



Biochemical and Histopathological Investigation of the Protective Effect of Misoprostol in Rat Lung Exposed to Paclitaxel

Sedat Bilgiç^{1,a,*}, Fatih M. Gür^{2,b}, İbrahim Aktaş^{3,c}

¹Adıyaman University, Vocational School of Health Services, Department of Medical Biochemistry, 02040 Adıyaman, Türkiye

²Niğde Ömer Halisdemir University, Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, 51240 Niğde, Türkiye

³Adıyaman University, Vocational School of Health Services, Department of Pharmacology, 02040 Adıyaman, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 01.10.2023 Accepted : 30.10.2023</p> <p><i>Keywords:</i> Antioxidant Lung Misoprostol Paclitaxel Rat</p>	<p>In our study, we investigated the protective effect of misoprostol (MP) against paclitaxel (PTX)-induced lung injury in rats. Twenty-one female Sprague-Dawley rats were provided to form 3 groups, each containing seven rats. Control, PTX and PTX + MP. In Control group, was given 1 mL of 0.9% NaCl intraperitoneally (i.p.) and 1 mL of 0.9% NaCl orally for 6 days. PTX and PTX + MP groups were given 2 mg/kg PTX i.p. to each rat on days 0, 2, 4 and 6 of the study. PTX + MP group was given 0.2 mg/kg/day MP orally for 6 days. After tissue samples were taken from rats under anesthesia, biochemical and histopathological analyses were performed on these samples. In the analyses, it was determined that the superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities and glutathione (GSH) levels decreased, while the malondialdehyde (MDA) level increased in the lung tissue of the PTX group rats. In the histopathological examinations, it was determined that histopathological changes such as irregularity and thickening in the alveolar structure, perivascular edema, and inflammatory cell infiltration in the perivascular area occurred in the PTX group rats. In the PTX + MP group, it was observed that the pathological changes detected in the PTX group were mostly prevented. These results show that MP is effective in preventing lung damage caused by PTX, and suggest that using these two drugs together in cancer treatment will be beneficial.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 11(11): 2172-2178, 2023

Paklitaksel'e Maruz Bırakılan Sıçan Akciğerinde Misoprostol'ün Koruyucu Etkisinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak İncelenmesi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 01.10.2023 Kabul : 30.10.2023</p> <p><i>Anahtar Kelimeler:</i> Antioksidan Akciğer Misoprostol Paklitaksel Sıçan</p>	<p>Sıçanlarda paklitaksel (PTX) kaynaklı akciğer hasarına karşı misoprostol'ün (MP) koruyucu etkilerinin incelendiği bu çalışmada, yirmi bir adet dişi Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Bu hayvanlardan rastgele bir seçimle Kontrol, PTX ve PTX + MP olmak üzere 3 grup (n=7) oluşturuldu. Kontrol grubuna 1 mL %0,9 NaCl intraperitoneal (i.p.) ve 1 mL %0,9 NaCl oral yolla 6 gün boyunca verildi. PTX ve PTX + MP gruplarına çalışmanın 0., 2., 4. ve 6. günlerinde her sıçana 2 mg/kg PTX i.p. olarak verildi. PTX + MP grubuna ayrıca 6 gün süreyle 0,2 mg/kg/gün MP oral olarak verildi. Doku numuneleri sıçanlardan anestezi altında alındıktan sonra bu numunelerde biyokimyasal ve histopatolojik analizler yapıldı. Yapılan analizlerde PTX grubu sıçanlarda akciğer dokusundaki süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile glutatyon (GSH) düzeyinin azaldığı, malondialdehit (MDA) düzeyinin ise yükseldiği belirlendi. Yapılan histopatolojik incelemelerde ise, PTX grubu sıçanlarda alveol yapısında düzensizlik ve kalınlaşma, perivasküler ödem ve perivasküler alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişikliklerin şekillendiği tespit edildi. PTX + MP grubunda ise, PTX grubunda tespit edilen patolojik değişikliklerin büyük oranda önlenildiği görüldü. Elde edilen bu sonuçlar; PTX'in neden olduğu akciğer hasarının önlenmesinde MP'nin etkili olduğunu göstermekte olup, kanser tedavisinde bu iki ilacın birlikte kullanılmasının faydalı olacağını düşündürmektedir.</p>

^a sbilgic@adiyaman.edu.tr
^c iaktas@adiyaman.edu.tr

^{id} <https://orcid.org/0000-0001-8410-2685>
^{id} <https://orcid.org/0000-0002-0956-8204>

