



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2023; 37 (3): 195 - 202
http://www.fusabil.org

Sıçanlarda İfosfamid ile Oluşturulmuş Mide Hasarında Morinin Etkilerinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi

Nurhan AKARAS^{1, a}
Mustafa İLERİTÜRK^{2, b}
Fatih Mehmet KANDEMİR^{3, c}
Hasan ŞİMŞEK^{4, d}
Serpil AYGÖRMEZ^{5, e}

¹ Aksaray Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Ana
Bilim Dalı,
Aksaray, TÜRKİYE

² Atatürk Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Ana Bilim Dalı,
Erzurum, TÜRKİYE

³ Aksaray Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya Ana Bilim
Dalı,
Aksaray, TÜRKİYE

⁴ Aksaray Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Fizyoloji Ana Bilim Dalı,
Aksaray, TÜRKİYE

⁵ Kafkas Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Ana Bilim Dalı,
Kars, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-8457-9448

^b ORCID: 0000-0002-4581-4492

^c ORCID: 0000-0002-8490-2479

^d ORCID: 0000-0001-5573-4923

^e ORCID: 0000-0002-5675-5096

Geliş Tarihi : 24.05.2023

Kabul Tarihi : 14.06.2023

Yazışma Adresi Correspondence

Nurhan AKARAS
Aksaray Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Ana
Bilim Dalı
Aksaray – TÜRKİYE

nurakaras@hotmail.com

Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel ifosfamid (IFO) uygulamasının neden olduğu mide toksisitesi üzerine morinin (MOR) etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla deney hayvanları beş gruba (n=7) ayrıldı. Gruplar kontrol, MOR, IFO, IFO+MOR 100 ve IFO+MOR 200 olarak tasarlandı. Sıçanların model grubuna 2. günde tek bir ifosfamid enjeksiyonu (500 mg/kg; ip) verilirken, destekleyici tedavi gruplarına günde iki farklı dozda morin (100 ve 200 mg/kg; sondayla) IFO uygulamasından önce verildi. Dokular biyokimyasal (malondialdehit, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz, NF-κB, TNF-α, MPO, 8 OHdG) ve histolojik açıdan analiz edildi. MOR tedavisi, IFO'nin neden olduğu mide lipid peroksidasyonu (P<0.05) düzeyini ve glutatyon (P<0.05) tükenmesini azaltırken, antioksidan enzim [süperoksit dismutaz (P<0.05), katalaz (P<0.05) ve glutatyon peroksidaz (P<0.05)] aktivitelerini artırmış ve inflamasyon belirteçlerini [NF-κB (P<0.05), TNF-α (P<0.05), MPO (P<0.05)] düşürmüştür. Ayrıca morin IFO kaynaklı artan 8-OHdG (P<0.05) seviyesini azalttı ve bozulmuş mide histolojik bütünlüğünü iyileştirdi.

Mevcut çalışmanın sonuçları, MOR'in antioksidan ve antiinflamatuvar mekanizmaları yoluyla IFO kaynaklı mide hasarına karşı koruma sağlayan yararlı bir adjuvan olarak kullanılabileceğini ortaya koydu.

Anahtar Kelimeler: İfosfamid, inflamasyon, morin, oksidatif stres, mide, sıçan

Histopathological and Biochemical Investigation of the Effects of Morin on Ifosfamide-Induced Gastric Injury in Rats

In this study, it was aimed to determine the effects of morin (MOR) on gastric toxicity caused by experimental ifosfamide (IFO) administration in rats. For this purpose, experimental animals were divided into five groups (n=7 for each group). The groups were designed as control, MOR, IFO, IFO+MOR 100 and IFO+MOR 200. The model group of rats received a single injection of ifosfamide (500 mg/kg; ip) on day 2, while the supportive treatment groups received two different doses of morin (100 and 200 mg/kg; by gavage) daily. The tissues were analyzed biochemically (malondialdehyde, superoxide dismutase, catalase, glutathione, glutathione peroxidase, NF-κB, TNF-α, MPO, OHdG) and histologically. While MOR treatment decreased gastric lipid peroxidation (P<0.05) and glutathione (P<0.05) depletion caused by IFO, it increased antioxidant enzyme [superoxide dismutase (P<0.05), catalase (P<0.05) and glutathione peroxidase (P<0.05)] activities and decreased inflammation markers [NF-κB (P<0.05), TNF-α (P<0.05), MPO (P<0.05)]. Also, morin reduced the IFO-induced increased 8-OHdG (P<0.05) level and improved the impaired gastric histological integrity.

The results of the current study revealed that MOR could be used as a useful adjuvant to protect against IFO-induced gastric injury through its antioxidant and anti-inflammatory mechanisms.

Key Words: Ifosfamide, inflammation, morin, oxidative stress, stomach, rat

Giriş

İfosfamid (IFO), kemoterapi ve immünsüpresif protokollerde yaygın olarak kullanılan oksazofosforin alkilleyici bir ajandır (1). Klinikte testis kanseri, yumuşak doku sarkomu, osteosarkom, mesane kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, rahim ağzı kanseri, yumurtalık kanseri, lenfoma ve nadiren çocukluk çağı akut lenfoblastik lösemide yaygın kullanılır. Ayrıca, pineal germinoma veya intraabdominal desmoplastik küçük yuvarlak hücreli tümör gibi nadir tümörler için kombinasyon kemoterapisinde de kullanılmaktadır (1-3). Diğer tüm sitostatik antikanser ilaçlar gibi, IFO de terapötik değerini sınırlayan bir dizi ciddi ve yaşamı tehdit eden yan etkilere sahiptir (2-4). IFO'nin siklofosfamide yapısal benzerliği ve akrolein, kloroasetaldehit gibi aktif metabolitleri üretmesi nedeniyle, merkezi sinir sistemi toksisitesi, kardiyotoksikite, hepatotoksikite, gastrointestinal anormallikler, nefrotoksikiteye neden olması muhtemeldir. Bu yan etkiler akut kroniğe, geri dönüşümlüden geri dönüşümsüze, önemsizden potansiyel olarak ölümcül sonuçlara neden olabilir. Bu etkiler tedavi dozunu ve tedavi sürecini büyük ölçüde etkiledikleri için ilaç kullanım yönetimi son derece önemlidir (5, 6).

