



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA 5-FLOROURASİL İLE İNDÜKLENEN
GASTROİNTESTİNAL MUKOZİTE KARŞI ALFA-LİPOİK
ASİDİN KORUYUCU ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Deniz CEYLANLI

Lefkoşa

Aralık 2022

DENİZ CEYLANLI

SIÇANLARDA 5-FLOROURASİL İLE İNDÜKLENEN
GASTROİNTESTİNAL MUKOZİTE KARŞI ALFA-LİPOİK
ASİDİN KORUYUCU ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

2022

**YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA 5-FLOROURASİL İLE İNDÜKLENEN
GASTROİNTESTİNAL MUKOZİTE KARŞI ALFA-LİPOİK
ASİDİN KORUYUCU ETKİLERİ**

DOKTORA TEZİ

Deniz CEYLANLI

Tez Danışmanı




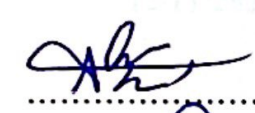


Doç. Dr. Serkan SAYINER

Lefkoşa

Aralık, 2022

Onay

Deniz CEYLANLI tarafından hazırlanan “Sıçanlarda 5-Florourasil ile İndüklenen Gastrointestinal Mukozite Karşı Alfa-Lipoik Asidin Koruyucu Etkileri” başlıklı tez, kapsam ve nitelik açısından kalite standartlarına uygunluğu ile ilgili Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak 16 Aralık 2022 tarihinde kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Adı – Soyadı	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Özlem DALMIZRAK	
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Tevhide SEL	
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Şermin TETİK	
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ	
Danışman ve Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Serkan SAYINER	
Anabilim Dalı Başkanı Onayı		

16..12./2022

Prof. Dr. Özlem DALMIZRAK
Anabilim Dalı Başkanı

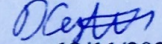
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

 / 20...
Prof. Dr. Kemal Hüsnü Çan BAŞER
Enstitü Müdürü

Etik İkelere Uygunluk Beyanı

Bu tezin içinde sunduğum verileri, bilgileri ve belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi; tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu; çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kurallar gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Deniz CEYLANLI



12/11/2022

Teşekkür

Akademik hayatıma başladığım her anda yanımda olan, bana bu zorlu ve meşakkatli öğretim yolunu gösteren, bilgisi, emeği ve tecrübesiyle sayın danışman hocam Doç. Dr. Serkan SAYINER'e,

Tez çalışmalarım sürecinde bana bilgileri ve deneyimleri ile katkı sağlayan Doç. Dr. Ahmet Özer ŞEHİRLİ ve Doç. Dr. Kerem TERALI'ya, desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Nurhayat GÜLMEZ ve Dr. Hüseyin ŞAH' a,

Doktora eğitimin boyunca her konuda desteklerini aldığım, engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve yanlarında çalışmaktan dolayı çok şanslı olduğum hocalarım Prof. Dr. Özlem DALMIZRAK'a, Prof. Dr. Nevbahar TURGAN'a, Prof. Dr. Hamdi ÖĞÜŞ'e ve Prof. Dr. Nazmi ÖZER'e,

Doktora programına başladığım ilk yıllarda benden desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Osman ERGENE'ye,

Desteklerinden dolayı YDÜ Deneysel Hayvanları Araştırma Merkezi sorumlu veteriner hekimi Meliha Melis TEMİZEL'e,

Bu zorlu süreçte yanımda olan birlikte büyük işleri beraber başardığımız Vet. Hek. Sevgi GENÇOSMAN'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Veteriner Hekim Deniz CEYLANLI

Özet

Sıçanlarda 5-Florourasil ile İndüklenen Gastrointestinal Mukozite Karşı Alfa-Lipoik Asidin Koruyucu Etkileri

CEYLANLI, Deniz

Doktora, Tıbbi Biyokimya Bilim Dalı

Aralık, 2022, 183 sayfa

Kemoterapinin neden olduğu gastrointestinal sistem mukoziti, pro-enflamatuar sitokinlerin ve proteolitik enzimlerin salınımının yanı sıra oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasına aracılık eder. Bu tez çalışması ile alfa-lipoik asidin (ALA) 5-florourasil (5-FU) ile indüklenen gastrointestinal mukozit üzerindeki olası koruyucu etkisini incelemek amaçlanmıştır. Otuz iki Wistar Albino sıçanı dört gruba ayrıldı: Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALA. Deneyin sonunda hayvanlar sakrifiye edildi. Mide, ince ve kalın bağırsak dokuları eksize edildi, serum elde etmek için kan örnekleri alındı. Matriks metalloproteinaz (MMP; MMP-1, -2 ve -8) aktiviteleri ve metalloproteinazların doku inhibitörü-I (TIMP-1) seviyeleri, ayrıca malondialdehit (MDA), interlökin-1 beta (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) konsantrasyonları doku ve serum örneklerinde tespit edildi. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri de dokularda ölçülmüştür. Bu parametrelerin yanında sistemik inceleme için de serum albümin, total protein, BUN, kreatinin konsantrasyonları ile ALP, ALT, AST, LDH, amilaz ve lipaz aktiviteleri de ölçüldü. Çalışmanın bulguları, 5-FU tarafından indüklenen gastrointestinal mukozitin, sıçanlardan alınan hem serum hem de doku örneklerinde MMP-1, MMP-2, MMP-8 aktiviteleri ile TIMP-1 seviyesini istatistiki önemde arttırdığını ($p<0,05-0,0001$), ALA tedavisinin ise artan seviyeleri önemli seviyede baskıladığı tespit edildi ($p<0,05-0,0001$). Ayrıca Mukozit grubunda IL-1 β ve TNF- α düzeylerindeki artışın ($p<0,001-0,0001$) ALA uygulaması ile geri döndüğü de saptandı ($p<0,05-0,0001$). Lipid peroksidasyon belirteci MDA tüm dokularda önemli oranda artarken ($p<0,05-0,0001$), Mukozit+ALAgubunda önemli ölçüde MDA seviyelerinin düştüğü belirlendi ($p<0,05-0,01$). Histopatolojik bulgular, ALA tedavisinin mide ve ince bağırsaktaki doku hasarını da azalttığına işaret etti. Sonuç olarak, 5-FU ile kombine

ALA tedavisinin, enflamasyonu ve oksidatif stresi hafifleterek sıçanlarda 5-FU ile indüklenen gastrointestinal mukozit üzerinde olumlu etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Böylelikle 5-FU terapisinde ALA'nın birlikte kullanımının olabileceği ancak bunun için daha ileri çalışmaların gerekliliği de ortaya çıkmıştır. Bu noktada çalışmanın önemli bir başlangıç adımı olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: 5-fluorourasil, alfa-lipoik asit, gastrointestinal mukozit, enflamasyon, oksidatif stres

Abstract**Protective Effects of Alpha-Lipoic Acid against 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Mucositis in Rats****CEYLANLI, Deniz****PhD, Department of Medical Biochemistry****December, 2022, 183 pages**

Gastrointestinal tract mucositis caused by chemotherapy mediates the release of proinflammatory cytokines and proteolytic enzymes, as well as the disruption of the oxidant-antioxidant balance. This study was designed to examine the possible protective effect of alpha-lipoic acid (ALA) on 5-fluorouracil (5-FU)-induced gastrointestinal mucositis. Thirty-two Wistar Albino rats were divided into four groups: Control, ALA, Mucositis and Mucositis+ALA. At the end of the experiment, the animals were sacrificed. Stomach, small and large intestine tissues were excised, and blood samples were taken to obtain serum. Matrix metalloproteinase (MMP; MMP-1, -2 and -8) activities and tissue inhibitor of metalloproteinases-I (TIMP-1) levels, as well as malondialdehyde (MDA), interleukin-1 beta (IL-1 β) and tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) concentrations were detected in tissues and serums. Glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activities were also measured in tissues. In addition to these parameters, serum albumin, total protein, BUN, creatinine concentrations and ALP, ALT, AST, LDH, amylase and lipase activities were also measured in the systemic examination. The results of the study showed that gastrointestinal mucositis induced by 5-FU statistically increased MMP-1, MMP-2, MMP-8 activities and TIMP-1 levels in both serum and tissues from rats ($p < 0.05-0.001$). ALA treatment was found to suppress increasing levels significantly ($p < 0.05-0.0001$). It was also found that the increase in IL-1 β and TNF- α levels in the mucositis group ($p < 0.001-0.0001$) was reversed with ALA administration ($p < 0.05-0.0001$). While the lipid peroxidation marker MDA increased significantly in all tissues ($p < 0.05-0.0001$), it was determined that MDA levels decreased significantly in the Mucositis+ ALA group ($p < 0.05-0.01$). Histopathological results indicated that ALA treatment also reduced tissue damage in the stomach and small intestine. In

conclusion, our findings show that ALA treatment combined with 5-FU has positive effects on 5-FU-induced gastrointestinal mucositis in rats by attenuating inflammation and oxidative stress. Thus, it has emerged that ALA can be used together in 5-FU therapy, but further studies are needed for this. At this point, the study is an important initial step.

Keywords: 5-fluorouracil, alpha-lipoic acid, gastrointestinal mucositis, inflammation, oxidative stress

İçindekiler

Onay	I
Etik İlkeler Uyumluk Beyanı	II
Teşekkür	III
Özet	IV
Abstract	VI
İçindekiler	VIII
Tablolar Listesi.....	XI
Şekiller Listesi.....	XII
Ekler Listesi	XIV
Kısaltmalar	XV

BÖLÜM I

Giriş.....	1
------------	---

BÖLÜM II

Kavramsal Temeller / Kuramsal Temeller ve İlgili Araştırmalar	2
Kanser.....	2
Dünyada Kanser	2
Kanserin Cinsiyetlere Göre Dağılımı	3
Kanserin Oluşumu.....	3
Hücre Döngüleri	5
Gastrointestinal Sistem.....	6
Gastrointestinal Sindirimin Başlaması	6
İnce ve Kalın Bağırsaklar	7
Bağırsak Epitel Geçirgenliğinin Düzenlenmesi	9
Kemoterapi	10
Kemoterapötik bir ilaç olarak 5-Florourasil (5-FU).....	10
Mukozit	16
Metalloproteinazlar	18
MMP Yapısı ve İşlevi	21
MMP İfadesinin ve Aktivitesinin Düzenlenmesi	22
Doku Yaralanmasında MMP'ler	22
MMP'ler ve Bariyer İşlevi	23
MMP'ler, Enflamatuar Sitokinler ve Kemokinler.....	23
MMP'ler ve Yara İyileşmesi	23
Reaktif Oksijen Türleri.....	25

Sitoplazmik Reaktif Oksijen Türleri	25
Mitokondriyal Reaktif Oksijen Türleri	26
ROS ve Endoplazmik Retikulum	27
ROS ve Enflamasyon	27
Glutasyon peroksidaz ve Superoksit dismutaz	28
Malondialdehit (MDA)	31
Antioksidan Uygulamaları	32
Pro-enflamatuar Sitokinler	33
Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)	33
İnterlökin-1beta (IL-1 β)	34
Alfa-Lipoik Asit (ALA)	35
Alfa Lipoik Asidin Anti-Oksidan ve Anti-Enflamatuvar Özellikleri.....	38