^b histolog44@gmail.com ^{id} <https://orcid.org/0000-0001-7748-3272>



Giriş

Kemoterapi, kanser tedavisinde uygulanan en yaygın ve etkili yöntemlerden biridir. Kemoterapötik ilaçların terapötik etkilerinin yanında, sağlıklı organlarda yan etkilere de neden oldukları tespit edilmiştir. Kanser hastalarının tedavisinde çok sayıda kemoterapötik ilaç yaygın olarak kullanılmaktadır (Bilgiç ve Armagan, 2020a). Doğal bir ürün olarak bilinen paklitaksel (PTX), *Taxus brevifolia* ağacının kabuğu ve iğnelerinden elde edilir. PTX, laboratuvar ve klinik araştırmalarda uygulanan önemli bir antikanser ajandır (Massey ve ark., 2019; Bilgiç ve ark., 2018a). PTX, sistemik olarak uygulandığında meme kanseri, ilerlemiş yumurtalık karsinomu, akciğer kanseri, baş ve boyun karsinomu ve akut lösemiler gibi birçok tümöre karşı önemli anti-tümör aktivite göstermektedir (Kang ve ark., 2004; Bilgiç ve ark., 2018b). PTX için hedef, hücre iskeletinin önemli üyeleri olan mikrotübüllerdir. Mikrotübüller; hücre bölünmesi, hücre göçü ve hücre şeklinin korunması gibi birçok hücre fonksiyonunda kritik roller oynarlar (Axel ve ark., 1997; Azirak ve ark., 2022). PTX, hücre bölünmesi sırasında mikrotübüllerin yapı taşı olan tübülün'e bağlanarak mikrotübül yapısını hiperstabilize eder. PTX; mitozu bozar, polimerize mikrotübülleri sabitleyerek ve mikrotübül düzeneğini güçlendirerek hücre proliferasyonunu inhibe eder (Schiff ve ark., 1979). PTX, hücre zarına kolayca nüfuz eder. PTX'in lipofilik olması, ona hızlı hücre alımı destekleme olanağı sağlar. Dolayısıyla PTX, tümör hücrelerine karşı güçlü bir anti-proliferatif etkiye sahiptir. Ayrıca PTX; mikrotübülleri stabilize eder, mitozu bloke eder ve apoptozu indükleyerek fonksiyonlarını gösterir.

PTX infüzyonundan sonra vazodilatasyon, solunum problemi, uyuşukluk ve hipotansiyon gibi ciddi yan etkilerinin olabileceği de bildirilmiştir. Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda çok kürlü PTX kemoterapisinin pulmoner alveolar-kapiller sızıntı gibi akciğer yaralanmalarına neden olabileceği tespit edilmiştir (van Zuylen ve ark., 2001). Ayrıca PTX kullanımı sırasında bazı hastalarda yüzde kızarma, bronkospazm, nefes darlığı ve pulmoner ödem gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları da görülmüştür. Bu durumların ortaya çıkması kemoterapinin kesilmesi ile sonuçlanmıştır. Bunların yanı sıra PTX kullanımının; akut ve subakut interstisyel pnömoniye, akciğerlerde perivasküler ve interstisyel ödeme, alveolar yapıda düzensizlik ve kalınlaşmaya neden olduğu da bildirilmiştir (Itoh ve ark., 2004).

PTX, oral olarak uygulandığında çok sayıda dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar arasında; PTX'in zayıf sulu çözünürlüğü, sınırlı geçirgenliği, bağırsak ve karaciğerde sitokrom P450 enzimleri tarafından sınırlı metabolizması nedeniyle düşük biyoyararlanımı (<%5) bulunmaktadır. Diğer bir sınırlama ise çoklu ilaç direncine yol açan bağırsakta PTX emilimini önleyen P-glikoprotein (P-gp) akış pompasının varlığıdır. P-gp akış pompası, birçok güçlü antikanser ilacını etkisiz hale getirir ve kanser kemoterapisinin başarısızlığından büyük ölçüde sorumludur (Sparreboom ve ark., 1997; Tanbek ve ark., 2017). PTX akciğer kanseri tedavisinde ilk seçenek olmasına rağmen, ilacın P-gp tarafından sınırlı alımı nedeniyle kullanımı da sınırlıdır (Zhao ve ark., 2015). PTX'in klinik pratikte etkinliğini sınırlayan faktörler arasında suda çözünürlüğünün düşük olması, oksidatif strese neden olması

ve antitümör aktivitede seçici olmaması yer almaktadır. Ayrıca, PTX'in; antioksidan savunma sistemine müdahale edebileceği ve dokularda oksidatif hasara neden olabilecek birçok reaktif oksijen türünü üretebileceği bildirilmiştir (Badary ve ark., 2005; Azirak ve ark., 2019). Yapılan çalışmalarda PTX'in serbest radikalleri arttırdığı, lipid, protein ve DNA hasarına yol açtığı ve oksidatif hasarın etkilerine karşı koruyucu antioksidan aktiviteyi azalttığı rapor edilmiştir (Han ve ark., 2009). Bu bağlamda PTX'e bağlı akciğer hasarının, serbest oksijen radikallerinin artması sonucu meydana gelen oksidatif stresten kaynaklanabileceği varsayılmaktadır (Iraz ve ark., 2015). Dolayısıyla PTX birçok tümöre karşı koruyucu aktivite sağlamakla birlikte ciddi yan etkiler de göstermektedir.

Hücreler, oksidatif stresin neden olduğu hasara karşı korunmak için birçok mekanizma geliştirmiştir. Birçok orijinal çalışmada ilaçla birlikte kullanılan antioksidanlar vasıtasıyla ilaçların toksik etkilerinin ortadan kaldırılması amaçlanmıştır (Caffrey ve Frenkel, 2000). Dolayısıyla çalışmalarda PTX'in sistemik yan etkilerini minimalize etmek veya önlemek hedeflenmiştir. Buna göre antioksidan kapasiteli ilaçlar, tedavi sürecindeki antikanser ilaçların yan etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için bir kaynak olarak kullanılabilir (Altmann ve Gertsch, 2007). Bu bağlamda antioksidan özelliklere sahip olan misoprostol (MP) çok sayıda çalışmada kullanılmıştır. MP sentetik bir prostaglandin E1 analogudur ve ilk olarak mide ülserlerini tedavi etmek için kullanılmıştır (Elati ve Weeks, 2009). Ayrıca, MP'nin antioksidan özelliği aracılığıyla oksidatif stresi azaltarak koruyucu bir etki gösterdiği de bildirilmiştir (Ojima ve ark., 1993; Tastemir Korkmaz ve ark., 2021; Gür ve ark., 2022; Gür ve Bilgiç, 2022).