IFO'nin neden olduğu akut toksisitenin patogenezi, dokulardaki mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna, serbest oksijen radikallerindeki artışa ve antioksidan savunma mekanizmasındaki azalmaya bağlanmıştır (5). Mitokondriyal hasar ve oksidatif stres,

inflamasyon/ nekroz/apoptoz yollarıyla doku hasarına neden olur. Bu nedenle, IFO'nin toksisitesini azaltmak için, ilacın terapötik mekanizmasına müdahale etmeden antioksidan ve mitokondriyal koruyucu ajanların kullanılması umut verici bir strateji gibi görünmektedir (5, 7).

Alternatif tedavi yöntemlerinin artması doğal maddelere olan ilgiyi artırmış, çok çeşitli hastalık ve toksikasyon modellerinde özellikle bitkisel kökenli antioksidanlar kullanılmaya başlanmıştır. Biyolojik olarak aktif bitki bileşenlerinin, kemoterapötik ilaçların yan etkilerini hafifletmede kanıtlanmış rolleri vardır (6). Flavonoidler genellikle bitki yapraklarında, meyve ve sebzelerde bulunur; fenolik bileşiklerin ve ikincil bitki metabolitlerinin bir sınıfıdır. Flavonoidler serbest radikalleri temizledikleri ve enzimlerle etkileşime girdikleri için etkili antioksidanlardır (8). Morin (MOR, 3,5,7,2',4'-pentahidroksiflavon), *Moraceae* familyasının üyeleri de dahil olmak üzere meyvelerden ve Çin otlarından elde edilen bir flavonudur. MOR, antioksidan, antiinflamatuvar, antitumörjenik, antidiyabetik, antikanserijenik ve antiproliferatif etkiler sergiler (9-11).

Bu çalışmada, MOR'in sıçanlarda IFO kaynaklı mide toksisitesine karşı etkilerinin, oksidatif stres parametreleri, bazı inflamasyon belirteçleri ve DNA hasarı göstergesi yoluyla araştırılması, elde edilecek bulgularla muhtemel mekanizmaların ortaya konması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Hayvan çalışmaları Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (Onay No: 2019-4/57).

Hayvanlar: Deneyde otuz beş yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanı (yaklaşık ağırlık 200-250 g, 10-12 haftalık) kullanıldı. Sıçanlar Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edildi. Çalışma süresi boyunca, hayvanlar ad libitum olarak su ve standart bir laboratuvar yemi ile beslendi. Ayrıca sıçanlar iyi havalandırılan temiz bir odada ayarlanmış bir sıcaklıkta (24±1°C) ve nemde (%45±5) tutuldu.

Deney Grupları ve Doz Seçimi: Çalışmada kullanılan ilaç ve tedavi dozları daha önce yapılan çalışmalara bakılarak belirlendi (8, 9, 12).

Hayvanlar her grupta 7 sıçan olacak şekilde rastgele beş gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol); Sıçanlara 2. gün oral fizyolojik su ve 2. gün 1 mL serum fizyolojik intraperitoneal (ip) verildi.

Grup II (Morin); Morin, 2 gün boyunca sıçanlara (200 mg/kg BW/gün) oral olarak uygulandı.

Grup III (IFO); IFO sıçanlara 2. gün ip olarak tek doz (500 mg/kg BW) enjekte edildi.

Grup IV (IFO+Morin 100); Sıçanlara 2 gün süreyle Morin (100 mg/kg BW/gün) oral yolla uygulandı ve 2. gün sıçanlara tek doz IFO (500 mg/kg BW, ip) uygulandı.

Grup V (IFO+Morin 200); Sıçanlara 2 gün süreyle Morin (200 mg/kg BW/gün) oral yolla uygulandı ve 2. gün sıçanlara tek doz IFO (500 mg/kg BW, ip) uygulandı.

Sıçanlar son tedaviden 24 saat sonra hafif sevofluran anestezisi altında sakrifiye edildi. Mide çıkarıldı, fizyolojik su içinde yıkandı ve ardından biyokimyasal ve histopatolojik analizleri için saklandı.

İlaç ve Kimyasallar: IFO (Holoxan®) Eczacıbaşı'ndan (İstanbul, Türkiye), MOR ve diğer kimyasallar ise Sigmadan (St.Louis, ABD) temin edildi.

Sıçan Mide Dokularında Antioksidan ve Lipid Peroksidasyon (LPO) Parametrelerinin Belirlenmesi:

Mide dokuları, 1:10 (w/v) homojenat elde etmek için %1.15 potasyum klorür tamponu kullanılarak bir homojenizatör (Tissue Lyser II, Qiagen, Hollanda) yardımıyla homojenize edildi. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) aktivitesi ve malondialdehit (MDA) düzeyi analizleri için homojenatlar +4°C'de 3500 rpm'de 15 dakika, glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi ve glutatyon (GSH) seviyesi için +4°C'de 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Santrifüjlemeden sonra elde edilen süpernatantlar mümkün olan en kısa sürede enzimatik deneylere tabi tutuldu. MDA (nmol/g doku), GSH (nmol/g doku), SOD (U/g protein), KAT (katal/g protein), GPx (U/g protein) (13-17). Toplam protein seviyeleri ise Lowry ve ark. metoduna göre hesaplandı (18).

Mide Dokusunda NF-κB, TNF-α, MPO ve 8-OHdG Aktivitelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi:

Nükleer faktör kappa-B (NF-κB), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α) seviyeleri ve MPO mieloperoksidaz (MPO), 8-hidroksi 2 deoksiguanozin (8-OHdG) aktivitelerinin ölçümleri ELISA kit (Sunred, Şangay, Çin) ile üretici firma talimatları doğrultusunda yapılarak sonuçlar standart grafikler kullanarak hesaplandı.