BÖLÜM III

Yöntem.....	42
Etik Kurul Onayı ve Çalışma Grupları.....	42
Çalışma Materyallerinin Toplanması	43
Dokuların Homojenizasyonu.....	44
Bradford Protein Tayin Yöntemi.....	44
Serum Biyokimya İndikatörleri.....	45
Pro-enflamatuar Sitokinlerin Ölçümü	48
IL-1 β	48
TNF- α	50
Matriks Metalloproteinazlar (MMP) ve TIMP-1 Seviyelerinin Ölçümü	52
MMP-1	52
MMP-2	54
MMP-8	57
TIMP-1	58
Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi	60
Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitelerinin Ölçülmesi.....	63
Histopatolojik İnceleme	64
İstatistiksel Hesaplama	64

BÖLÜM IV

Bulgular ve Yorumlar	66
ALA Uygulamasının Biyokimyasal İndikatörlere Etkisi	66

ALA'nın Pro-enflamatuvar Sitokinler Üzerindeki Etkisi.....	71
MMPLer ve TIMP-1 Bulguları.....	76
ALA'nın MDA, GPx ve SOD Seviyelerine Etkisi.....	84
Histopatoloji Bulgular	89
Mide'ye ait Histopatolojik Bulgular	89
İnce Bağırsak Histopatolojik Bulgular.....	90
Kalın Bağırsak Histopatolojik Bulgular.....	92
BÖLÜM V	
Tartışma.....	93
BÖLÜM VI	
Sonuç ve Öneriler.....	104
Sonuçlar.....	104
Öneriler.....	104
Kaynakça.....	106
Ekler	157
Ek 1. Etik Kurul Raporları.....	157
Ek 2. İntihal Raporu	159
Ek 3. Özgeçmiş.....	160

Tablolar Listesi

Tablo 1. Sıçan Serumlarında Enzimlerin ve Metabolitlerin Sonuçları	66
Tablo 2. Sıçan Serumlarında Serum TNF- α ve IL-1 β Sonuçları	72
Tablo 3. Sıçan Dokularında TNF- α ve IL-1 β Sonuçları	73
Tablo 4. Sıçanların Serum ve Dokularında MMP-1,-2, -8 ve TIMP-1 Sonuçları.....	77
Tablo 5. Sıçanların Serum ve Dokularında MDA, GPX ve SOD Sonuçları.....	85
Tablo 6. Deney Gruplarının İnce Bağırsaklarında Villus Uzunlukları	91

Şekiller Listesi

Şekil 1. İnsanlarda Midenin Sınırları ve Bölgeleri.....	7
Şekil 2. İnce Bağırsak	8
Şekil 3. Kalın Bağırsak Anatomisi.....	9
Şekil 4. 5-FU Molekül Yapısı	11
Şekil 5. 5-Florourasil Aktivitesinin Modülasyonu.....	13
Şekil 6. 5-FU ile Timidilat Sentaz İnhibisyonunun Mekanizması.....	14
Şekil 7. 5-Florourasil (5-FU) Moleküler Mekanizmaları.....	16
Şekil 8. ALA'nın Optik İzomerlerinin Kimyasal Yapısı.	36
Şekil 9. Çalışmanın Akış Şeması	43
Şekil 10. Dialab Üre Test Kiti.....	47
Şekil 11. TNF- α Çalışması Sırasında Substrat Aşaması.....	52
Şekil 12. MW-12A Mikroplaka Yıkayıcısı.....	56
Şekil 13. Malondialdehitin (MDA) 2 Molekül 2-Tiyobarbitürik asit (TBA) İle Reaksiyonu.....	61
Şekil 14. MDA Test kiti.....	62
Şekil 15. BS-240VET Otomatik Biyokimya Analizörü.....	64
Şekil 16. Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALAGruplarında Serum BUN, Kreatinin, Albümin ve TP Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması.....	67
Şekil 17. Serum ALP, LDH, AST, ALT, Lipaz ve Amilaz Değerlerinin Deney Grupları Arası Karşılaştırılması.....	69
Şekil 18. Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALA Gruplarında Serum, TNF- α ve IL-1 β Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması.....	72
Şekil 19. Sıçanların Mide, İnce Ve Kalın bağırsak Kontrol, ALA, Mukozit Ve Mukozit+ALA Gruplarında TNF- α Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması.	74
Şekil 20. Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALAGruplarında Mide, İnce ve Kalın Bağırsak Dokuları IL-1 β Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması	75
Şekil 21. Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALA Gruplarında Serum MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması	78
Şekil 22. Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-1 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	79
Şekil 23. Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-2 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	80

Şekil 24. Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-8 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması. Sonuçları	82
Şekil 25. Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsak TIMP-1 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması.....	83
Şekil 26. Sıçanların Serum, Mide, İnce Ve Kalın Bağırsak MDA Seviyelerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması	86
Şekil 27. Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsaktaki GPx Değerlerinin Karşılaştırılması. Sonuçları	87
Şekil 28. Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsaktaki SOD Değerlerinin karşılaştırılması	88
Şekil 29. Sıçanların Mide Dokularının Histopatolojik Bulguları.....	90
Şekil 30. Sıçanların İnce Bağırsak Histopatolojik Bulguları	91
Şekil 31. Sıçanların Kalın Bağırsak Histopatolojik Bulguları	92

Ekler Listesi

Ek 1. Etik Kurul Raporu.....	157
Ek 2. İntihal Raporu	159
Ek 3. Özgeçmiş	160

Kısaltmalar

•OH:	Hidroksil radikali
5'DFUR:	5'-deoksi 5-fluorouridine
5-FU:	5-Florourasil
ALA:	Alfa-lipoik asit
ALP:	Alkalin fosfataz
ALT:	Alanin aminotransferaz
AMP:	Adenozin monofosfat
AMPK:	AMP ile aktive olan protein kinaz
AST:	Aspartat aminotransferaz
B-RAF:	B-Raf proto-oncogen
BSA:	Bovine serum albümin
BUN:	Kan üre azotu
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
c-MYC:	MYC proto-onkogen
COX-2:	Prostaglandin-endoperoksit sentaz 2
DEHAM:	Yakın Doğu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
DHLA:	Dihidrolipoik asit
DNA:	Deoksiribonükleik asit
DPD:	Dihidropirimidin dehidrojenaz
dTTP:	Deoksitimidin trifosfat
ECM:	Hücre dışı matriks
EGF:	Epidermal büyüme faktörü

ER:	Endoplazmik retikulum
ERO1:	ER oksidoredüktin 1
FDA:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi
FdUMP:	Florodeoksiüridin monofosfat
FMN:	Flavin Mononükleotit
GIS:	Gastrointestinal sistem
GPx:	Glutatyon peroksidaz
GR:	Glutatyon redüktaz
GSH:	Glutatyon
GSSG:	Okside glutatyon
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
HDI:	İnsani Gelişme Endeksi
HIF1α:	Hipoksi indüklenbilir faktör 1 alfa
HPX:	Hemopeksin benzeri
IFCC:	Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu
IFN:	İnterferon
IFN-γ:	İnterferon-gamma
IL:	İnterlökin
IL-1R:	İnterlökin-1 Reseptörü
IL-1β:	İnterlökin 1 beta
INOS:	İndüklenbilir nitrik oksit sentaz
IP:	Intra-peritoneal
IV:	İntravenöz

JNK:	c-Jun N-terminal kinaz
KDH:	Keto-asit dehidrojenaz
K-RAS:	Kirsten sıçan sarcoma virüs
LDH:	Laktat dehidrojenaz
LPS:	Lipopolisakkarit
MDA:	Malondialdehit
mitoROS:	Mitokondriyal ROS
MMP:	Matriks metalloproteinaz
MMP-1:	Matriks metalloproteinaz-1
MMP-2:	Matriks metalloproteinaz-2
MMP-3:	Matriks metalloproteinaz-3
MMP-8:	Matriks metalloproteinaz-8
MTX:	Metotreksat
MYD88:	Miyeloid farklılaşma birincil yanıtı 88
NADPH:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-κB:	Aktive B hücrelerinin nükleer faktör kappa-hafif zincir güçlendiricisi
NK:	Doğal öldürücü
NOX:	The NADPH Oksidaz
O₂⁻:	Süperoksit anyonu
ONOO⁻:	Peroksinitrit
OS:	Oksidatif stresin
P53:	Tümör protein p53
PDH:	Piruvat dehidrojenaz

PDI:	Protein disülfid izomeraz
PEST:	Prolin, glutamik asit, serin ve treonin sekansı
PGE2:	Prostaglandin E2
PKA:	Protein kinaz A
PPP:	Pentoz-Fosfat yolu
Prdx4:	Peroksiredoksin-4
PRPP:	Fosforibozil pirofosfat
RET:	Ters elektron transferi
RNA:	Ribonükleik asit
ROS:	Reaktif oksijen türleri
SDS:	Sodyum dodesil sülfat
SOD:	Süperoksit dismutaz
TACE:	TNF- α -dönüştürücü enzim
TBARS:	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
TGF-β:	Tümör büyüme faktörü-beta
TIMP-1:	Metallopeptidaz inhibitörü-1
TIR:	Toll-IL 1 reseptörü
TLR:	Toll benzeri reseptör
tmTNF-α:	Transmembran TNF- α
TNF:	Tümör nekroz faktörü
TNFR1:	Tümör nekroz faktörü reseptörü-1
TNF-α:	Tümör nekroz faktörü alfa
TP:	Timidin fosforilaz

TP: Total protein

TRAF: Tumor nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktör

TS: Timidilat sentaz

BÖLÜM I

Giriş

Bu bölümde araştırmanın problemine, amacına, önemine, sınırlılıklarına ve ilgili tanımlara yer verilmiştir.

Kanser, tüm ülkelerde en sık karşılaşılan ölüm nedenlerindedir ve nüfusun uzun yaşam beklentisinin önündeki en büyük engeldir (Bray vd., 2021). Pirimidin analogu 5-florourasil (5-FU), gastrointestinal kanserlerde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir. 5-FU, timidilat sentazın (TS) inhibisyonu ve metabolitlerinin RNA ve DNA'ya entegrasyonu yoluyla antikanser etkilerini gösterir (Chalabi-Dchar vd., 2021).

Mukozit, tüm gastrointestinal sistem (GIS) mukozasının ülserasyon ve enflamasyonu ile karakterizedir, ayrıca enfeksiyonun eklenmesiyle hayati tehdit olabilecek patolojik bir enflamatuvar süreçtir. Gastrointestinal mukozit, kanser tedavisinin etkileri çoğunlukla hızlı çoğalan hücrelerde görüldüğü için kemoterapi ve radyoterapinin sık görülen bir komplikasyonudur. Mukozal membranlar yüksek bir mitotik indekse sahiptir ve bu nedenle kemoterapi ve radyoterapinin yan etkilerine duyarlıdır (Epstein vd., 2012; Fauci vd., 2008).

Alfa-lipoik asit (ALA), endojen antioksidan sistemlerin aktivasyonu ve demir, çinko ve bakır gibi metal iyonlarının şelasyonu gibi antioksidan özelliklere sahiptir (Packer vd., 1996). Çalışmalar ALA'nın süperoksit, hidroksil, peroksil radikallerini temizleyerek antioksidan özelliklere sahip olduğunu bildirmiştir (Cai vd., 2013). ALA'nın farmakolojik etkileri öncelikle antioksidan aktivitesi ile ilişkilidir, ancak bunun yanında kardiyovasküler, bilişsel, yaşlanma karşıtı, detoksifiye edici, anti-enflamatuvar, anti-kanser ve nöro-koruyucu özellikleri de bilinmektedir (el Barky vd., 2017).