PTX'in akciğer tedavisi sırasında oluşan yan etkilerini önleyebilmek amacıyla, antioksidan etkilere sahip ajanlar üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Bu amaca yönelik olarak PTX'in yan etkilerine karşılık MP'nin koruyucu etkilerinin henüz araştırılmamış olması mevcut çalışmayı benzersiz kılmaktadır. Bu nedenle, mevcut çalışmada dişi sıçanların akciğer dokularında PTX'in neden olduğu hasara karşı MP'nin koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Kimyasallar

Çalışmamızda kullandığımız PTX, Actavis' den (Little Island, Co. Cork, İrlanda) temin edildi. MP (safılık > %98) ve kullanılan diğer kimyasallar Sigma Chemical Co.'dan (St. Louis, MO) satın alındı.

Hayvanlar

Çalışmamızda kullanılan 200-250 g ağırlığında ve 8-9 haftalık 28 Sprague-Dawley türü dişi sıçan Adıyaman Üniversitesi Deneysel İşlemler Etik Kurul protokol kurallarına (Protokol 2020/050) uygun olarak gerçekleştirildi. Hayvanların barındığı ortamın sıcaklığı $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ve nem oranı $\%60 \pm 5$ olarak dengede tutuldu. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında (12 saat ışık, 12 saat karanlık) tutulmuş olup, tüketebilecekleri kadar (*ad libitum*) yem ve su verildi. Oluşturulan koşullar deney boyunca sabit tutuldu.

Deney Protokolü

Deneyde gruplar rastgele oluşturuldu ve 3 grubun her birinde yedi sıçan (n=7) olacak şekilde tasarlandı. Bunlar: Kontrol, PTX, PTX + MP. Kontrol grubuna 1 mL %0,9 NaCl intraperitoneal (i.p.) ve 1 mL %0,9 NaCl oral olarak 6 gün süreyle verildi. İkinci gruba 0., 2., 4. ve 6. günlerde 2 mg/kg PTX i.p. olarak verildi (Zhou ve ark., 2020). Ardından üçüncü gruba 0., 2., 4. ve 6. günlerde i.p. olarak 2 mg/kg PTX ve 6 gün süreyle oral olarak günlük 0,2 mg/kg MP (0,2 mg Cytotec) verildi (Bilgiç ve ark., 2020b).

Çalışmamızdaki tüm deneysel uygulamalar 6 gün içinde tamamlandı. Ardından sıçanların tamamına anestezi (intramüsküler yolla 45 mg/kg dozda ketamin hidroklorür ve 5 mg/kg dozda ksilazin) verilerek biyokimyasal ve histopatolojik incelemelerde kullanılmak üzere kan örnekleri ve akciğer dokuları alındı. Kan örneklerinin santrifüjlenmesi 15 dakika boyunca 5.000xg'de gerçekleştirildi. Elde edilen serumlar biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80°C'ye yerleştirildi. Alınan akciğer doku numunelerinden biri biyokimyasal analizler için -80°C'ye yerleştirilirken, diğeri ise histopatolojik incelemeler için tespit solüsyonuna daldırıldı.

Histopatolojik Analizler

Akciğer dokuları bir gün boyunca 4°C'de, %10 nötral formalin solüsyonunda tespit edildikten sonra, alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin doku blokları, mikrotom aracılığı ile 5 µm kalınlığında kesildi (Leica Biosystems RM 2245; Leica, Nussloch, Germany). Doku kesitleri lam üzerine alındıktan sonra hematoxilen-eozin ile boyandı. Boyanan kesitler, Olympus BX-53 mikroskopu kullanılarak incelendi ve ardından bu mikroskopun kamerasıyla (DP 80 Olympus, Tokyo, Japonya) fotoğraflandı (Gur ve ark., 2021; Balcioglu ve ark., 2021; Aktas ve Gur, 2021).

Arteriyel Kan Gazı Analizi

Sağ karotid arterden 2 ml kan alındı. Kan gazı analizi (Abbott, ABD) için bir miktar kan alındı ve santrifüjlendi (3000 dev/dak, r = 15 cm). Süpernatandaki protein konsantrasyonu bikinkoninik asit (BCA) yöntemi kullanılarak ölçüldü (Liu ve ark., 2015).

Oksidatif Stres Biyobelirteçleri

Homojenizatör (Turrax T 25, Wilmington, ABD) kullanılarak akciğer dokularının homojenizasyonu yapıldı. Homojenatların hazırlama prosedürü, 10.000xg'de ve 4°C'de 15 dakika santrifüj edilerek gerçekleştirildi. Yapılmak istenilen diğer prosedürlerde 4°C'de çalışıldı. Biyokimyasal analizlerde kullanılacak homojenatlar 0,5-1,0 g olarak hazırlandı. Analizini yaptığımız malondialdehid (MDA), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) parametrelerinin ölçümünde absorbanı tayini spektrofotometre (UNICO Instruments C., Dayton, USA) ile yapıldı. Sonuçlar, protein konsantrasyonlarını belirlemek için Lowry ve ark. (1951) tarafından geliştirilen yöntemler kullanılarak elde edildi (Lowry ve ark., 1951).