Histopatolojik Analiz: Deney sonunda alınan sıçan mideleri %10 nötr tamponlu formalinde 48 saat fikse edildi. Fikse olan dokular artan dereceli alkollerden geçirilerek dehidrasyon, ksilole şeffaflaştırma ve parafinle muamele edildikten sonra bloklar haline getirildi. Bloklardan mikrotom aracılığı ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilin-Eozin (H&E) ile boyandı. Boyalı bölümler, bir binoküler ışık mikroskobu (Olympus Cx43 Inc., Tokyo, Japonya) kullanılarak incelendi ve mikroskoba bağlı EP50 marka kamera (Olympus Inc., Tokyo, Japonya) ile fotoğraflandı.

İstatistiksel Analiz: Çalışma sonunda elde edilen verilerde gruplara ait değerlerin normal dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek için Shapiro-Wilk normallik analizi yapıldı ve testin sonucunda tüm parametrelerdeki değerlerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Gruplar arasındaki fark ve anlamlılık düzeylerinin belirlenmesi için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey'in post hoc testi kullanıldı. Tüm değerler ortalama ± SD olarak ifade edildi (19). P<0.05'te anlamlı fark kabul edildi.

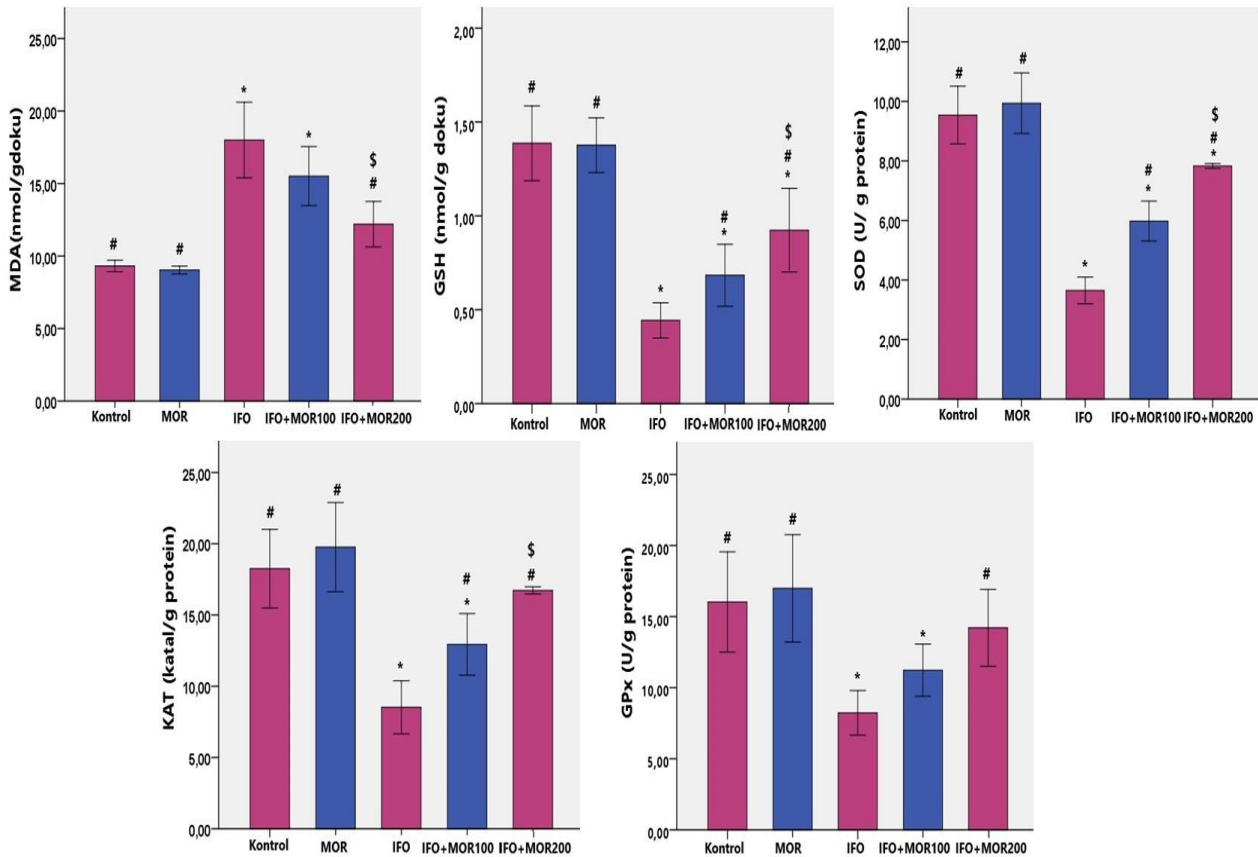
Bulgular

MOR'nin oksidatif stres parametreleri üzerine etkisi: MOR'nin mide dokusunda IFO'nin neden olduğu oksidatif strese karşı iyileştirici etkileri, antioksidan biyobelirteçler (SOD, KAT, GPx ve GSH) ve MDA düzeylerinin incelenmesiyle değerlendirildi ve sonuçlar Şekil 1'de verildi. SOD, KAT, GPx aktiviteleri ve GSH düzeyi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında IFO ile indüklenen grupta önemli ölçüde ($P<0.05$) azalırken mide dokusu MDA seviyelerinin arttığı ($P<0.05$), MOR tedavisinin doza bağlı anlamlı etki gösterdiği tespit edildi.