Kanser hastalarını 5-FU'nun neden olduğu gastrointestinal mukozit yan etkilerinden korumak için tedavi protokollerine entegre edilebilecek yardımcı ajanlar da faydalı olabilir. Bu nedenle, bu çalışma, 5-FU ile bir mukozit modelinin indüklendiği sıçanlarda ALA kullanımının biyolojik etkilerini belirlemeyi ve tedavi protokollerinde kullanım için potansiyel bir ajan adayı olarak hizmet edip edemeyeceğini tartışmayı amaçlamıştır.

BÖLÜM II

Kavramsal Temeller / Kuramsal Temeller ve İlgili Araştırmalar

Bu bölümde araştırma ile ilgili kavramsal açıklamalara, tanımlamalara ve araştırma ile ilgili literatürde geçen ve daha önce yapılmış olan araştırmalara ilişkin bilgilere yer verilmiştir.

Kanser

Kanserleşme, tümör oluşumunun kendisi için bir modeldir. Kötü huylu bir lezyonun büyümesinden önce, normal bir hücre soyu, sağlıklı bir organın mikro çevresinde pozitif olarak seçilen pro-tümörijenik genetik mutasyonları veya epimutasyonları edinebilir. Sonuç olarak, "mutant klon" olarak da adlandırılan mutant soyu, sonunda bir neoplazmaya ilerlemeye eğilimli olan büyük hücre yamaları veya alanları üretmek için büyüyebilir. Kanserli bir alan, kansere doğru evrimsel bir yolda ilerlediği düşünülen bir hücre grubudur (Braakhuis vd., 2003).

Dünyada Kanser

Kanser, günümüzde birçok ülkede önde gelen ölüm nedenlerinden biridir ve insanların artan yaşam beklentisinin önünde bulunan büyük bir engeldir. Bununla birlikte, kanserin diğer hastalıklara kıyasla artan önemi, kısmen birçok ülkede felç ve koroner kalp hastalığı ölüm oranlarındaki önemli düşüşlerden kaynaklanmaktadır (Bray vd., 2021). Genel olarak, kanserin prevalansı ve ölüm oranı tüm dünyada çarpıcı biçimde artmaktadır; bu da nüfus artışı ve yaşlanmanın yanı sıra çoğu sosyoekonomik gelişme ile bağlantılı olan önemli kanser risk etmenlerindeki yaygınlık ve dağılımındaki değişiklikleri yansıtır (Gersten & Wilmoth, 2002; Omran, 2005). İnsani Gelişme Endeksi (HDI), kanser küreselleşmesinin yararlı bir tahmincisidir (Bray vd., 2012) çünkü, ulusal zenginliğin yanı sıra eğitim ve yaşam beklentisi de dikkate alınıp değerlendirildiği zaman, ülkeler dört gelişmişlik derecesine göre sınıflandırılır; düşük, orta, yüksek ve çok yüksek. Bulaşıcı hastalıklar ve beslenmeyle ilgili bozukluklar, düşük HDI'ya sahip ülkelerde önde gelen ölüm nedenleri olmaya devam etse de 2030 yılına kadar bulaşıcı olmayan hastalıkların, özellikle kanserin bu hastalıkların yerini alması bekleniyor (Wagner & Brath, 2012). 2008'deki 127 milyon tanımlanmış kanser vaka sayılarının 2030'a kadar 222

milyona ulaşması beklenmektedir (Bray vd., 2012). Bu da risk faktörlerinin prevalansı ile ilişkilidir. Örneğin, düşük ve orta gelirli ülkelerde artan tütün içme prevalansı, önümüzdeki on yıllarda kanser yükü üzerinde önemli bir etkiye sahip olacaktır (Giovinio vd., 2012).

Kanserin Cinsiyetlere Göre Dağılımı

Erkeklerin yaşam boyu invaziv kanser tanısı alma riski (%40,1) kadınlara göre (%38,7) biraz daha yüksektir. Erkeklerde bu aşırı riskin nedenleri tam olarak bilinmemektedir, ancak bunun çevresel maruziyetler ve endojen hormonlardaki değişikliklerden ve bu etkiler arasındaki karmaşık etkileşimden kaynaklanması muhtemeldir. Son araştırmalara göre, immünolojik işlev ve yanıtındaki cinsiyet farklılıkları potansiyel olarak bir rol oynayabileceği işaret edilmektedir (S. L. Klein & Flanagan, 2016). Erişkin boyu, kalıtım ve çocuklukta beslenme de hem erkek hem de kadınlarda kanser insidansı ve ölümlerle bağlantılıdır (Wirén vd., 2014). Özellikle cinsiyet farkı yaşa göre değişir örneğin, erkeklerin çocuklukta (doğumdan 14 yaşına kadar) kadınlardan biraz daha fazla kanser insidansı vardır (100.000 nüfus başına %18,2'ye karşı %16,4) (Williams vd., 2019). Yetişkinlikte ise %77 oranında 20-49 yaş aralığında daha yüksektir. Genç kadınlarda ise meme kanseri prevalansının artması nedeniyle görülme sıklığı artmaktadır (Ward vd., 2019).

Kanserin Oluşumu

Kanser, hücresel DNA'daki bilgi hasar gördüğünde ortaya çıkan ve anormal gen ekspresyon modelleriyle sonuçlanan bir hastalıktır. Sonuç olarak, büyüme, hayatta kalma ve istila/invazyon gibi normal hücresel süreçleri kontrol eden normal genlere öncelik verilirken, bu etkileri engelleyen ve azaltan genler engellenir (Hanahan & Weinberg, 2011).

Kanser, bir organizmanın genleri ve çevresi arasındaki etkileşimleri içeren çok aşamalı ve çok faktörlü moleküler olayların bir sonucu olarak gelişir; bu süreç, karsinogenez olarak bilinir ve bazen tümörjenez veya onkogeneze olarak da isimlendirilir. Bu süreç, kontrolsüz hücre büyümesi ve hedonik homeostatik düzensizlik ile sonuçlanan sıralı mutasyon(lar) ve/veya epimutasyon(lar) içeren çok aşamalı bir süreçtir. Kansere neden olan mutasyonlar, hücre metabolizmasını değiştirir ve ilerleyici bir şekilde işlev görür. Büyüme kontrollerini, sınırsız ömürlerini, yakındaki hücrelerle iletişimlerini değiştirirler ve ardından bağıışıklık

sisteminden kaçma yeteneği kazanırlar. Özetle, genetik ve/veya epigenetik olarak hasarlıdırlar ancak kendi yapılarına göre bölünüp kontrolsüzce çoğalabilirler (Hong, 2018; Puneet vd., 2018).

Hücreler, çok hücreli hayvanlarda farklılaşarak yaygın hücre çeşitliliğe yol açsa da hücre büyümesini ve ölümünü düzenleyen temel faaliyetleri yürütmeye ortak ilkelerle çalışırlar. Kanser hücreleri, çok hücreli homeostaz için gerekli olan hücre içi birliği kontrol eden ilke ve normları takip etmezler. Sonuç olarak, kanser hücreleri çevre dokulara nüfuz etmek için uyum sağlamaya, çoğalmaya ve istilacı saldırganlıkları ile savunma sistemiyle savaşmaya çalışırlar. Hanahan ve Weinberg adlı bilim insanları, 2000 yılında kanser hücrelerinde (altı) genellikle kanser belirtileri olarak tespit edilen hücresel değişikliklerin zengin karmaşıklığını görselleştirmeye çalıştılar. O zamandan beri, kanser biyologları bu kavrama ek bir ivme kazandırdı ve evrim geçirdi. Kanser için kullanılan on farklı yardımcı öge vardır. Bunlar arasında (i) proliferatif sinyalin kalıcı olarak açılması, (ii) büyüme baskılayıcılardan kaçınma, (iii) ölümsüzlük/apoptoza direnç, (iv) sürekli replikasyon, (v) anjiyogenez indüksiyonu, (vi) istila ve metastaz, (vii) hücre metabolizmasının düzensizliği, (viii) bağışıklık saldırısını geçersiz kılma, (ix) genomik kararsızlık ve mutasyonlar ve (x) tümörü teşvik eden iltihaplanma ve bağışıklık sıralanır (Böttcher vd., 2020; Hanahan & Weinberg, 2011; Moses vd., 2018).

Kansere tipik olarak hücre döngüsünü düzenleyen bir veya daha fazla proteindeki bir kusur neden olur. Bazı durumlarda ise kusurlu gen kalıtsaldır. Bazı durumlarda, çevresel kanserojenlere karşı yanıt olarak mutasyonlar meydana gelir. Tüm bu bilgileri özetlemek gerekirse hem kalıtsal hem de çevresel faktörler bir arada bulunur ve kanser mutasyonlarının birikmesini gerektirir (Iranzo vd., 2018; Zhu vd., 2015). Hücrenin DNA'sı oksidatif stres veya ultraviyole radyasyon gibi çevresel faktörler tarafından hasar gördüğünde, onarım mekanizmaları devreye girer ve hasarı onarmaya çalışır. Onarım mekanizmaları hasarı yeterince onaramıyorsa hücre ölüm sinyalleri etkinleştirilir. Bununla birlikte, bu onarım mekanizmalarında oluşabilecek bir hata durumunda mutasyona uğramış hücreler çoğalabilir ve sonunda mutasyonlar biriktikçe kanserli bir tümör oluşturabilir (Goldar vd., 2015; Torgovnick & Schumacher, 2015). Kanser hücrelerinin en önemli ve güçlü özelliklerinden biri hücre ölüm sinyallerinin etkilerine karşı direnç göstermeleridir. Apoptoz, otofajik hücre ölümü ve nekroz programlanmış hücre ölümünün üç ana tipidir. Kanser hücrelerinin kaderini belirlemek için birlikte çalışabilirler (Jain vd., 2013).

Apoptoz kanser tedavisinde önemlidir, ancak önceki araştırmalar kanser hücrelerinde apoptozun nasıl indükleneceğine odaklanmıştır. Onkogenler ve tümör baskılayıcı genler, kanserin gelişimi ve ilerlemesinde rol oynayan iki tip gen grubudur. Onkogenler, tümör oluşumunu destekleyen proteinleri kodlayan genlerdir. Tümör baskılayıcı genler ise tümör büyümesini engeller. Tümör protein p53 (p53), hücre döngüsü kontrolü ve apoptoz indüksiyonunda yer alan bir tümör baskılayıcı gendir. En önemli onkogenler K-RAS (Kirsten rat sarcoma virüs), B-RAF (B-Raf proto-onkogen) ve c-MYC'dir (MYC proto-onkogen) (Croce, 2008; Zhao vd., 2012).