MDA parametresini değerlendirme prosedürü, Draper ve Hadley'in (1990) yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi. Bu aşamada TBA'nın reaksiyonunun pH 3'te ve 95°C'de yaklaşık 15 dakika sürdüğü belirlendi. Ardından 532 nm'de yapılan ölçümler ve maksimum

absorpsiyon sonucunda pembe pigment oluşumu sağlandı. Değerlendirmeyi tamamlamak için ölçümler daha sonra bir spektrofotometre (UNICO Instruments C., Dayton, ABD) kullanılarak yapıldı (Draper ve Hadley, 1990).

GSH parametresinin değerlendirilme prosedürü Ellman (1959) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Öncelikle numuneye kimyasallar eklendi ve reaksiyon ortamda oluşturuldu. Bu işlem sonrasında sarı-yeşil renk oluşumu sağlandı. GSH ölçümü, 410 nm absorbansta bir spektrofotometre kullanılarak yapıldı (Ellman, 1959).

Çalışmamızda, pirogallol'un otooksidasyonu inhibe edilerek SOD aktivitesi ölçüldü. Bu işlemler Marklund ve Marklund'un (1974) yöntemi uygulanarak gerçekleştirildi. Enzim aktivitesi için prosedürler, 180 s(s)'de 440 nm'de gerçekleştirildi. Bu bağlamda SOD ölçümü U/mg Hb olarak ifade edilmiştir (Marklund ve Marklund, 1974).

CAT parametresinin analizi için öncelikli olarak, %10 doku homojenatlarına %0,9 NaCl ilave edildi. Daha sonra bunlar 8500xg'de ve 4°C'de 15 dakika santrifüjlendi. CAT parametresini ölçmek için bir fosfat tamponu kullanıldı. Daha sonra pH 7,0'da hidrojen peroksit (H₂O₂) hidroliz analizi yapıldı. CAT analizi daha sonra 240 nm'de absorbansta ölçüldü ve nmol/mg protein olarak belirlendi (Aebi, 1984).

İstatistiksel İnceleme

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 20.0 ile yapıldı. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edildi. Birden fazla örneklem grubunun ortalamalarının karşılaştırılması, varyans analizi kullanılarak ve iki örneklem grubunun ortalamalarının karşılaştırılması, t testleri kullanılarak yapıldı. Antioksidan parametrelerdeki parametrik değerlerin gruplar arası ve grup içi karşılaştırmaları, tek yönlü ANOVA ve LSD ile yapıldı. Parametrik olmayan değerler ise Kruskal Wallis testi kullanılarak gerçekleştirildi. Ayrıca histopatolojik skorların değerlendirilmesi için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. P<0,05 için değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Arteriyel Kan Gazı Parametrelerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması

Diğer gruplarla karşılaştırıldığında PTX grubunda, arteriyel karbondioksit basıncı (PCO₂) düzeyinde önemli ölçüde artış ve kısmi oksijen basıncı (PO₂) ve arteriyel oksijen doygunluğu (SaO₂) düzeylerinde ise önemli ölçüde azalma görüldü (P<0,05). PTX + MP grubu, PTX grubu ile kıyaslandığında ise PCO₂ seviyesinde ölçüde düşüş, PO₂ ve SaO₂ düzeylerinde önemli ölçüde artış görüldü (P<0,05) (Çizelge 1).

Akciğer Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri

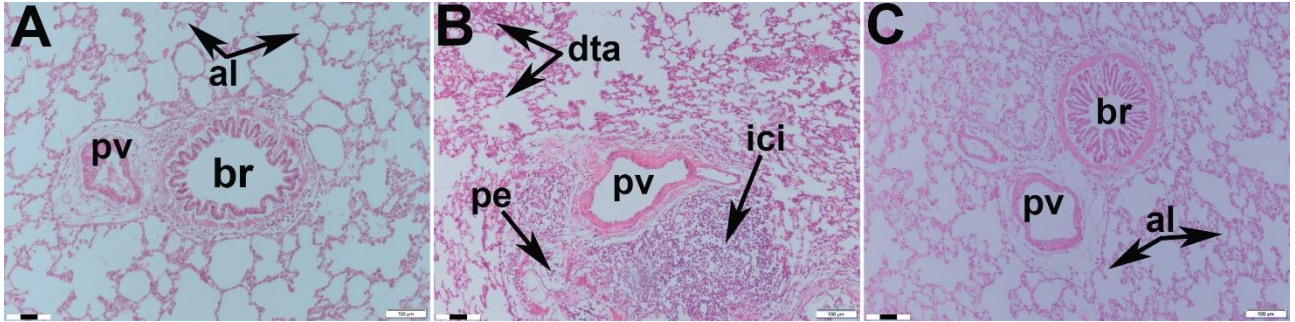
Gruplara ait oksidatif stress parametrelerinin sonuçları çizelge 1'de verilmiştir. PTX grubunda MDA seviyesinin kontrol ve PTX + MP gruplarına göre anlamlı olarak arttığı görüldü (P<0,05). PTX + MP grubundaki MDA seviyesinde PTX grubuna nazaran anlamlı olarak düşüş tespit edildi (P<0,05) (Çizelge 1). Diğer taraftan PTX grubu ile kontrol ve PTX + MP grupları karşılaştırıldığında SOD, CAT ve GSH parametrelerinde anlamlı olarak bir düşüş tespit edildi (P<0,05). PTX + MP grubu akciğer dokularındaki SOD, CAT ve GSH düzeylerinde ise PTX grubuna kıyasla anlamlı olarak artış kaydedildi (P<0,05) (Çizelge 1).