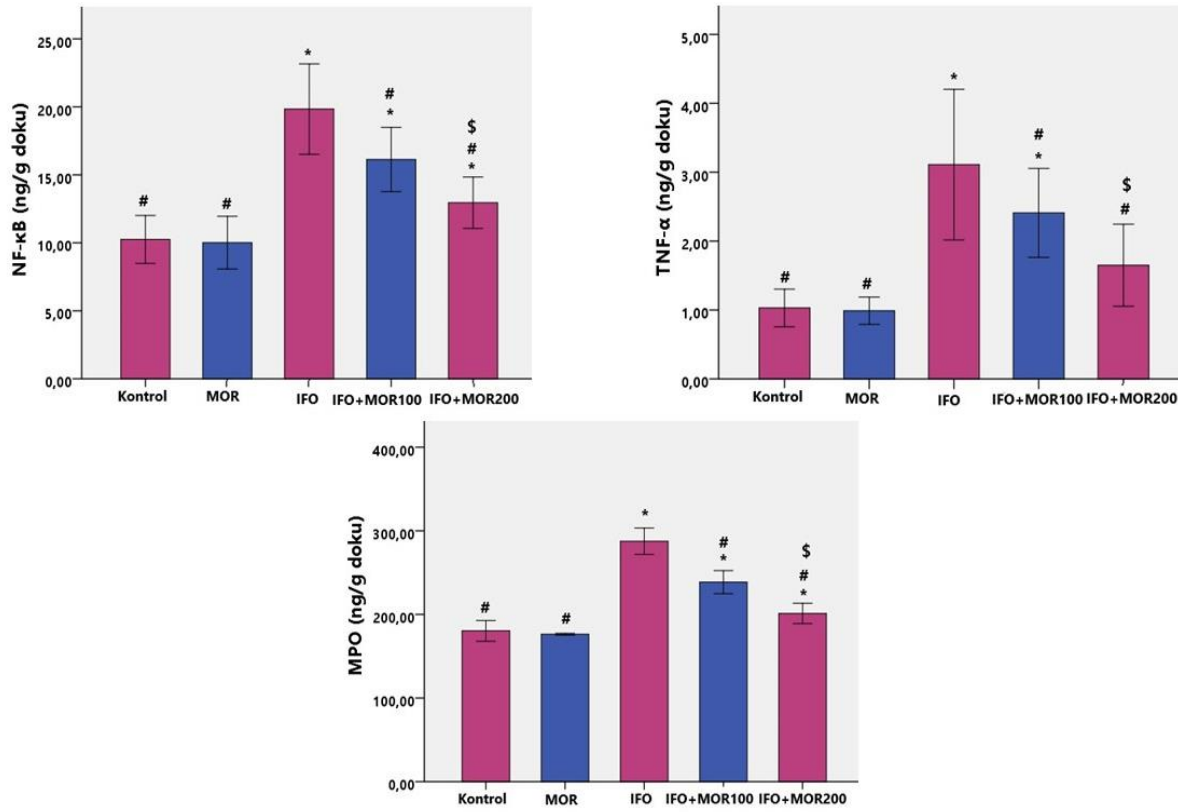
MOR'in inflamatuvar Belirteçleri Üzerindeki Etkileri: IFO ve MOR uygulamalarının inflamatuvar yolak üzerindeki etkilerini değerlendirmek için NF- κ B, TNF- α ve MPO belirteçleri ELISA yöntemleriyle analiz edildi. Şekil 2'de sunulan sonuçlara göre, IFO'nin NF- κ B, TNF- α ve MPO düzeylerini anlamlı düzeyde artırarak inflamasyona neden olduğu, öte yandan, bu yolakların mide dokusundaki aktivasyonunun MOR tedavisi sonrasında anlamlı olarak baskılandığı saptandı. Dozlar arası farklılık değerlendirildiğinde 200 mg/kg verilen MOR'in mide dokusunda NF- κ B, TNF- α ve MPO üzerine daha anlamlı düzeyde daha etkili olduğu belirlendi ($P<0.05$).

MOR'in 8-OHdG Üzerindeki Etkileri: Sıçan mide dokusunda IFO enjeksiyonunun ve MOR tedavisinin 8-OHdG seviyesi üzerindeki etkileri incelenmiş ve sonuçlar Şekil 3'te verilmiştir. İlaç ve tedavi uygulanmayan kontrol grubuyla IFO grubu karşılaştırıldığında, 8-OHdG seviyesinin IFO ile önemli ölçüde ($P<0.05$) yükseldiği, IFO+Morin 200 grubunda ise seviyelerin anlamlı şekilde düştüğü tespit edildi.

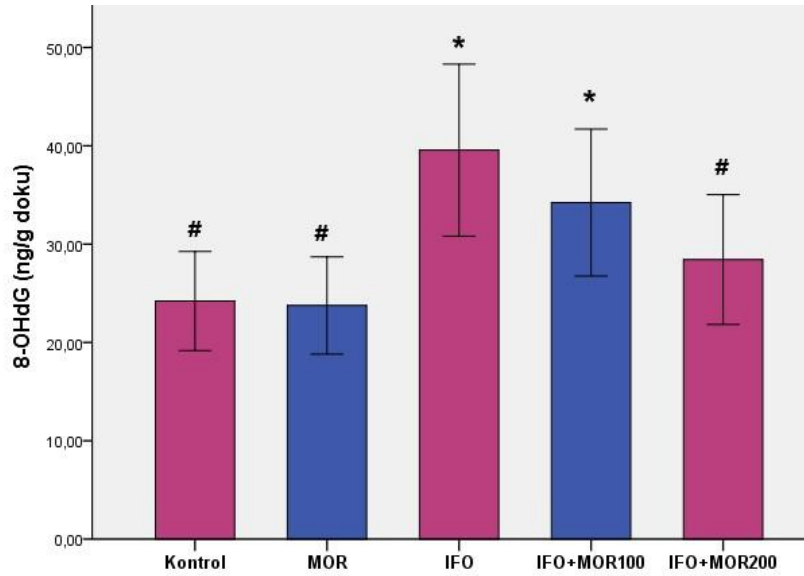
Histopatolojik Sonuçlar: IFO ve MOR uygulaması sonrası mide dokusunda meydana gelen histopatolojik değişimler Şekil 4'te verilmiştir. Kontrol ve MOR grubu mide dokusu incelendiğinde mukozayı oluşturan epitel ve lamina propriyadaki mide bezleri normal morfolojik yapı gösterdi. Ayrıca submukoza ve tunika muskularis düzgün sınırlara sahipti (Şekil 4A, 4B). IFO uygulanması sonrası mide epitel hücrelerinde deskuamasyon ve düzensizlikler dikkat çekti. Bu gruba ait kesitlerde submukoza tabakasında artmış konjesyon tespit edildi. Yine inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mide bezlerinde dilatasyon ve vakuollü hücreler görüldü (Şekil 4C). IFO+Morin 100 ve IFO+Morin 200 grupları incelendiğinde ise normale yakın mukoza ve diğer katmanlar vardı. IFO grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunda azalmalar görüldü (Şekil 4D, 4E).