Hücre Döngüleri

Tüm yaşam formlarının anatomik ve fizyolojik birimi hücre olarak tanımlanır. Hücre, çok hücreli organizmalar için biyolojik topluluğun birimidir. Hücreler, fonksiyonel organizasyon, metabolizma, homeostaz, büyüme ve gelişme, üreme, genetik bilgi aktarımı, çevresel değişikliklere tepki ve evrim yoluyla adaptasyon dahil olmak üzere canlı organizmaların tüm özelliklerini yerine getirir. Hücre döngüsü, hücre doğumu, büyümesi ve gelişmesi ve üreme sırasında meydana gelen tüm aktiviteleri kapsar. İnterfaz (G1, S ve G2) evrelerinin yanı sıra hücre bölünmesi/mitotik (profaz, metafaz, anafaz ve telofaz) evrelerinden oluşur. Hücre döngüsünün nihai hedefi, DNA replikasyonunda katı kesinlik ve sonraki nesil hücrelerde genetik materyalin simetrik bölünmesidir. Süreç, DNA replikasyonu (interfazın S fazında), kromatin yoğunlaşması, anafaz kromozomal yükseliş için iğ oluşumu, nükleer membran bozulması ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesi ile sonuçlanan moleküler ve yapısal aktiviteleri kapsar. Hücre döngüsünün ideal çerçevesine göre meydana gelen moleküler ve yapısal olayların uygunluğunu, uyumunu ve itaatini kontrol etmek için hücre döngüsü süreci boyunca düzenleyici kontrol noktaları mevcuttur. Kontrol noktalarında tespit edilen kusurlar, bir onarım mekanizması (DNA onarımı), hücre tutuklama (yaşlanma) yolları, nekroptoz ve apoptoz dahil olmak üzere çeşitli alternatif kaderlere yol açan mekanizmaları harekete geçirir. Tek hücreli canlılarda çoğalan bir hücre bu mekanizmalardan herhangi birini etkinleştiremediğinde üreme yeteneği azalır, çok hücreli organizmalarda ise kontrolsüz hücre gelişimi kansere neden olabilir. Hücre döngüsü, iki temel tip kontrol mekanizması tarafından yönetilir. Birincisi hücre dışıdır ve kontrol noktaları tarafından kontrol edilen sinyal yollarını ve hücre içi süreçleri içerir

(Barnum & O'Connell, 2014; Elledge, 1996; Kastan & Bartek, 2004; Lukas vd., 2004).

Bu noktaya kadar, kanseri teşvik eden genler üzerine yapılan çok sayıda çalışmada 55'i onkogen ve 70'i tümör baskılayıcı gen olarak sınıflandırılan yaklaşık 125 gen tanımlanmıştır. Ortalama 3-6 mutasyon sayısının yaygın yetişkin tümörlerinde tümör oluşumunu teşvik ettiği düşünülse de gen aktivitesini değiştirdiği tahmin edilen eş anlamlı olmayan mutasyonların toplam sayısı, çoğu katı tümörde 40 ila 100 arasındadır (Vogelstein vd., 2013).

Sonuç olarak, tümör progresyonu ve dallanmış klonal evrim sırasında toplanan çok sayıda “yolcu” mutasyon arasında kanseri teşvik eden mutasyonlarla ilgili çok az bilgi, bir tümörün genetik temelini karmaşıktır (Vogelstein vd., 2013). Bununla birlikte, kanser gelişiminde “epigenetik süreçlerin” veya çekirdek DNA dizisinde bir değişiklik olmaksızın değişen gen ekspresyonunun önemi ortaya çıkmıştır. Normal menş hücreleri ile karşılaştırıldığında, neoplastik hücreler artmış veya azalmış DNA metilasyonundan değişen histon modifikasyon modellerine kadar önemli epigenetik anormallikler sergilerler (Jones & Baylin, 2002; Jones & Laird, 1999). Epigenetik değişiklikler, karsinogenezin erken evrelerinde malignite öncesi hücrelerin malign hücrelere ilerlemesinde önemli rol oynar. Kolon, akciğer ve prostat gibi tümörlerdeki birincil genetik değişiklikler, tümör büyümesine, ilerlemesine ve nihayetinde maligniteye katkıda bulunur. Daha önce belirtilen konuya uygun olarak, temel epigenetik değişiklikler bu klonların daha hızlı ilerlemesine neden olur (Baylin & Ohm, 2006).

Gastrointestinal Sistem

Ağız ile başlayıp anüs ile son bulan gastrointestinal sistem vücuda alınan besinlerin sindirilmesi, absorbe edilmesi ve atık maddelerin dışarı atılması gibi son derece önemli görevleri üstlenir. Bu sistemi pankreas ve karaciğer de desteklemektedir. Dolayısıyla ile bu sistemin bileşenlerinden bir veya birkaçının hasar görmesi durumu canlı sağlığı açısından son derece önemlidir.

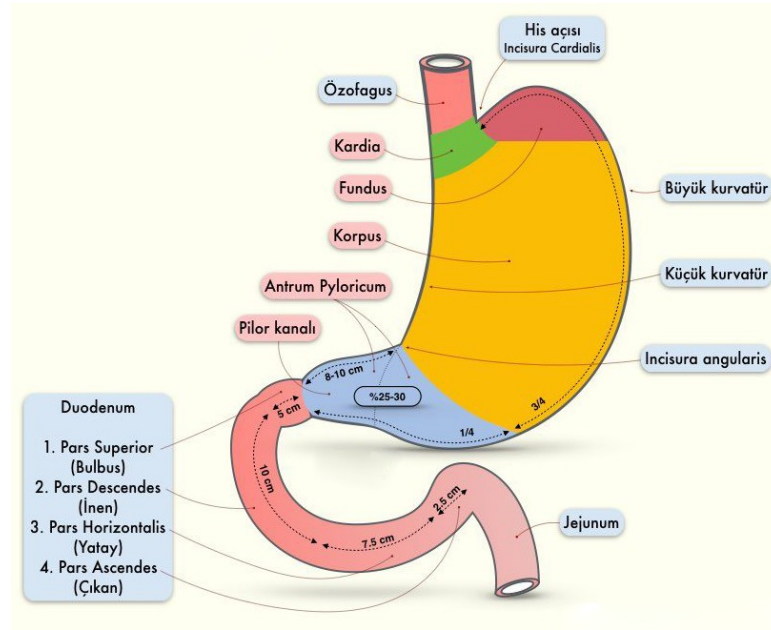
Gastrointestinal Sindirimin Başlaması

Gıda sindirimi ağızda çiğneme ve salyanın tamamlayıcı oral mekanizmalar olarak hizmet etmesiyle başlar ve midede devam eder (Hiemae, 2004). Mideyi yüksek asidik içeriğinden korumak ve içeriğinin sindirimi desteklemek için yeterli

enzimatik aktiviteye sahip olmasını sağlamak için mukus ve sindirim enzimleri kontrollü bir şekilde salınırken, optimal sindirim için yiyecekler midede yaklaşık bir saat kalmalıdır (Schubert & Peura, 2008).

Şekil 1.

İnsanlarda Midenin Sınırları ve Bölgeleri (Tarhan, 2023)



Proksimal mide (fundus ve gövde) öncelikle sindirilmemiş materyal için bir depolama görevi görürken, distal mide (antrum) katı gıdaları öğütücü, karıştırıcı ve elek olarak işlev görür. Antrum, itme hareketleriyle katıların mideden boşaltılması için bir pompa görevi görerek küçük parçacıkların pilorik sfinkterden duodenuma akmasına izin verir (Kong & Singh, 2008).

İnce ve Kalın Bağırsaklar

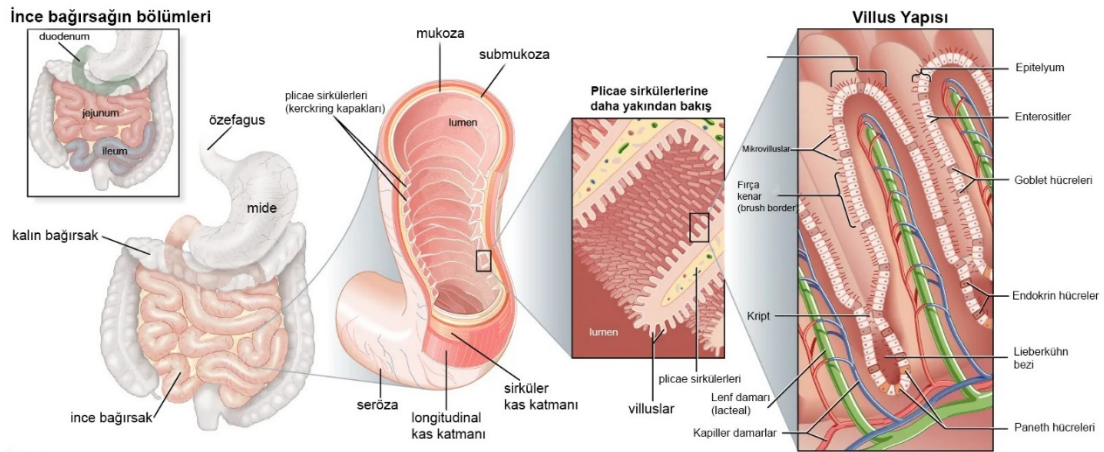
Bağırsak, yapısal ve işlevsel olarak farklılık gösteren ince bağırsak ve kalın bağırsak olmak üzere iki bölüme ayrılır. İnce bağırsak, öncelikle gıda sindirimi ve emiliminden sorumludur, oysa kalın bağırsak, nihai su emilimine ve atık bertarafına da yardımcı olur. Diğer sinyal yollarının yanı sıra, Wnt ve Notch, bağırsağın kök hücre stabilitesine yardımcı olan iyi tanımlanmış epitel hiyerarşisini düzenler. Bu yollar reseptörler, ligandlar ve transkripsiyonel kontrol gerektirdiğinden, ince ve

kalın bağırsak arasında görülen farklılıkların içsel mi yoksa dışsal mekanizmaların mı sonucu olduğu açık değildir (Fre vd., 2005; Pinto & Clevers, 2005).

İnce bağırsak, gerekli besinleri emme ile toksik maddelerin girmesini önleme ve antijenlere oral tolerans oluşturma arasında kesin bir denge kurmalıdır. Kalın bağırsağın 1,5 metresinin aksine, kabaca 6 m uzunluğunda olan gastrointestinal sistemin en uzun kısmıdır. İnce bağırsak, lümene uzanan parmak benzeri çıkıntılar olan villuslar ve her ikisi de sindirim açısından aktif epitelin alanını artıran kriptalar ile ayırt edilir. Ayrıca, mikrovilli bu epitel hücrelerinin yüzeyini kaplayarak sindirim için uygun alanı ve antijen maruziyetini artırır (Mowat & Agace, 2014).

Şekil 2.

İnce Bağırsak (The Editors of Encyclopaedia Britannica, 2022)