Çizelge 1. Akciğerde biyokimyasal parametreler ve doku oksidatif stres parametreleri

Table 1. Biochemical parameters and tissue oxidative stress parameters in the lung

	Kontrol	PTX	PTX + MP
Arteriyel kan gazları			
PCO ₂ (mmHg)	39,80 ± 1,08 ^b	50,10 ± 2,13 ^{a,c}	44,93 ± 1,18 ^b
PO ₂ (mmHg)	90,35 ± 0,52 ^b	73,42 ± 0,57 ^{a,c}	85,24 ± 1,45 ^b
SaO ₂ (%)	95,41 ± 1,25 ^b	82,81 ± 1,39 ^{a,c}	84,05 ± 1,94 ^b
Akciğer dokusu oksidatif stres parametreleri			
SOD (U/g)	3,41 ± 0,29 ^b	1,13 ± 0,19 ^{a,c}	3,99 ± 1,74 ^b
CAT (K/g)	0,53 ± 0,13 ^b	0,34 ± 0,09 ^{a,c}	0,57 ± 0,21 ^b
GSH (µmol/g)	0,64 ± 0,11 ^b	0,37 ± 0,41 ^{a,c}	0,68 ± 0,21 ^b
MDA (nmol/g tissue)	0,46 ± 0,54 ^b	0,94 ± 0,27 ^{a,c}	0,43 ± 0,87 ^b

“Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edildi. n = 7. PTX, paklitaksel; MP, misoprostol; MDA, malondialdehit; GSH, glutatyon; SOD, süperoksit dismutaz; CAT, katalaz. a Kontrolde anlamlı fark, b PTX’ten anlamlı fark, c PTX + MP’den anlamlı fark.”



Şekil 1. Kontrol (A), PTX (B), PTX + MP (C) gruplarına ait akciğer dokusu kesitlerinin ışık mikroskopik görüntüsü.

Al, alveoller; pv, pulmoner damar; br, bronşiol; pe, perivasküler ödem; ici, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu; dta, alveol yapısının düzensizleşmesi ve kalınlaşması (A, B, C × 100; H&E)

Figure 1. Light microscopic image of lung tissue sections of Control (A), PTX (B), PTX + MP (C) groups. Al, alveoli; pv, pulmonary vessel; br, bronchiolus; pe, perivascular edema; ici, inflammatory cells infiltration; dta, disorganizing and thickening alveoli structure (A, B, C × 100; H&E)

Histopatolojik Sonuçlar

Kontrol grubu sıçanlarda alveollerin, alveol kanallarının, bronş ve bronşçukların ışık mikroskopik görünümü normaldi. PTX grubu sıçanlarda alveol yapısında düzensizlik ve kalınlaşma, perivasküler ödem ve perivasküler alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. PTX + MP grubunda ise PTX grubunda şekillenen doku hasarlarının büyük oranda düzeldiği alveolar yapının kontrol grubuyla hemen hemen aynı olduğu, perivasküler inflamatuvar hücre infiltrasyonunun ve ödemin büyük ölçüde azaldığı tespit edildi (Şekil 1).

Tartışma

Bu çalışmada, kemoterapi sonrası hastalarda oluşan akciğer hasarlarını ve patofizyolojik değişiklikleri simüle etmek için sıçanlara intraperitoneal enjeksiyon yoluyla 0., 2., 4. ve 6. günlerde 2 mg/kg PTX uygulandı. PTX’in yan etkilerinden dolayı akciğerde hasara neden olduğu literatürde farklı çalışmalar sonucunda ispatlanmıştır (Kandemir ve ark., 2019). PTX tarafından indüklenen akciğer hasarı PTX’in doz sınırlayıcı yan etkisi olup PCO₂ düzeyinde artış, PO₂ ve SaO₂ düzeylerinde azalmaya neden olur. Çalışmamızda da kan gazı analiz sonuçları, PTX grubunun PCO₂ seviyesinin arttığını, PO₂ ve SaO₂ seviyelerinin ise azaldığını göstermektedir. PTX grubundaki bu sonuçların kontrol grubundan önemli ölçüde

farklı olması PTX’in alveolar-kapiller membran’a (AKM) zarar verdiğini ve dolayısıyla gaz değişimini etkilediğini ispatlamaktadır. AKM’nin bariyer fonksiyonundaki bozukluk; geçirgenliğin önemli ölçüde artışına ve madde transmembran taşınmasının düzenlenememesine yol açar. Ayrıca bu bozukluk; suyun, proteinlerin ve hücrelerin kılcal damarlardan alveolar interstisyuma ve alveolar boşluğa sızmalarına neden olur. Bu durum AKM’nin kalınlaşmasına, CO₂ ve O₂ difüzyonunun yavaşlamasına sebep olur (Liu ve ark., 2015). Çalışmamızda da MP uygulaması sonucu anlamlı olarak PCO₂ düzeyinde düşüş, PO₂ ve SaO₂ düzeylerinde artış meydana geldi. Bu durumda MP’nin etkisi ile parametrelerde anlamlı bir düzelmenin olduğu, PTX’in verdiği zararın azaltıldığı ve AKM’nin bariyer fonksiyonundaki bozuklukta düzelmenin şekillendiği söylenebilir (Mitchell ve ark., 2011).