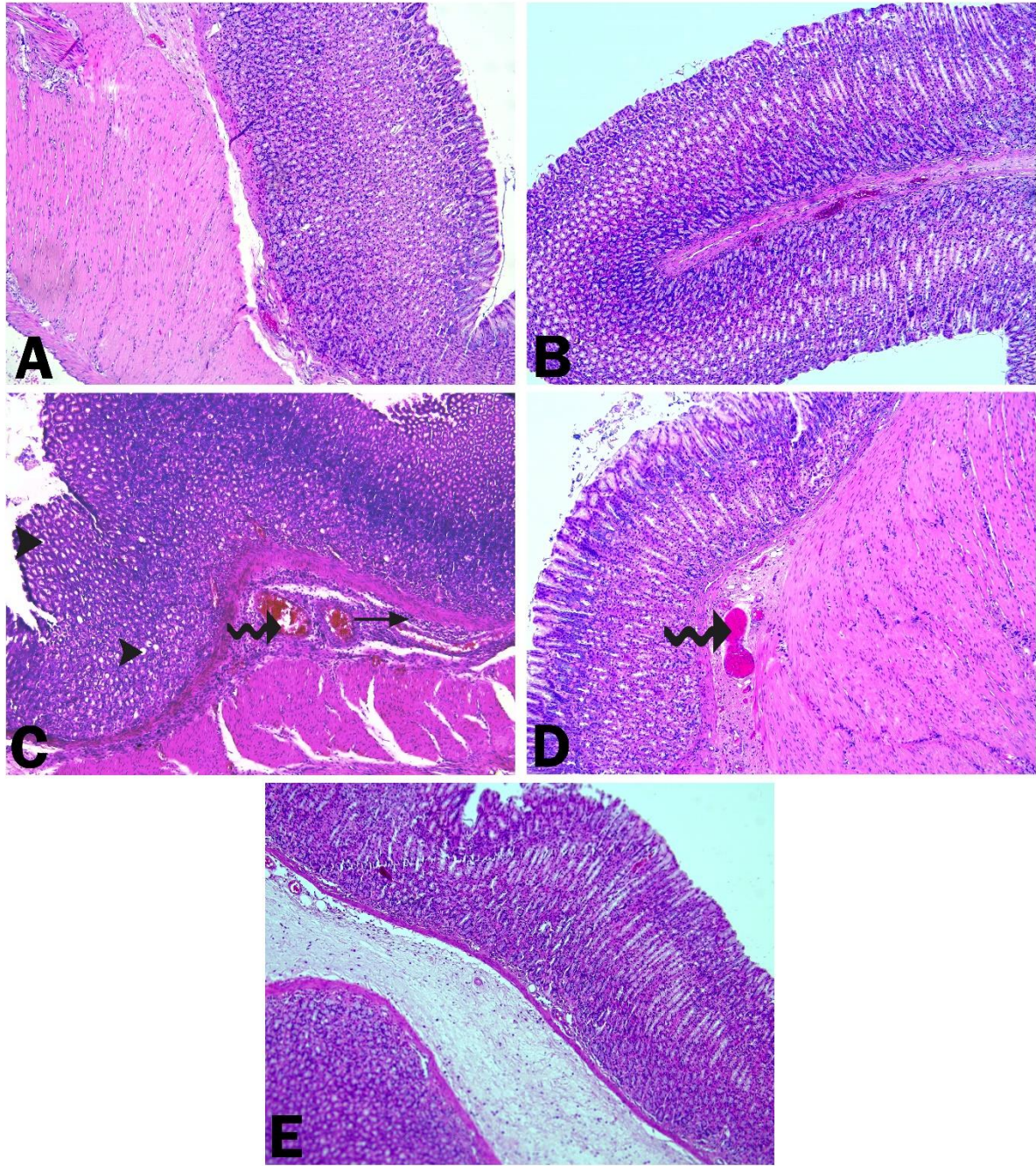
Şekil 1. IFO ve MOR uygulamasının sıçan mide dokularında oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkileri (MDA: Malondialdehit, GSH: Glutasyon, SOD: Süperoksit dismutaz, KAT: Katalaz, GPx: Glutasyon peroksidaz). İstatistiksel anlamlılık (Kontrol grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: * $P<0.05$, IFO grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: # $P<0.05$, IFO+MOR 100 ve IFO+MOR 200 grupları arasındaki karşılaştırma: \$ $P<0.05$) Tek Yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak analiz edildi.



Şekil 2. IFO ve MOR uygulamasının sıçan mide dokularında NF-κB, TNF-α ve MPO aktiviteleri üzerindeki etkileri (NF-κB: Nükleer faktör kappa-B, TNF-α: Tümör nekroz faktörü alfa, MPO: Miyeloperoksidaz). İstatistiksel anlamlılık (Kontrol grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: *P<0.05, IFO grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: #P<0.05, IFO+MOR 100 ve IFO+MOR 200 grupları arasındaki karşılaştırma: \$P<0.05) Tek Yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak analiz edildi.



Şekil 3. IFO ve MOR uygulamasının sıçan mide dokularında 8-OHdG aktiviteleri üzerine etkileri (8-OHdG: 8-hidroksi 2 deoksiguanozin). İstatistiksel anlamlılık (Kontrol grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: * P<0.05, IFO grubu ve diğer gruplar arasındaki karşılaştırma: # P<0.05, IFO+MOR 100 ve IFO+MOR 200 grupları arasındaki karşılaştırma: \$P<0.05) Tek Yönlü ANOVA ve Tukey testi kullanılarak analiz edildi.