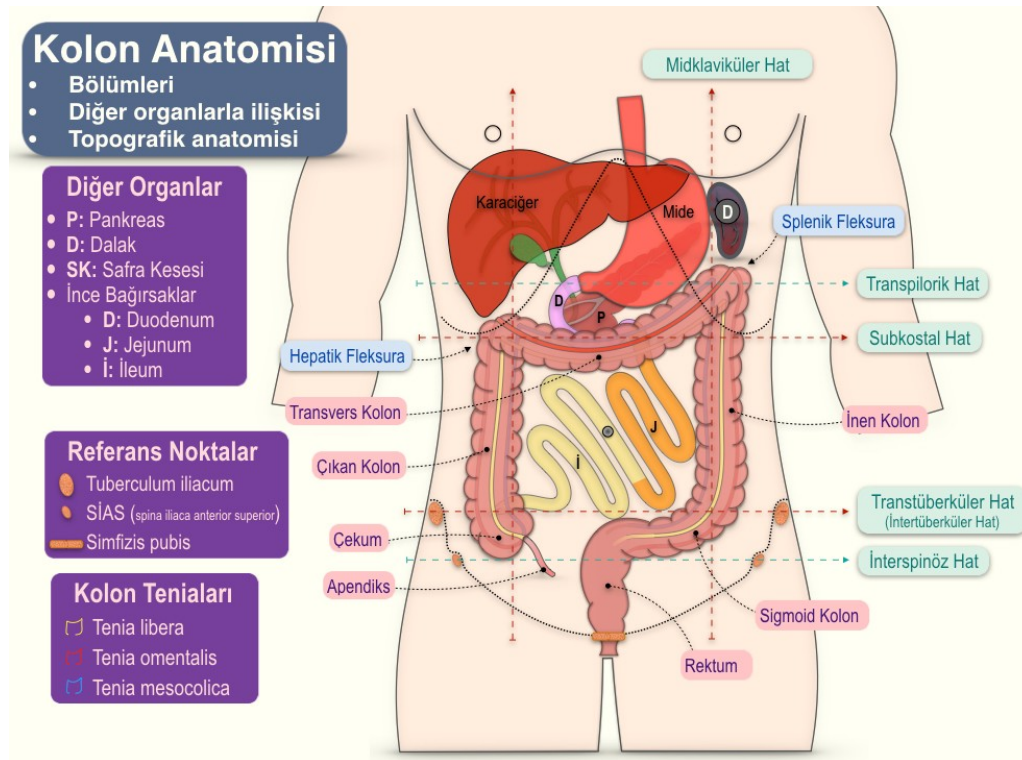


Hem ince hem de kalın bağırsaklar karşılaştırılabilir savunma sistemlerine sahiptir. İnce bağırsak, paneth hücreleri (antimikrobiyal kimyasallar üreten) ile karakterize edilirken, mukus üreten hücrelerin sayısı bağırsakta giderek artar. Bağırsakla ilişkili lenfoid doku, yapısal yapılar (ince bağırsakta makroskopik peyer yamaları ve kalın bağırsakta mikroskobik kolonik yamalar) ve bazal membranın üstünde ve altında yaygın olarak tahsis edilmiş bağışıklık hücreleri şeklinde bağırsak boyunca bulunur. Çeşitli luminal materyale maruz kaldıkları için, proksimal ve distal segmentlerde mukozal immünoisitlerin oranı ve tipi farklıdır. Vücutta en fazla mikrop içerdiğinden, ince bağırsak temel olarak diyet bileşenlerine karşı tolerojenik tepkiler

üretirken, distal bölümler çoğunlukla lümen mikroorganizmalarına karşı bağışıklık oluşturur (Mowat & Agace, 2014).

Şekil 3.

Kalın Bağırsak Anatomisi (Tarhan, 2023)



Bağırsak Epitel Geçirgenliğinin Düzenlenmesi

Bağırsak epitel hücreleri, hücreden hücreye yapışma proteinleri ile bağlanan hücre zarları ile polarize bir tek tabaka oluşturur. Küçük moleküller (600 Da), hücreler arası boşluklar (paraselüler yol) arasında epitel boyunca taşınırken, makromoleküller, epitel hücreleri tarafından, klatrin aracılı endositoz, fagositoz, caveolar içeren seçici olmayan veya reseptör aracılı taşıma (trans selüler yol) yoluyla taşınır (Camilieri vd., 2012).

İç (immünojenik, nörolojik ve endokrin sistemler aracılığıyla) ve dış (ilaçlar, diyet, enfeksiyonlar ve mikrobiyota) değişkenler epitelyal astar sıklığını etkiler. Hücreden hücreye etkileşim ve sitokin sinyalleşmesi yoluyla, epitel hücreleri sürekli olarak mukozal bağışıklık sistemi ile iletişim halindedir. Bu iletişim, oral toleransın gelişimi, bağırsak iltihabının oluşumu ve homeostazda epitelyal proliferasyonun ve hücre ölümünün düzenlenmesi için gereklidir (Wittkopf vd., 2014). İmmün hücreler

arasında yer alan mast hücreleri, histamin, triptaz, kimaz ve prostaglandinler gibi biyoaktif araçları serbest bırakarak bağırsak bariyerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Wouters vd., 2016).

Bu kimyasallar sıkı bağlantı proteinlerini etkiler, epitelyal salgı yanıtlarını tetikler ve peristalsizi artırır. Esas olarak lenfositler ve makrofajlar (interlökin (IL)-4, IL-12, tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interferon-gamma (IFN- γ)) tarafından üretilen diğer çözünür maddeler epitelyal geçirgenliği desteklerken, diğer sitokinler (IL-10) ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) sıkı bağlantı proteinlerinin bozulmasına karşı korur (Piche, 2014). Farklı nörotransmitterler ve nöropeptidler ya düz kas ve enterositler üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir ya da immünolojik tepkileri aktive ederek dolaylı bir etkiye sahiptirler. Stres, öncelikle bariyer geçirgenliğini artırarak bağırsak üzerinde bir etkiye sahiptir (Geeraerts vd., 2009).

Kemoterapi

Kimyasal kanser tedavisi birkaç yüzyıl öncesine dayansa da kanser için kemoterapinin ilk başarılı ve kayıtlı sistemik kullanımı 1940'lardan itibaren mümkün olmaya başladı. İlk etkili tedavi yaklaşımı, savaş zamanı deneyimlerine dayanarak, nitrojen hardalının lenfatik sistem üzerindeki zararlı etkileriyle lenfoma hastalarını tedavi etmek için kullanıldı. Tümör, başlangıçta olumlu bir tedavi sonucu olarak kayda değer bir antitümör etkiden sonra hızla geri dönse de bu deneyim, malign tümörler için kemoterapinin başlamasına ve gelecek yıllar için önemli bir işaret gibi görünüyordu (Gilman, 1963). Günümüzde kemoterapi, belirli ilaçları kalıcı olarak kullanarak kanseri iyileştirmenin veya azaltmanın birincil yoludur (Gibson & Keefe, 2006).

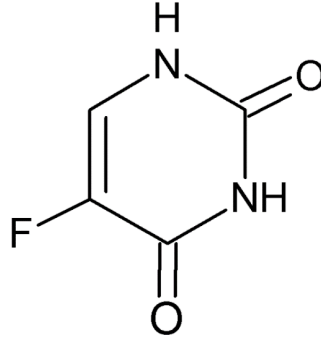
Kemoterapötik bir ilaç olarak 5-Florourasil (5-FU)

5-Florourasil (5-FU), yaygın olarak kullanılan bir antikanser ilacıdır. İlk olarak 1957 yılında kullanılmış olup kolon kanseri tedavisinde önemli rol oynamıştır. Bunun yanında, meme ve baş-boyun kanseri gibi diğer kanser tiplerinde kullanılmaktadır (Grem, 2000). 5-FU, DNA ve RNA'nın pirimidin baz moleküllerine benzer bir yapıya sahip heterosiklik aromatik bir organik bileşiktir; 5-FU hidrojen yerine C-5 konumunda bir flor atomu olan bir urasil analogudur (Rutman vd., 1954). Saf 5-FU molekülünün asimetrik üniteye dört molekül ile kristalleştiği ve molekülün tek kristal yapıya sahip olduğu ve molekülün hidrojen bağlı tabaka yapısını

benimsediği daha önceki literatürden anlaşılmaktadır (Hulme & Tocher, 2006). Tahminlere göre yılda yaklaşık 2 milyon hasta 5-FU ile tedavi edilmektedir (Nies vd., 2015).

Şekil 4.

5-FU Molekül Yapısı (Šuleková et al., 2019)



5-FU'nun Etki Mekanizması ve Yan Etkileri. 5-FU'nun sitotoksik mekanizması, timidilat sentazın (TS) inhibisyonu ve metabolitlerinin RNA ve DNA'ya dahil edilmesi yoluyla apoptozun indüklenmesi olarak açıklanabilir (Longley vd., 2003). Ancak önemli bir de yan etkisi bulunmaktadır. Bu, 5-FU ile indüklenen bağırsak mukozitidir ve genel olarak kemoterapinin en sık görülen yan etkileri arasındadır. Aslında, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi de dahil olmak üzere 5-FU kaynaklı oksidatif stres (Ribeiro vd., 2016) ve ilişkili enflamasyon mukozit için risk faktörleridir (Circu & Aw, 2011). 5-FU, bir anti-metabolit antikanser ilacıdır ve DNA/RNA sentezinin inhibisyonu, apoptoz indüksiyonunda anahtar faktör olarak kabul edilir. Son zamanlarda 5-FU ile indüklenen ROS üretiminin apoptoza yol açtığı bildirilmiştir (Yasuda vd., 2012). ROS, sitozolde glikoliz, mitokondride sitrik asit döngüsü ve oksidatif fosforilasyon gibi oksidatif süreçler sırasında üretilir. Özellikle mitokondriyal redoks reaksiyonları, tümör hücreleri de dahil olmak üzere çoğu hücrede ROS'un ana kaynağıdır (Xue vd., 2020). ROS vücutta küçük miktarlarda üretilir ve hücre regülasyonu, homeostatik bakım ve sinyal iletimi, gen ekspresyonu ve reseptör aktivasyonu gibi fonksiyonlarda yer alır (Kumar vd., 2015). Bununla birlikte, aşırı ROS üretimi, enerji metabolizması kaybı, hücre sinyallemesinin bozulması, gen mutasyonları, tümörjenez, bağışıklık aktivasyonu ve iltihaplanma gibi hücre işlev bozukluğuna neden olur (Kirtonia vd., 2020; Rani vd., 2016).

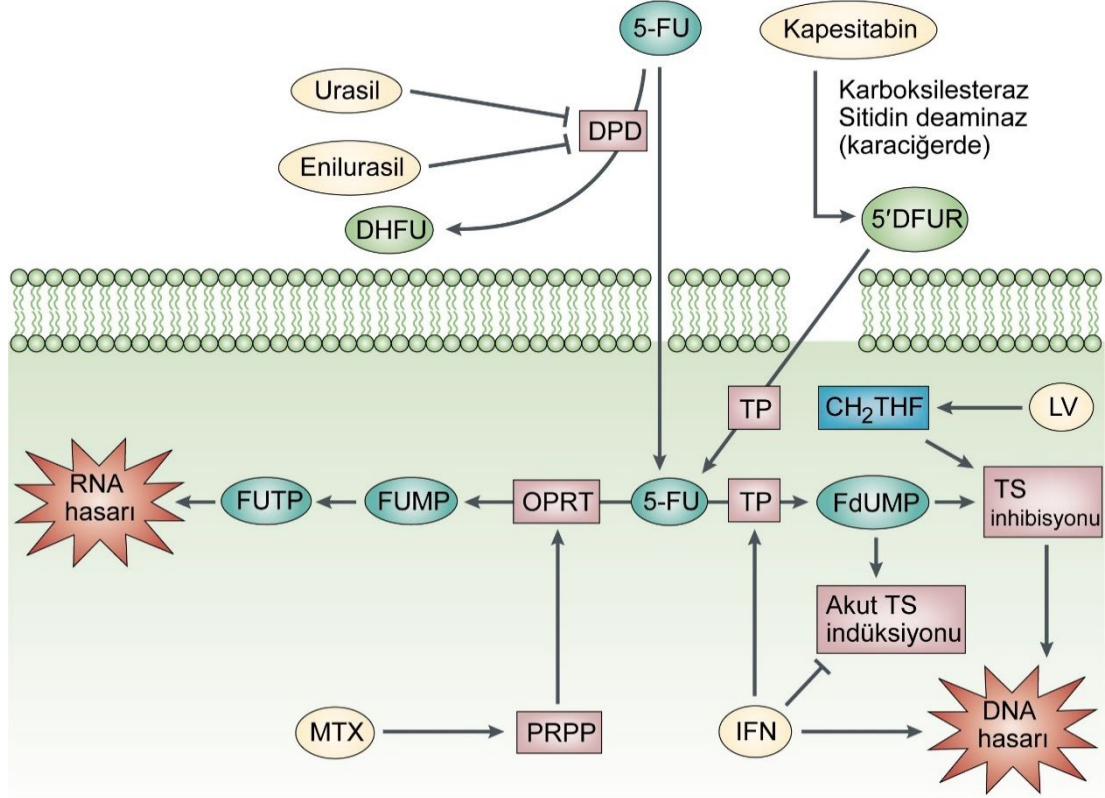
5-FU ile kemoterapinin en yaygın yan etkileri ishal, bulantı, oral ve bağırsak mukoziti, kusma, ağız ülseri, iştahsızlık, ışığa duyarlılık, metalik tat, nötropeni ve trombositopenidir (Tanaka vd., 2005). 5-FU, mukozanın gastrointestinal enflamasyonu ve sonuçta ortaya çıkan ülserler dahil olmak üzere yüksek çoğalma hücrelerini hedefler (Cool vd., 2005). Bağırsak mukoziti, genellikle kemoterapi hastalarının %20-40'ında meydana gelen, villus uzunluğunda bir azalma ve bozulmuş kript hücre homeostazıyla karakterizedir (Gibson & Keefe, 2006).