Daha önce yapılmış çalışmalarda PTX’in yol açtığı akciğer hasarının, serbest radikallerin oluşumu sonucu meydana geldiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (Badary ve ark., 2005). PTX’e bağlı akciğer hasarının patogenezinde, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu mitokondriyal disfonksiyon sonucu süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit gibi oksidanların artışı rol oynar. Ayrıca antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, CAT) azaldığı da rapor edilmiştir (Kadikoylu ve ark., 2004; Erdemli ve ark., 2020). Bunun yanı sıra PTX’in redükte glutatyonun sülfhidril gruplarına bağlanarak serbest oksijen radikallerinin temizlenmesini azalttığı da bildirilmiştir. Bir

diğer faktör ise sisplatin-sülfhidril kompleksinin hücre membran ve enzim fonksiyonlarına zarar vererek lipid peroksidasyonu ve mitokondriyal hasar oluşturabilmesidir (Lau, 1999; Bilgiç ve Aktaş, 2022). Bazı çalışmalarda da PTX'in akciğer SOD, CAT enzim aktivitelerini ve GSH seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Padmavathi ve ark., 2006; Bilgiç ve ark., 2023). Diğer çalışmalarda ise, PTX'in akciğerlerde antioksidan kapasiteyi azaltıp MDA seviyesini artırarak akciğer epitel hücrelerinde lipid peroksidasyonuna neden olduğu bildirilmiştir. (Malekinejad ve ark., 2016; Gür ve Bilgiç, 2023).

Önceki çalışmalarda antioksidan etkilere sahip birçok farmakolojik ajanın, antikanser ilaçların hedef dışı dokulardaki toksik etkilerini önlemede başarılı bir şekilde kullanılabileceği gösterilmiştir (Gür ve ark., 2022; Gür ve Aktaş, 2022). Bunun yanı sıra antioksidan bileşiklerin, PTX kaynaklı akciğer hasarında oksidatif stresi önlediği birçok çalışmada kanıtlanmıştır (Nisari ve ark., 2019; Bilgiç ve ark., 2016). Mevcut çalışmada; PTX kaynaklı akciğer hasarına bağlı olarak antioksidan enzim (SOD, CAT) aktivitelerinin ve GSH seviyesinin azaldığı, MDA seviyesinin ise arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu PTX kaynaklı akciğer hasarını teyit etmektedir. Bu çalışmada MP uygulanması sonucu antioksidan kapasitede artış ve MDA seviyesinde ise düşüş kaydedildi. Bu sonuç PTX'in oksidatif stresi artırıcı etkilerinden dolayı akciğer dokusunda oluşturabileceği zararlı etkilere karşı antioksidan etkili MP'nin koruyucu olarak kullanılabilme potansiyeline sahip farmakolojik bir ilaç olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra elde edilen veriler MP uygulanması ile PTX'in indüklediği oksidatif stresin tersine çevrildiğini göstermektedir. Elde edilen verilerin tümünün akciğer hasarındaki mekanizmanın, antioksidan savunma sisteminin tükenmesiyle ilişkili olduğu hipotezini desteklediği görülmektedir (Martens ve ark., 2020; Bilgiç ve ark., 2022).

Mevcut çalışmada PTX grubu sıçanların akciğer dokusunda; alveoler yapıda düzensizlik ve kalınlaşma, perivasküler ödem ve perivasküler alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Bu bulgular önceki çalışmada bildirilen sonuçlarla uyumlu olup PTX'in akciğer dokusundaki hasar yapıcı etkisini teyit etmektedir (Itoh ve ark., 2004). Önceki çalışmalarda MP'nin beyin, karaciğer, kalp ve böbrek dokularında doksorubisin ve PTX tedavisinden kaynaklanan biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği rapor edilmiştir (Bilgiç et al., 2023; Gedik ve ark., 2017; Bilgiç et al., 2020b; (Bilgiç ve Armagan, 2020a). Yapılan bir başka çalışmada intraserebral kanama sonrası MP kullanımının beyin dokusunda oksidatif stresi ve hücrel inflamatuvar yanıtı azalttığı rapor edilmiştir (Alfirevic ve ark., 2015; Erdemli ve ark., 2017). MP'nin PTX'e karşı akciğerleri koruyucu ve iyileştirici etkilerinin; muhtemelen bu ilacın antioksidan, antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç

Sonuç olarak mevcut çalışmada MP'nin güçlü antioksidan etkileri sayesinde zararlı radikalleri temizlediği, antioksidan savunma sistemlerini aktive ettiği ve histopatolojik değişiklikleri azalttığı tespit edildi. Bu çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde PTX ve

MP'nin birlikte uygulanmasıyla, PTX'in akciğer dokuları üzerindeki istenmeyen etkilerinin azaltılabileceği görülmektedir. Dolayısıyla, kanser tedavisinin etkin ve kesintisiz bir şekilde devam ettirilebilmesi için bu iki ilacın birlikte uygulanması önerilebilir.