Şekil 4. Mide dokusundaki histolojik değişikliklerin fotomikrographları. (H&E boyama, 100x). **A.** Kontrol grubu. **B.** Morin (MOR) grubu. **C.** İfosfamid (IFO) grubu; ok: İnflamatuar hücre infiltrasyonu, kıvrık ok: Konjesyon, ok başı: Vakuollü hücreler. **D.** IFO+MOR 100 grubu. **E.** IFO+MOR 200 grubu

Tartışma

IFO, geniş bir katı tümör yelpazesi üzerinde yüksek aktivite sergileyen alkile edici bir ilaçtır (20). IFO'nin etki mekanizması kesin olarak bilinmemektedir ve esas olarak bir IFO metaboliti olan izofosforamid mustardın neden olduğu guanin, N-7 pozisyonlarında çapraz bağlarla sonuçlanan DNA alkilasyonu yoluyla etki ettiğine inanılmaktadır. DNA'daki bu tersinmez intra ve

zincirler arası çapraz bağların gelişimi hücre ölümüyle sonuçlanır (6). IFO'nin terapötik etkinliğinin yanı sıra, çok çeşitli ve eşzamanlı toksisiteler nedeniyle güvenli kullanımı sınırlıdır. Karşılaşılan yaygın toksisiteler hepatotoksiste, sinir sistemi toksisitesi, kardiyotoksiste, lokal toksiste, kıl folikülü ve cilt toksisitesi, idrar yolu toksisitesi, metabolik anormallikler ve gonadal toksisitedir (6, 21). Doğal olarak oluşan antioksidan maddelerin kemoterapötiklerin yan etkilerine karşı

koruyucu özellikleri birçok araştırmaya konu olmuş ve araştırmacılar ümit verici sonuçlar elde etmişlerdir (22-25). Bu çalışmada IFO'e maruz kalan sıçanlarda mide hasarına karşı MOR'in etkileri araştırılmıştır.

Kemoterapi sonrası oluşan organ toksisitesinin, IFO'nin neden olduğu reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumuna ve hücre membranlarının lipid peroksidasyonuna bağlı olduğu, oksidatif stresin IFO kaynaklı çoklu organ hasarına katkısı sağladığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (1, 9, 26, 27). ROT ve oksidatif stresin, antikanser ilaçların neden olduğu organ işlev bozukluğunda önemli bir rol oynadığı belgelenmiştir (24, 28). Ayrıca farklı dokulardaki bozuklukların altında artmış oksidatif stres biyobelirteçleri ile enzimatik ve nonenzimatik antioksidanların tükenmesinin yattığı bildirilmiştir (26, 29). Oksidanlar tarafından hücresel düzeyde hasar SOD, KAT, GPx gibi antioksidan enzimler ve GSH tarafından zayıflatılır. SOD, KAT ve GPx, süperoksit anyonunun (O_2^-) hidrojen peroksidi (H_2O_2) dismutasyonunu katalize eder ve bu daha sonra H_2O_2 'yi suya dönüştürür ve böylece reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlar (8, 26, 29). Bu enzimlerin aktivitesindeki azalma, IFO metabolizması sırasında serbest radikal üretimindeki artıştan kaynaklanabilir. Sunulan çalışmada, IFO uygulanan sıçanların mide dokusunda MDA düzeyinde artış gözlenirken, GSH düzeyi ile SOD, KAT ve GPx aktivitelerinde düşüş tespit edilmiştir. Sonuç olarak, IFO sadece mide dokularında serbest radikal oluşumunu arttırmakla kalmamış, aynı zamanda antioksidanların reaktif oksijen türlerini detoksifiye etme yeteneğini de azaltmıştır. Bu nedenle, IFO uygulanan sıçan midesi, antioksidan enzimlerdeki eksiklikler nedeniyle ROT hasarına karşı daha hassastır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, IFO ile kombinasyon halinde Morin uygulamasının oksidan düzeyini azaltıp antioksidan enzimleri önemli ölçüde arttırdığını ortaya koymuştur. Öte yandan GSH seviyesindeki artış GPx aktivitesinde artışa yol açmıştır. Ayrıca morinin enzimatik olmayan serbest radikal temizleme ve antilipid peroksidasyon aktivitelerine sahip olduğunu bildiren raporlar da mevcuttur (8, 11).

Mide hasarının ilerlemesinde bir diğer mekanizma olan inflamasyonun önemli bir rol oynadığı ve oksidatif stresin de inflamatuvar süreci tetikleyen bir faktör olduğu bilinmektedir (30, 31). Oksidatif stres meydana geldiğinde mide hücreleri tarafından inflamatuvar sitokinler ve kemokinler salgınır (32-35). NF- κ B inflamatuvar yanıtları düzenleyen ana düzenleyici transkripsiyon faktörlerinden biridir ve sitoplazmada I κ B ile bir arada bulunur. Protein kinazlar I κ B'yi fosforile ettiğinde, NF- κ B salgınır ve böylece çekirdeğe girerek TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri düzenler (28). Yapılan in vitro bir çalışma, IFO maruziyetinin NF- κ B'yi aktive ettiğini ve I κ B'nin fosforilasyonu yoluyla proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırdığını göstermiştir (12). Mevcut çalışmadaki bulgular IFO'nin NF- κ B ve TNF- α seviyelerini arttırdığını ve böylece inflamasyona neden olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca IFO grubuna kıyasla 200 veya 200 mg/kg MOR tedavisinin NF- κ B ve TNF- α düzeylerini düşürerek IFO' in neden olduğu mide inflamasyonuna karşı önemli

ölçüde koruma sağlayabildiği tespit edilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda MOR'in çeşitli dokularda NF- κ B ve TNF- α aktivasyonunu baskılayarak inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir (9, 12). Sunulan bulgulardan yola çıkarak morinin, TNF- α kaynaklı hücre içi ROT üretimini azaltarak antiinflamatuvar etkiler sergilediği tespit edilmiştir.