Bağırsak mukoziti kemoterapi sürecinde ilaç dozunu sınırlar ve hastanın beslenmesini etkileyebilir (Hamouda vd., 2017). Bağırsak mukoza hücrelerinde apoptozun indüklenmesi ve bağırsak mukozasının dejenerasyonu, ek maliyetlere yol açabilen ve hastaların dozunu ve tedavisini azaltabilen, artan morbidite ve mortalite ile sonuçlanan ciddi sonuçlara yol açar (Prisciandaro vd., 2011). Şu anda, 5-FU'nun neden olduğu bağırsak mukozitini iyileştirmek için diyare önleyici ilaçlar, antibiyotikler ve mukozal koruyucular dışında tatmin edici ve etkili bir tedavi stratejisi bulunmamaktadır (Hamouda vd., 2017). Bağırsak mukoziti, kemoterapötik rejimi durdurmanın, dozlama programını değiştirmenin ve böylece kanser hastalarında daha yüksek mortaliteye katkıda bulunmanın bir göstergesidir (Naidu vd., 2004).

5-Fluorourasilin (5-FU) antikanser aktivitesini arttırmak için araştırılan çeşitli stratejiler bulunmaktadır. Lökovorin, 5,10-metilen tetrahidrofolatın hücre içi havuzunu artırır, böylece florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP) tarafından timidilat sentaz (TS) inhibisyonunu artırır. Enilurasil ve urasil, 5-FU'nun dihidropirimidin dehidrojenaz (DPD) aracılı bozulmasını inhibe eder. Metotreksatın (MTX) fosforibozil pirofosfat (PRPP) düzeylerini artırarak 5-FU aktivasyonunu arttırdığı düşünülmektedir. İnterferonların (IFN'lerin) timidin fosforilaz (TP) aktivitesini arttırdığı, 5-FU tedavisinin neden olduğu akut TS indüksiyonunu ortadan kaldırdığı ve 5-FU aracılı DNA hasarını arttırdığı bildirilmiştir. Kapesitabin, karboksilesteraz ve sitidin deaminazın ardışık etkisiyle karaciğerde 5'-deoksi 5-fluorouridine (5'DFUR) dönüştürülen bir 5-FU ön ilaçtır. 5'DFUR, TP tarafından 5-FU'ya dönüştürülür (Şekil 5) (Longley vd., 2003).

Şekil 5.

5-Florourasil Aktivitesinin Modülasyonu (Longley et al., 2003).



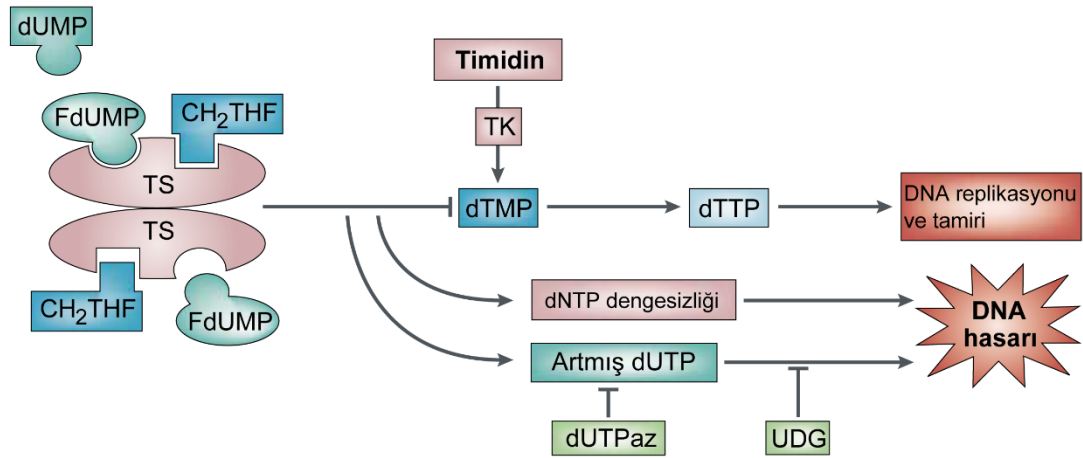
Florlu bir pirimidin analogu olan 5-FU, kemoterapötik etkisini DNA sentezinin inhibisyonu yoluyla gösterir. Bununla birlikte, bağırsak epitelini bozarak ve hızla çoğalan bağırsak mukozal hücrelerine karşı ayrım gözetmeyen etkisi ile bağırsak mukozitini indükleyebilir (Soares vd., 2008; Wright vd., 2009). 5-FU ile indüklenen bağırsak mukozitinin tam patogenezi tam olarak anlaşılmasa da ana aşamalar iyi karakterize edilmiştir. Başlangıçta, epitel astarında minimum bozulma ile ROS üretimi ile karakterize edilen, DNA zinciri kırılması meydana geldiğinde enflamatuar bir faz vardır. İkinci aşama, aşırı bir pro-enflamatuar sitokin patlaması (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ) ve bir transkripsiyon faktörünün (NF- κ B) aktivasyonunu içerir. Bu, hücre proliferasyonunun sona erdiği ve hücre ölümünün başladığı, hücre nekrozu ve ülserasyondan oluşan ülseratif bir faza ilerleyen epitelyal faza, ardından hasarlı epitel astarının onarımını içeren bir iyileşme fazına yol açar (Basile vd., 2019; Blijlevens vd., 2000). Bu süreç, mukozal hücreleri ağır bir şekilde rahatsız eder ve apoptozu kolaylaştırarak ve oksidatif ve pro-enflamatuar

moleküllerin hücrel yükünü artırarak bağırsak villi-kript atrofisine ve hasara neden olur (Atiq vd., 2019).

Timidilat sentaz (TS), metil verici olarak 5,10-metilen tetrahidrofolat (CH_2THF) kullanarak deoksiüridin monofosfatın (dUMP) deoksitimidin monofosfata (dTMP) dönüşümünü katalize eder. 5-florourasil (5-FU) aktif metaboliti florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP), TS'nin nükleotit bağlama bölgesine bağlanır ve TS ve CH_2THF ile kararlı bir üçlü kompleks oluşturarak dUMP'nin nükleotid bağlama bölgesine erişimini bloke eder ve dTMP sentezini inhibe eder. Bu, her ikisi de DNA hasarına neden olan deoksinükleotit (dNTP) havuzu dengesizliklerine ve artan deoksiüridin trifosfat (dUTP) seviyelerine neden olur. dUTP'nin neden olduğu DNA hasarının boyutu, pirofosfataz dUTPaz ve urasil-DNA glikosilaz (UDG) seviyelerine bağlıdır. dTMP, timidin kinazın (TK) etkisiyle timidin'den kurtarılabilir (Şekil 6).

Şekil 6.

5-FU ile Timidilat Sentaz İnhibisyonunun Mekanizması Longley vd., 2003).



Diğer antikanser ilaç türleri ile karşılaştırıldığında, sitotoksik antikanser ilaçları, esas olarak sistemik biyolojik dağılımlarının, özgüllük eksikliğinden kaynaklanan ve ardından ilacın hem sağlıklı hem de hedef hücelere saldırması tarafından tetiklenen yan etkilerden kaynaklanan problemlere neden olur. Bununla birlikte ilaçlar tarafından sergilenen bu istenmeyen özellikler şu şekilde özetlenebilir: i) birçok ilacın hidrofobik karakteri, sulu ortamlarda çökelmelerini teşvik eder; ii) hedef dokular için zayıf seçiciliğe sahiptirler; iii) hassas hedef olmayan dokularda

ciddi yan etkilerle birlikte geniş bir vücut hacminde biyolojik olarak dağılırlar; iv) kazayla ekstrevasyonları sağlıklı dokulara zarar verebilir; v) moleküler ilaçlar hızla temizlenir; vi) in vivo degradasyonları, yüksek doz uygulamasının gerekliliğini ima eder; ve son olarak, vii) ilaç direncini indüklenme duyarlılıkları (Durán vd., 2008; Wong vd., 2007).

Oral mukoza kemoterapötik ilaçlara maruz kaldığında, esas olarak oksidatif stresin oluşması nedeniyle DNA hasarı ve hücre ölümü meydana gelir (Şekil 7). Çeşitli çalışmalar, serbest radikaller tarafından üretilen OS'yi sınırlayabilen ilaçların oral mukozal ülserleri azaltabileceğini ve hatta önleyebileceğini göstermektedir. Bu maddeler antioksidanlar olarak bilinir ve ROS'ların oluşumunu engelleyerek veya vücuttan atarak nötralize ederek çalışırlar. İşlevleri, sağlıklı doku hücrelerini serbest radikallerin oksidatif etkisinden korumaktır. Bağırsak bazal kök hücrelerine doğrudan yıkıma ek olarak, 5-FU ile indüklenen bağırsak mukoziti, ROS oluşumu, immün hücre infiltrasyonu ve pro-enflamatuar sitokin aşırı üretimi gibi bir dizi karmaşık biyolojik olaydan kaynaklanır (Al-Dasooqi vd., 2013; Sonis, 2010a, 2011; Sonis & Villa, 2018; Villa & Sonis, 2016; Yuan & Sonis, 2014).

