticle component of nano-diamino-tetrac. *Nanomedicine (Lond.)*, 12(3): 195-205. (Makale)

**Sudha, T., Bharali, D.J., Yalcin, M., Darwish, N.H., Debreli-Coskun, M., Keating, K.A., Lin, H.Y., Davis, P.J., Mousa, S.A. 2017.** Targeted delivery of paclitaxel and doxorubicin to cancer xenografts via the nanoparticle of nano-diamino-tetrac. *Int J Nanomedicine*, 15(12): 1305-1315. (Makale)