Nötrofillerin inflamasyon bölgesine infiltrasyonu, antijenlerin inaktivasyonunu sağlamada önemli role sahiptir. Ancak bu olayların aşırı olması ve nötrofillerin azurofilik granüllerinden salgılanan ve doku nötrofil içeriğini yansıtan MPO düzeylerinin artması doku hasarının şiddetlenmesine neden olur. MPO, aktif nötrofiller ve makrofajlar tarafından salınan bir kemokindir. MPO'nin güçlü prooksidan ve proinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (36-38). Turan ve ark. (38) kemoterapötikler ile yaptıkları bir çalışmada MPO' in inhibe edilmesinin nötrofil infiltrasyonunu önleyebileceği ve inflamasyona karşı önemli bir etkiye sahip olabileceğini bildirmiştir. Bu çalışmada, IFO verilen sıçanların mide dokusunda nötrofil sayılarındaki artışa bağlı olarak MPO artışının tetiklendiği ve inflamasyonun arttığı, MOR uygulaması ile MPO aktivitesinin azaldığı ve bunun IFO'nin neden olduğu inflamasyonu hafiflettiği görülmüştür.

8-OHdG seviyesinin ölçümü genellikle oksidatif strese son derece duyarlı bir makromolekül olan DNA hasarını belirlemek için kullanılır. Oksidatif DNA hasarı, şeker modifikasyonları ve DNA bazları, kovalent çapraz bağlanma, çift ve tek sarmallı kopmalar dahil olmak üzere ROT tarafından saldırılan DNA molekülleri tarafından indüklenir (12). Kemoterapötiklerin birincil biyolojik hedefinin DNA olduğu düşünülmektedir. Kemoterapi ilaçları DNA'yı bağlar ve sarmallar arası çapraz bağların ve sarmal içi çapraz bağların oluşumuna yol açar. Bu DNA çapraz bağları, DNA çift sarmalının bozulmasına ve ayrıca DNA transkripsiyonunun ve replikasyonunun bloke edilmesine neden olur (12, 24). Mevcut çalışmada, IFO ile tedavi edilen gruptaki sıçanların mide dokusunda 8-OHdG düzeylerinde önemli bir artış gözlenirken, MOR ile destekleyici tedavinin 8-OHdG düzeylerini azalttığı tespit edildi. Özetle sıçanlarda IFO ile indüklenen mide hasarında, MOR' in 8-OHdG seviyesini düşürerek oksidatif DNA hasarını azalttığı belirlendi.

Histopatolojik inceleme sonucunda mide dokusunda IFO' in apoptotik/nekrotik mekanizmasına bağlı olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mukozal deformasyonlar, kanamalar ve gastrik bezlerde dilatasyonlara sebep olduğu gözlemlendi. Özdemir ve ark. (9) farklı dokuda yaptıkları histolojik çalışmada IFO kaynaklı olarak doku bütünlüğünün bozulduğunu ve dejeneratif değişiklikleri tespit ettiler. Sunulan bulgularda MOR ile tedavi edilen grupta, hala bir miktar konjesyon görülmesine rağmen, mukoza ve submukozadaki yapıların normal şekil ve boyutta olduğu görüldü. Bununla birlikte, IFO'nin sebep olduğu mide toksisitesine karşı yüksek doz MOR'in daha etkili olduğu ve morinin koruyucu etkiyi antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde gösterdiği muhtemeldir. Ayrıca

yapılan araştırmalarda MOR'in histopatolojik değişiklikleri de iyileştirdiği vurgulanmıştır (8, 9).

Sonuç olarak, kemoterapide yaygın olarak kullanılan IFO'e maruz kalan sıçanlarda mide hasarı farklı yöntemlerle incelendi. IFO toksisitesi, sıçanların mide dokularında oksidatif strese, inflamasyona, DNA hasarına ve patolojik değişikliklere neden oldu. MOR

uygulamasının IFO kaynaklı oksidatif stresi ve inflamasyonu baskılayarak hasarı azalttığı tespit edildi. MOR'in mide dokusundaki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri oksidatif stres ve inflamasyon ile ilişkili çeşitli dejeneratif bozuklukların tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olarak yararlı olabilir.