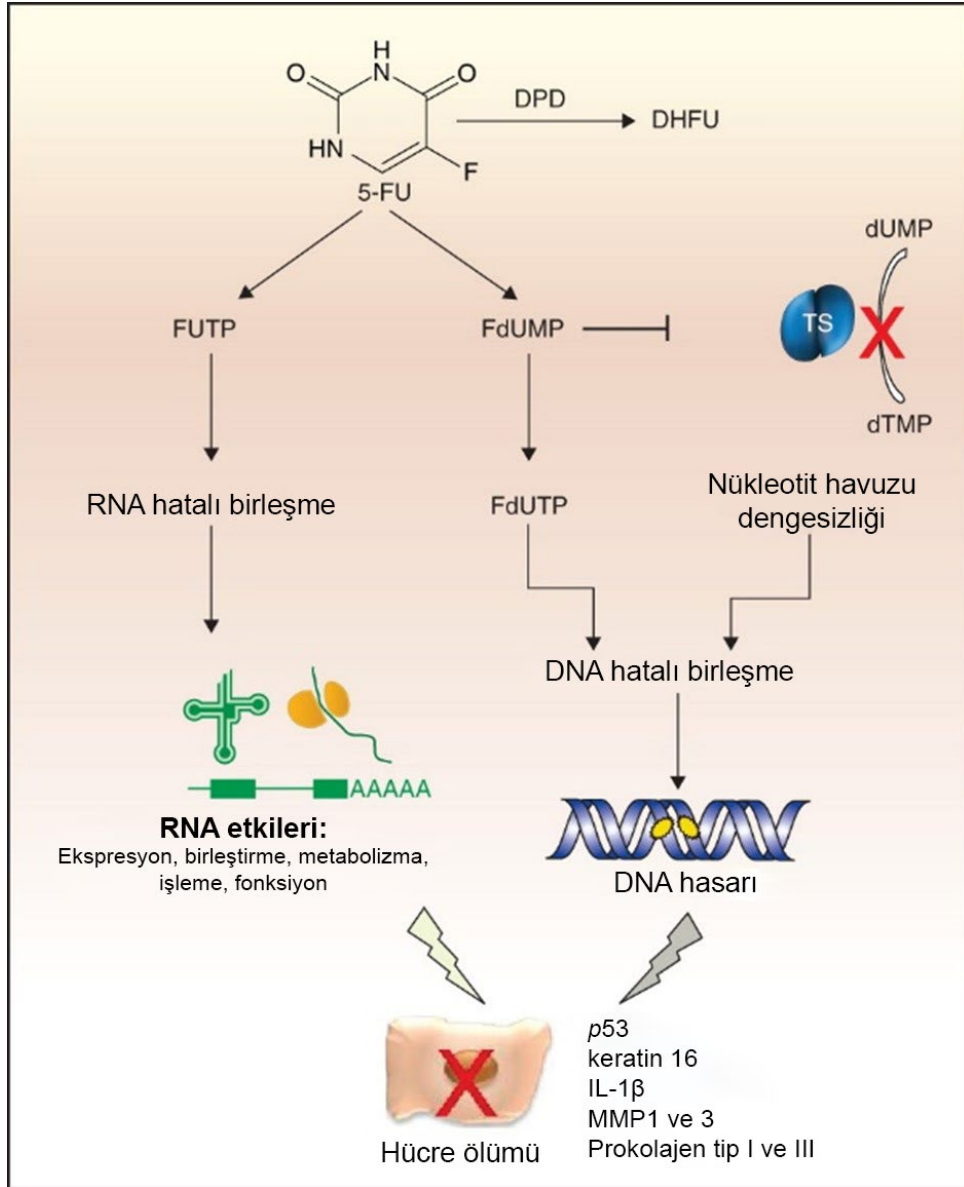
5-FU'nun Kullanımı. Gastrointestinal sistem, baş-boyun ve diğer anatomik bölgeler dahil olmak üzere çok sayıda katı tümörün tedavisinde sıklıkla kullanılır. 5-FU tedavisi, gastrointestinal mukozit dahil olmak üzere çok çeşitli yan etkilerle neden olur ve oral mukozit oluşumu ile en büyük bağlantısı olan kemoterapötik ilaçlardan biridir (Al-Dasooqi vd., 2013; Cuba vd., 2020; Focaccetti vd., 2015; Lalla vd., 2014; Rtibi vd., 2017).

Eşsiz yapısı nedeniyle 5-FU, nükleozit metabolizmasına müdahale eder ve daha sonra RNA ve DNA'ya dahil edilir ve böylelikle sitotoksiteye neden olur ve hücre ölümü ile sonuçlanır (Noordhuis vd., 2004; Thomas & Zalcborg, 1998). 5-FU anti-metabolit ilacının sitotoksik etkileri için, timidilat sentazın inhibisyonu, DNA'ya dahil edilmesi ve son olarak apoptozun aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar önerilmiştir (Wyatt & Wilson, 2009).

Şekil 7.

5-Florourasil (5-FU) Moleküler Mekanizmaları

(DHFU, dihidroflorourasil; DPD, dihidropirimidin dehidrojenaz; dTMP, deoksitimidin monofosfat; dUMP, deoksiüridin monofosfat; FdUMP, florodeoksiüridin monofosfat; FdUTP, florodeoksiüridin trifosfat; FUTP, floroüridin trifosfat; metalloproteinazitimididen FUTP, floroüridin trifosfat) (Ceilley, 2012)

**Mukozit**

Mukozit, mukozanın epitel hücrelerinde kemoterapi ve radyoterapinin neden olduğu toksisite ve hücre proliferasyonu ve ölüm arasındaki dengeyi bozan, daha ince bir enflamasyonlu epitel ve ülserlerin varlığına neden olan miyelosupresyon ile ilişkilidir. Bu, oral mukozanın koruyucu işlevselliğini bozarak hastada acı ve

rahatsızlığa neden olur ve nihai olarak da hastanın hayat kalitesini ve sağkalımını olumsuz etkiler (Vanhoecke vd., 2015).

5-FU, sıklıkla bağırsak mukozitine neden olmasına rağmen, kolorektal, pankreas ve meme tümörleri dahil olmak üzere çeşitli maligniteleri tedavi etmek için kullanılır. 5-FU'nun tipik bir toksik yan etkisi, villus uzunluğunda bir azalma ve kript hücre homeostazının bozulması ile işaretlenen bağırsak mukozitidir (T. Zhang vd., 2017). Bu olumsuz etki, şiddetli diyare, emilim bozukluğu, morfolojik mukozal hasar ve ciddi enfeksiyona neden olarak 5-FU'nun kemoterapi olarak güvenliğini ve klinik uygulanabilirliğini sınırlamaktadır. Gerçekten de çoğunlukla apoptozdaki artış ve proliferasyondaki azalma nedeniyle, kemoterapiyi takiben ince bağırsakta villus kütleşmesi ve hasarlı kriptler sıklıkla gözlenir (H. L. Li vd., 2017). Bağırsak hasarına yanıt olarak, enflamasyonun inhibisyonu ve mukozanın etkili iyileşme kapasiteleri, homeostazı sürdürmek için gereklidir. Hem hayvan modellerinde hem de klinik deneylerde, mukozal onarım kapasitesi arttığında bağırsak mukozitinin şiddetini azalttığı tespit edilmiştir (de Koning vd., 2006; Logan, Gibson, vd., 2007).

Bağırsak epiteli, en büyük ve en temel bariyeri oluşturan tek hücreli bir tabakadır, epitel astar boyunca besin emilimine yardımcı olurken aynı zamanda dış çevreye karşı fiziksel bir bariyer görevi görür (Groschwitz & Hogan, 2009). Lüminal içerikle temas halinde yüzey alanını önemli ölçüde artıran parmak benzeri çıkıntılar olan villuslar, ince bağırsak boyunca emilimi artırır (Bowen vd., 2006). Bağırsak bariyeri, lümen içeriğinin hücre içinden seçici geçişine izin veren, yan sınırlardaki sıkı bağlantılarla birbirine bağlanan epitel hücreleri tarafından korunur (Bowen vd., 2006). Kriptler, bağırsak boyunca epitel bütünlüğünü korumak için gerekli olan proliferatif birimleri içeren villus tabanındaki şişe benzeri yapılardır (Bowen vd., 2006). Ek olarak, bağırsak kısılması hem deneysel kolit modelinde hem de klinik kolit modelinde gösterilen bir durumdur ve kemoterapiye bağlı mukozit bağırsak hasarını veya enflamasyonunu gösterir (Cool vd., 2005). 5-FU ile indüklenen mukozitin bağırsak yapısı üzerindeki etkisi sıklıkla azalmış kript uzunluğu, villus kütleşmesi ve füzyon, enterosit hiperplazisi ve artmış apoptoz ile karakterize edilir (Cinausero vd., 2017).

5-FU verilmek suretiyle sıçanlarda gastrointestinal sistem mukoziti indüklenebilir ve bu da hastalarda karın ağrısı, şişkinlik, diyare, hematokezya veya gastrointestinal sistem enfeksiyonu gibi olumsuz etkilere neden olabilir. Apoptoz, hipoproliferasyon ve enflamasyon mukozal hasara katkıda bulunur (Logan, vd.,

2007). Mukozit insidansı, terapötik faktörlerin protokollerine göre değişir. Sonuç olarak kemoterapi ile radyoterapiyi ilişkilendiren hastalarda görülme sıklığının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca baş ve boyun tümörü için antikanser tedavisi gören kişilerde %100'e varan yüksek bir yüzdeye ulaşır (Villa & Sonis, 2015).

5-FU, temel biyokimyasal süreçlere müdahale edebilen bir anti-metabolit anti-kanser ilacıdır. Genellikle hücre büyümesinin S fazında hücre ölümüne neden olur. Birincil etki mekanizması, dTTP havuzunun tükenmesi ve ardından DNA sentezi ile sonuçlanan timidilat sentez inhibisyonudur (Yin vd., 2018).

Kanser tedavisi sırasında, mukoziti olan hastalar, enflamasyonu olmayanlara göre iki kat daha fazla bakteri ve mantar enfeksiyonu gösterebilir, bu da sepsisten ölüm riskini büyük ölçüde artırır. Bu nedenle, iyi bir kanser prognozu için mukozitin önlenmesi esastır. Mukozitin mevcut klinik yönetimi büyük ölçüde ağrı kesici, beslenme ayarlaması ve toksisitenin şiddetini önlemek veya azaltmak ve ilişkili semptomları en aza indirmek için iyi ağız hijyeni sağlamak gibi palyatif önlemlere odaklanmıştır (Sonis, 2004, 2007, 2010).

Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), anormal ekspresyonları patolojik doku yeniden şekillenmesi, artrit, kanser ve iltihaplanma dahil olmak üzere birçok bozukluğa katkıda bulunan en az 23 farklı Zn^{2+} içeren endopeptidazdan oluşan bir ailedir (Page-McCaw vd., 2007). MMP'ler, transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel seviyelerde ve ayrıca doku inhibitörleri (TIMP'ler) ve dolaşımdaki akut faz reaktanları ($\alpha 2$ -makroglobulin, fibrinojen) ile etkileşimler tarafından düzenlenir; bunlar, artmış veya azalmış MMP aktivitesi durumlarını tanımlar (Cook vd., 2019; Page-McCaw vd., 2007).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), metzinksin (metzincin) süper ailesine ait çinko bağımlı endopeptidazlardır ve fibronektin, laminin, kollajenler, elastin ve bazal membran glikoproteinleri gibi hücre dışı matriks (ECM) bileşenlerinin parçalanması ve yeniden modellenmesinde yer alırlar. MMP'ler, yara iyileşmesi, anjiyogenez, embriyonik gelişim, sinaptik plastisite, hücre polaritesi, hücre göçü ve proliferasyon gibi fizyolojik süreçlerde önemli roller oynar. Özellikle, MMP'lerin anjiyogenez, tümör invazyonu ve metastaz mekanizmalarındaki rolü kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. MMP'lerin tümörler tarafından ekspresyonu, kanser metastazı ile yakından ilişkilidir (A. Das vd., 2017; Kleiner & Stetler-Stevenson, 1999). Kanser

araştırmacıları, moleküler biyoloji çalışmalarına dayanarak, MMP inhibitörlerinin invaziv kansere karşı etkili olacağını öne sürmüşler ve bu nedenle çeşitli ilaç adaylarını kullanarak birçok klinik çalışma yürütmüşlerdir (N. Das vd., 2020; Malemud, 2019).