Çıkar Çatışması

Sedat Bilgiç: makaleyi yazdı, biyokimyasal analizleri gerçekleştirdi; Fatih M. Gür: histopatolojik verileri düzenledi ve İbrahim Aktaş: ilaç dozlarını belirledi, deneysel aşamaları gerçekleştirdi. Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
- Aktas I, Gur FM. 2021. The effects of thymoquinone and β -aminoisobutyric acid on brain tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Veterinary and Animal Research*, 4 (1): 1-6.
- Alfirevic A, Durocher J, Elati A, Leon W, Dickens D, Radisch S, Box H, Siccardi M, Curley P. 2015. Misoprostol-induced fever and genetic polymorphisms in drug transporters SLCO1B1 and ABC4 in women of Latin American and European ancestry. *Pharmacogenomics*, 16(9): 919-28.
- Altmann KH, Gertsch J. 2007. Anticancer drugs from nature-natural products as a unique source of new microtubule-stabilizing agents. *Natural Product Reports*, 24: 327-357.
- Axel DI, Kunert W, Göggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Küttner A, Wild DH, Brehm BR, Riessen R, Köveker G, Karsch KR. 1997. Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery. *Circulation*, 96: 636-45.
- Azirak S, Bilgiç S, Korkmaz DT, Guvenç AN, Kocaman N, Ozer MK. 2019. The protective effect of resveratrol against risperidone-induced liver damage through an action on FAS gene expression. *General Physiology and Biophysics*, 38: 215-225.
- Azirak S, Bilgiç S, Tastemir Korkmaz D, Sevimli M, Ozer MK. 2022. Effect of thymoquinone on ameliorating valproic acid-induced damage in pancreatic tissue of rats. *Cukurova Medical Journal*, 47(1): 350-359.
- Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. 2005. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sciences*, 76: 2125-2135.
- Balcioglu E, Gur FM, Gur HE, Bilgiç P, Kanklic T. 2021. Histological structure of Nannospalax xanthodon cochlea tissue. *Biologia*, 76: 2543-2548.
- Bilgiç S, Aktaş İ. 2022. Investigation of protective effects of misoprostol against paclitaxel-induced ovarian damage in rats. *Annals of Medical Research*, 29(3): 233-239.
- Bilgiç S, Armagan I. 2020a. Effects of misoprostol treatment on doxorubicin induced renal injury in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 95(2): 113-20.
- Bilgiç S, Dogan Z, Azirak S, Erdemli ME, Onderci M, Turk A, Ozer MK. 2018a. Hepatoprotective effect of royal jelly, grape seed extract and Lycium barbarum against diethylnitrosamine-induced liver toxicity in rats. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 25: 342-348.
- Bilgiç S, Gür FM, Aktaş İ. 2022. Biochemical and histopathological investigation of the protective effect of lutein in rat kidney exposed to cisplatin. *MEDICAL RECORDS-International Medical Journal*, 4(3): 433-8.
- Bilgiç S, Ozgocmen M, Ozer MK, Asci H. 2020b. Misoprostol ameliorates doxorubicin induced cardiac damage by decreasing oxidative stress and apoptosis in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 95: 514-552.