Kaynaklar

1. Sayed-Ahmed MM, Darweesh AQ, Fatani AJ. Carnitine deficiency and oxidative stress provoke cardiotoxicity in an ifosfamide-induced Fanconi Syndrome rat model. *Oxid Med Cell Longev* 2010; 3: 266-274.
2. Idle JR, Beyoğlu D. Ifosfamide - History, efficacy, toxicity and encephalopathy. *Pharmacol Ther* 2023; 243: 108366.
3. Vazirian F, Samadi S, Rahimi H, Sadeghi M, Mohammadpour AH. Aprepitant, fosaprepitant and risk of ifosfamide-induced neurotoxicity: A systematic review. *Cancer Chemother Pharmacol* 2022; 90: 1-6.
4. Chain G, Kalia M, Kestenbaum K, et al. A novel case of prolonged ifosfamide encephalopathy and long-term treatment with methylene blue: A case report and review of literature. *BMC Pediatr* 2022; 22: 76.
5. Shabani M, Bayrami D, Moghadam AA, Jamali Z, Salimi A. Pretreatment of ellagic acid protects ifosfamide-induced acute nephrotoxicity in rat kidneys: A mitochondrial, histopathological and oxidative stress approaches. *Toxicol Rep* 2023; 10: 441-447.
6. Ilyas S, Tabasum R, Iftikhar A, et al. Effect of Berberis vulgaris L. root extract on ifosfamide-induced in vivo toxicity and in vitro cytotoxicity. *Sci Rep* 2021; 11: 1708.
7. Sayed-Ahmed MM, Aldelemly ML, Al-Shabanah OA, et al. Inhibition of gene expression of carnitine palmitoyltransferase I and heart fatty acid binding protein in cyclophosphamide and ifosfamide-induced acute cardiotoxic rat models. *Cardiovasc Toxicol* 2014; 14: 232-242.
8. Çomaklı S, Kandemir FM, Küçükler S, Özdemir S. Morin mitigates ifosfamide induced nephrotoxicity by regulation of NF-kappaB/p53 and Bcl-2 expression. *Biotech Histochem* 2022; 97: 423-432.
9. Özdemir S, Kucukler S, Çomaklı S, Kandemir FM. The protective effect of Morin against ifosfamide-induced acute liver injury in rats associated with the inhibition of DNA damage and apoptosis. *Drug Chem Toxicol* 2022; 45: 1308-1317.
10. Varışlı B, Caglayan C, Kandemir FM, et al. The impact of Nrf2/HO-1, caspase-3/Bax/Bcl2 and ATF6/IRE1/PERK/GRP78 signaling pathways in the ameliorative effects of morin against methotrexate-induced testicular toxicity in rats. *Mol Biol Rep* 2022; 49: 9641-9649.
11. Kuzu M, Yıldırım S, Kandemir FM, et al. Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem Biol Interact* 2019; 308: 89-100.
12. Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, et al. Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation and neuronal apoptosis. *Neurotoxicology* 2020; 76: 126-137.
13. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
14. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
15. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
16. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
17. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71: 952-958.
18. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
19. Ozdamar K. Biostatistics with SPSS. Kaan Bookstore, 2001.
20. Abd-Elrazek A, Shapana H, Shukry W, Galilah D. Comparison between Annona squamosa, Annona cherimolia and Annona atemoya ethanolic extracts extenuative impact against oxidative stress, inflammation and apoptosis in rat kidney induced by Ifosfamid. *Toxicol Res (Camb)* 2021; 10: 947-958.
21. Kataria PS, Kendre PP, Patel AA. Ifosfamide-induced encephalopathy precipitated by aprepitant: A rarely manifested side effect of drug interaction. *J Pharmacol Pharmacother* 2017; 8: 38-40.
22. Akaras N, Abuc OO, Koc K, et al. (1 → 3)-β-d-glucan enhances the toxicity induced by Bortezomib in rat testis. *J Food Biochem* 2020; 44: e13155.
23. Ileriturk M, Kandemir O, Akaras N, et al. Hesperidin has a protective effect on paclitaxel-induced testicular toxicity through regulating oxidative stress, apoptosis, inflammation and endoplasmic reticulum stress. *Reprod Toxicol* 2023; 118: 108369.
24. Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Eser G. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019; 26: 22562-22574.
25. Gur C, Kandemir FM, Caglayan C, Satıcı E. Chemopreventive effects of hesperidin against paclitaxel-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity via amendment of Nrf2/HO-1 and caspase-3/Bax/Bcl-2 signaling pathways. *Chem Biol Interact* 2022; 365: 110073.
26. Sayed-Ahmed MM, Hafez MM, Aldelemly ML, et al. Downregulation of oxidative and nitrosative apoptotic signaling by L-carnitine in ifosfamide-induced fanconi

- syndrome rat model. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012: 696704.
27. Ommati MM, Farshad O, Ghanbarinejad V, et al. The nephroprotective role of carnosine against ifosfamide-induced renal injury and electrolytes imbalance is mediated via the regulation of mitochondrial function and alleviation of oxidative stress. *Drug Res (Stuttg)* 2020; 70: 49-56.
 28. Ekinci Akdemir FN, Yıldırım S, Kandemir FM, et al. Protective effects of gallic acid on doxorubicin-induced cardiotoxicity; an experimental study. *Arch Physiol Biochem* 2021; 127: 258-265.
 29. Akaras N, Gur C, Kucukler S, Kandemir FM. Zingerone reduces sodium arsenite-induced nephrotoxicity by regulating oxidative stress, inflammation, apoptosis and histopathological changes. *Chem Biol Interact* 2023; 374: 110410.
 30. Geyikoglu F, Isikgoz H, Onalan H, et al. Impact of high-dose oleuropein on cisplatin-induced oxidative stress, genotoxicity and pathological changes in rat stomach and lung. *J Asian Nat Prod Res* 2017; 19: 1214-1231.
 31. Adefisayo MA, Adeyemi WJ, Alabi QK. Combined but not single administration of vitamin C and l-carnitine ameliorates cisplatin-induced gastric mucosa damage in male rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2018; 96: 830-838.
 32. Gao J, Liu Y, Chen J, et al. Curcumin treatment attenuates cisplatin-induced gastric mucosal inflammation and apoptosis through the NF- κ B and MAPKs signaling pathway. *Hum Exp Toxicol* 2022; 41: 9603271221128738.
 33. Caglayan C, Kandemir FM, et al. Neuroprotective effects of 18 β -glycyrrhetic acid against bisphenol A-induced neurotoxicity in rats: involvement of neuronal apoptosis, endoplasmic reticulum stress and JAK1/STAT1 signaling pathway. *Metab Brain Dis* 2022; 37: 1931-1940.
 34. Küçükler S, Kandemir FM, Yıldırım S. Protective effect of chrysin on indomethacin induced gastric ulcer in rats: Role of multi-pathway regulation. *Biotech Histochem* 2022; 97: 490-503.
 35. Yardım A, Gur C, Comakli S, et al. Investigation of the effects of berberine on bortezomib-induced sciatic nerve and spinal cord damage in rats through pathways involved in oxidative stress and neuro-inflammation. *Neurotoxicology* 2022; 89: 127-139.
 36. Akaras N, Ileritürk M, Gur C, et al. The protective effects of chrysin on cadmium-induced pulmonary toxicity; A multi-biomarker approach. *Environ Sci Pollut Res Int* 2023; 30: 89479-89494.
 37. Kandemir FM, Caglayan C, Darendelioğlu E, Küçükler S, İzol E, Kandemir Ö. Modulatory effects of carvacrol against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by molecular targeting regulation. *Life Sci* 2021; 277: 119610.
 38. Turan MI, Cayir A, Cetin N, et al. An investigation of the effect of thiamine pyrophosphate on cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage in rat brain tissue compared with thiamine: Thiamine and thiamine pyrophosphate effects on cisplatin neurotoxicity. *Hum Exp Toxicol* 2014; 33: 14-21.