- Bilgiç S, Özerol E, Iraz M, Şahin N, Tanbek K, Çıgılı A. 2016. Carbontetrachloride induced acute liver damage and protective effect of n-acetylcysteine on rats with regenerated and non-regenerated liver. *Turkish Journal of Biochemistry*, 41(3): 189-197.
- Bilgiç S, Özgöçmen M, Ozer MK. 2023. Thymoquinone ameliorates amikacin induced oxidative damage in rat brain tissue. *Biotechnic & Histochemistry*, 98(1): 38-45.
- Bilgiç S, Tastemir Korkmaz D, Azirak S, Guvenc AN, Kocaman N, Ozer MK. 2018b. Olanzapine-induced renal damages and metabolic side effects: the protective effects of thymoquinone. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 25(1): 70-75.
- Caffrey PB, Frenkel GD. 2000. Selenium compounds prevent the induction of drug resistance by cisplatin in human ovarian tumor xenografts in vivo. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 46: 74-78.
- Draper HH, Hadley M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186: 421-31.
- Elati A, Weeks AD. 2009. The use of misoprostol in obstetrics and gynaecology. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 116(1): 61-69.
- Ellman GL. 1959. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 82(1): 70-77.
- Erdemli ME, Akgül H, Ege B, Aksungur Z, Gozukara H, Selamoglu Z. 2017. The effects of grapeseed extract and low level laser therapy administration on the liver in experimentally fractured mandible. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 24(2): 127-33.
- Erdemli ME, Zayman E, Erdemli Z, Gul M, Gul S, Gozukara Bag H. 2020. Protective effects of melatonin and vitamin E in acetamiprid-induced nephrotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 9202-9213.
- Gedik S, Erdemli ME, Gul M, Yigitcan B, Bag HG, Aksungur Z, Altinoz E. 2017. Hepatoprotective effects of crocin on biochemical and histopathological alterations following acrylamide-induced liver injury in Wistar rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95: 764-770.
- Gür F, Aktaş İ. 2022. Silymarin protects kidneys from paclitaxel-induced nephrotoxicity. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 10 (3): 452-458.
- Gür FM, Aktaş İ, Bilgiç S, Pekince M. 2022. Misoprostol alleviates paclitaxel-induced liver damage through its antioxidant and anti-apoptotic effects. *Molecular & Cellular Toxicology*, 18: 393-400.
- Gür FM, Bilgiç S. 2022. A synthetic prostaglandin E1 analogue, misoprostol, ameliorates paclitaxel-induced oxidative damage in rat brain. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 162: 106663.
- Gür FM, Bilgiç S. 2023. Silymarin, an antioxidant flavonoid, protects the liver from the toxicity of the anticancer drug paclitaxel. *Tissue and Cell*, 83, 102158.
- Gur FM, İkinci Keles A, Erol HS, Guven C, Taskin E, Kaya H, Gur HE, Odaci E, Halici MB, ve Timurkaan S. 2021. The effect of 900-MHz radiofrequency electromagnetic fields during the adolescence on the histological structure of rat testis and its androgen and estrogen receptors localization. *International Journal of Radiation Research*, 19(1): 135-144.
- Han HS, Ro J, Lee KS, Nam BH, Seo JA, Lee DH, Lee H, Lee ES, Kang HS, Kim SW. 2009. Analysis of chemotherapy-induced amenorrhea rates by three different anthracycline and taxane containing regimens for early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 115: 335-342.
- Iraz M, Bilgiç S, Samdanci E, Ozerol E, Tanbek K. 2015. Preventive and early therapeutic effects of β -glucan on the bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *European Review for Medical & Pharmacological*, 19: 1505-1516.
- Itoh Y, Sendo T, Hirakawa T, Goromaru T, Takasaki S, Yahata H, Nakano H, Oishi R. 2004. Sensory nerve peptides rather than mast cell histamine are involved in paclitaxel hypersensitivity reactions. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 169: 111-119.
- Kadikoylu G, Bolaman Z, Demir S, Balkaya M, Akalin N, Enli Y. 2004. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. *Human & Experimental Toxicology*, 23: 29-34.
- Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Eser G. 2019. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 22562-22574.
- Kang BK, Chon SK, Kim SH, Jeong SY, Kim MS, Cho SH, Lee HB, Khang G. 2004. Controlled release of paclitaxel from microemulsion containing PLGA and evaluation of anti-tumor activity in vitro and in vivo. *International Journal of Pharmaceutics*, 286: 147-56.
- Lau AH. 1999. Apoptosis induced by cisplatin nephrotoxic injury. *Kidney International*, 56(4): 1295-8.
- Liu WJ, Zhong ZJ, Cao LH, Li HT, Zhang TH, Lin WQ. 2015. Paclitaxel-induced lung injury and its amelioration by parecoxib sodium. *Scientific Reports*, 5: 12977.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-75.
- Malekinejad H, Ahsan S, Delkhosh-Kasmaie F, Cheraghi H, Rezaei-Golmisheh A, Janbaz-Acyabar H. 2016. Cardioprotective effect of royal jelly on paclitaxel-induced cardio-toxicity in rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19: 221-227.
- Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47(3): 469-74.
- Martens MD, Field JT, Seshadri N, Day C, Chapman D, Keijzer R, Doucette CA, Hatch GM, West AR, Ivanko TL, Gordon JW. 2020. Misoprostol attenuates neonatal cardiomyocyte proliferation through Bnip3, perinuclear calcium signaling, and inhibition of glycolysis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 146: 19-31.
- Massey AE, Sikander M, Chauhan N, Kumari S, Setua S, Shetty AB, Mandil H, Kashyap VK, Khan S, Jaggi M, Yallapu MM, Hafeez BB, Chauhan SC. 2019. Next-generation paclitaxel-nanoparticle formulation for pancreatic cancer treatment. *Nanomedicine*, 20: 1-15.
- Mitchell LA, Overgaard CE, Ward C, Margulies SS, Koval M. 2011. Differential effects of claudin-3 and claudin-4 on alveolar epithelial barrier function. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*, 301: 40-49.
- Nisari M, Kaymak E, Ertekin T, Ceylan D, Inanc N, Ozdamar S. 2019. Effects of paclitaxel on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in tissues of mice bearing ehrlich solid tumor. *Eurasian Journal of Medical Investigation*, 3(4): 315-321.
- Ojima F, Sakamoto H, Ishiguro Y, Terao J. 1993. Consumption of carotenoids in photosensitized oxidation of human plasma and plasma low-density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine*, 15: 377-384.
- Padmavathi R, Senthilnathan P, Chodon D, Sakthisekaran D. 2006. Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7,12 dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats. *Life Sciences*, 78: 2820-2825.
- Schiff PB, Fant J, Horwitz SB. 1979. Promotion of microtubule assembly in vitro by Taxol. *Nature*, 277: 665-7.

- Sparreboom A, van Asperen J, Mayer U, Schinkel AH, Smit JW, Meijer DK, Borst P, Nooijen WJ, Beijnen JH, van Tellingen O. 1997. Limited oral bioavailability and active epithelial excretion of paclitaxel (Taxol) caused by P-glycoprotein in the intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94: 2031-2035.
- Tanbek K, Ozerol E, Bilgic S, Iraz M, Sahin N, Colak C. 2017. Protective effect of *Nigella sativa* oil against thioacetamide-induced liver injury in rats. *Medicine Science International Medical Journal*, 6(1): 96-103.
- Tastemir Korkmaz D, Azirak S, Bilgiç S, Bayram D, Ozer MK. 2021. Thymoquinone reduced RIPK1-dependent apoptosis caused by valproic acid in rat brain. *Annals of Medical Research*, 28(11): 2005-11.
- van Zuylen L, Verweij J, Sparreboom A. 2001. Role of formulation vehicles in taxane pharmacology. *Investigational New Drugs*, 19: 125-141.
- Zhao M, Lei C, Yang Y, Bu X, Ma H, Gong H, Liu J, Fang X, Hu Z, Fang Q. 2015. Abraxane, the nanoparticle formulation of paclitaxel can induce drug resistance by up-regulation of p-gp. *PLoS One*, 10(7): e0131429.
- Zhou YQ, Liu DQ, Chen SP, Chen N, Sun J, Wang XM, Cao F, Tian YK, Ye DW. 2020. Nrf2 activation ameliorates mechanical allodynia in paclitaxel-induced neuropathic pain. *Acta Pharmacol Sin*, 41(8): 1041-1048.