Omurgalılarda tanımlanan 23'ten fazla MMP vardır. Bunlar substratlarına ve yapısal farklılıklarına göre kollajenazlar, jelatinazlar, stromelisinler, elastazlar ve membran tipi MMP'ler (MT-MMP'ler) olarak sınıflandırılmıştır. Çoğu MMP'nin birden çok alanı vardır: bir ön alan, sinyal peptidi, bir katalitik alan ve bir C-terminal hemopeksin benzeri (HPX) alan. Bununla birlikte, birkaç MMP'nin başka yapısal özellikleri de vardır. Örneğin jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9), katalitik alanda jelatin ve kollajene bağlanmaya izin veren çinko bağlayıcı motiften önce bir fibronektin tip II motifi içerir. Matrilysin (MMP-7 ve MMP-26) ve MMP-23'ün bir HPX alanı yoktur. MMP-23, bir sistein dizisi, bir Ig benzeri alan ve ön alanın yerini alan bir transmembran alan ile bir sinyal çapası gibi spesifik alanlara sahip olması bakımından diğer MMP'lerden farklıdır. MT-MMP'lerin bir glikosilfosfatidilinositol (GPI) çapası (MMP-17/MT4-MMP ve MMP-25/MT6-MMP) veya bir transmembran alanı (MMP-14/MT1-MMP, MMP-15/MT2-MMP, MMP-) vardır. Ön alan, çinko bağlama motifinde üç histidin ile bağlanan çinko ile etkileşime giren bir sistein tiyol grubu içerir ve bu etkileşim, MMP'lerin (ProMMP'ler) inaktif durumunu sağlar. Ön alanın proteolitik bölünmesi veya sistein tiyol grubunun modifikasyonu, MMP'leri aktive eder. Ayrıca ROS, enflamasyon sırasında pro-alandaki sistein tiyol gruplarının oksidasyonu yoluyla MMP'leri aktive edebilir (Fu vd., 2001, 2004). Genel olarak, aktive edilmiş MMP'ler, 1:1 kovalent olmayan bir şekilde katalitik alana bağlanan metalloproteinazların dört doğal doku inhibitörü (TIMP'ler) tarafından düzenlenir. MMP'ler ve TIMP'ler arasındaki bir dengesizlik sıklıkla enflamasyona yol açar ve bir bağışıklık tepkisini aktive eder. Katalitik alan, üç histidin kalıntısı olan bir çinko bağlayıcı motif ve bir glutamik asit kalıntısı olan bir aktif bölge içerir. Katalitik alan, MMP'lerin substrat özgüllüğünü belirler. HPX alanı, substrat bağlanmasında yer alır ve MMP'lerin aktivitesini modüle eder. TIMP-1 ve TIMP-2, sırasıyla MMP-9 ve MMP-2'nin HPX alanına bağlanır (Bannikov vd., 2002).

MMP'ler, pro-enflamatuar sitokin IL-1 β 'nin aktivasyonunu ve inaktivasyonunu düzenler. MMP-7 ve MMP-12 ayrıca TNF- α seviyelerini düzenler. Makrofajlardan aktif TNF- α 'yı serbest bırakmak için proTNF- α 'yı ayırırlar (Ito vd., 1996; Mohan vd., 2002). Ek olarak, MMP'lerin hücrelerden salgılandıkları, ancak

salgılandıktan sonra yeniden giriş yoluyla hücrelerde biriktikleri de bilinmektedir. Hücre içi MMP'ler, oksidatif stres, translasyon sonrası modifikasyon ve proteolitik bölünme yoluyla aktive edilirler. Aktive edilmiş MMP'ler, hücre içi sinyalleşme süreçlerini düzenlemek için hücre içi moleküllerle etkileşime girerler (Bassiouni vd., 2021).

Birçok patojen, çeşitli hücrelerde enflamatuar yanıtla neden olur ve bu enflamatuar yanıtlar MMP ekspresyonu ve aktivasyonu ile düzenlenir (Bannikov vd., 2002). MMP'lerin ekspresyonu ve aktivasyonunun düzenlenmesi, çeşitli araçlar tarafından düzenlenir. İlk olarak, MMP'lerin enfekte dokulardaki hücreler tarafından transkripsiyonu, MAPK, NF- κ B ve AMPK dahil olmak üzere hücre sinyal yollarının düzenlenmesi yoluyla patojen ve hücre içi MMP'ler tarafından düzenlenir (Bassiouni vd., 2021; Liao vd., 2015; Vincenti & Brinckerhoff, 2002).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), ECM bileşenlerinin ve ECM olmayan moleküllerin bozunması, hücre sel göç ve iltihaplanma sırasında sitokinlerin ve kemokinlerin biyoyararlanımı ve aktivitesi dahil olmak üzere çeşitli biyolojik işlemlerde yer alan enzimlerdir. Toplu olarak, kollajenazlar (MMP-1, -8 ve -13), jelatinazlar (MMP-2 ve -9), stromelisinler (MMP-3, -10 ve -11) ve matrilisinler (MMP-7 ve -26) dahil olmak üzere MMP'ler ECM'nin tüm yapısal bileşenlerini hem fizyolojik hem de patolojik koşullar altında parçalayabilirler. MMP'lerin aktivitesini kontrol ederek, MMP'lerin doku inhibitörleri (TIMP'ler) ve alfa-2 makroglobulin gibi endojen inhibitörler, ECM biriktirme ve bozunma arasındaki dengeyi korur. Bu nedenle, genetik varyasyonlar, gen ekspresyon değişiklikleri, hastalıklar veya çevresel etkiler nedeniyle MMP'ler ve inhibitörleri arasındaki bir dengesizlik, doku homeostazını doğrudan etkileyerek doku bozulmasını ve enflamatuar bir durumun kalıcılığını artırabilir (C. J. Chen vd., 2013; Nissinen & Kähäri, 2014; Paiva & Granjeiro, 2014).

MMP'lerin aktivitesini kontrol etmedeki rolleriyle tanınan TIMP'ler, TIMP-1 ve TIMP-2'nin en iyi karakterize edildiği dört aile üyesinden oluşur. MMP aktivitesinin endojen proteinler TIMP'ler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmesi, aşırı matriks bozulmasını önlemek için esastır. TIMP'ler, MMP'lerin aktif bölgesine seçici olmayan bir şekilde bağlanır ve tüm MMP'ler, ECM substratlarına erişimi bloke ederek farklı TIMP'ler tarafından inhibe edilebilir (Santos-Martínez vd., 2008; Visse & Nagase, 2003).

Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), doku homeostazı, konak savunması ve doku onarımı dahil olmak üzere çeşitli süreçlerde yer alan bir proteolitik enzim ailesidir. MMP'lerin, romatoid artrit, osteoartrit ve kronik deri ülserasyonları gibi fokal doku yıkımı ile enflamatuar hastalıkların patogeneğinde ve ayrıca kanserin ilerlemesinde rol oynadığına dair kanıtlar da vardır (Burrage vd., 2006; Kessenbrock vd., 2010; Sternlicht & Werb, 2001; Toriseva & Kähäri, 2009). MMP'lerin ifadesi ve aktivitesi fizyolojik durumlarda sıkı kontrol altındadır, oysa MMP'lerin aşırı aktivitesi genellikle patolojik durumlarda ortaya çıkar (Parks vd., 2004). MMP'ler başlangıçta proteolitik enzimleri parçalayan ECM olarak karakterize edildi, ancak son yıllarda, MMP'ler için artan sayıda matriks olmayan substratlar tanımlandı. MMP'ler, enflamatuar fonksiyonları çeşitli seviyelerde düzenleyebilir (Butler & General, 2013; Parks vd., 2004).

MMP Yapısı ve İşlevi

Bugüne kadar 23 insan MMP'si tanımlanmıştır. MMP'ler yapılarına, substrat özgüllüklerine ve işlevlerine göre farklı alt gruplara ayrılabilir: kollajenazlar (MMP-1, -8 ve -13), jelatinazlar (MMP-2 ve -9), stromelisinler (MMP-3,-10 ve 11), matrilisinler (MMP-7 ve -26), transmembran MMP'ler (MMP-14, -15, -16,-24 ve -25), glikosil-fosfatidil-inositol (GPI) tipi MMP'ler (MMP-17 ve -25), MMP-19 benzeri MMP'ler (MMP-19 ve -28) ve diğer MMP'ler (MMP-18, -20 ve -23) (T. Klein & Bischoff, 2011).

MMP ailesinin tüm üyeleri yapı olarak homologdur ve bunların çoğu dört ayrı fonksiyonel alan içerir: sinyal peptidi, propeptit, katalitik alan ve hemopeksin benzeri alan. N-terminal sinyal peptidi, MMP'lerin salgılanması için gereklidir. Tüm MMP'ler, proteolitik aktiviteden sorumlu oldukça homolog bir katalitik alan ve ayrıca korunmuş bir sistein kalıntısı yoluyla katalitik cepteki Zn^{2+} iyonu ile etkileşerek MMP aktivitesini düzenleyen bir propeptit içerir (Gomis-Rüth, 2003; T. Klein & Bischoff, 2011).

Kollajenazlar (MMP-1, 8 ve -13) bol miktarda salgılanan MMP'lerdir ve çoğu proteinaz tarafından proteolize dirençli olan tip I, II ve III'ün doğal fibriller kollajenlerini parçalayabilirler. Çeşitli hücre türleri tarafından eksprese edilirler, ancak MMP-8 esas olarak olgunlaşmaları sırasında nötrofiller tarafından sentezlenir ve hücre içi salgı granüllerinde depolanır (Hasty vd., 1990). MMP-2 ve -9 (sırasıyla jelatinaz A ve B) birkaç hücre tipi tarafından ifade edilir. Stromelisinler, MMP-3

(stromelisin-1) ve -10 (stromelisin-2), MMP-11'in (stromelisin-3) aksine, geniş bir substrat özgüllüğü ve örneğin jelatin, fibronektin ve laminin ayırımı sunar. Matrilisinler, C-terminal hemopeksin benzeri alan içermeyen en küçük insan MMP'leridir. MMP-7 (matrilysin-1), bozulmamış fibriler kollajenleri parçalayamaz, ancak jelatin, laminin, fibronektin, vitronektin ve elastin gibi diğer ECM bileşenlerini sindirebilir. MMP-26 (matrilysin-2, endometaz), MMP-7'den daha sınırlı bir substrat özgüllüğüne sahiptir. Molekülünü gizli formda tutmak için sistein değiştirme mekanizmasını içermeyen tek MMP'dir (Marchenko vd., 2002). MT1-MMP ve MT2-MMP (sırasıyla MMP-14 ve -15)'nin büyük ölçüde örtüşen substrat özgüllükleri vardır ve pek çok ECM proteinini parçalayabilirler; örneğin doğal fibriler kollajenler, jelatin, fibronektin ve vitronektin. MT3-MMP (MMP-16) ve MT5-MMP (MMP-24) daha az karakterize edilir (Lang vd., 2004). MT4- ve MT6-MMP'lere yakın homoloji gösterir. Sırasıyla MMP-17 ve -25, diğer MT-MMP'lerden yapısal olarak farklıdır, çünkü bunlar hücre zarına bir GPI çapası ile bağlıdır, oysa diğer MT-MMP'ler bir zar kapsayan alan içerir. MT4- ve MT6-MMP'ler, GPI çapaları aracılığıyla hücre zarı üzerindeki lipid sallaıyla etkileşime girer ve bu şekilde içselleştirmeye ve geri dönüşüme tabi olabilir. MT4- ve MT6-MMP'ler, jelatin dahil olmak üzere sınırlı sayıda ECM bileşenini ayırır. MT6-MMP ayrıca kolajen tip IV, fibronektin ve laminin'i de ayırır (Sohail vd., 2008).

MMP İfadesinin ve Aktivitesinin Düzenlenmesi

MMP'lerin proteolitik aktivitesi sağlıklı, bozulmamış dokularda normalde düşüktür. MMP'lerin hücreler tarafından in vivo üretimi, çeşitli uyarıcılar tarafından indüklenir ve enzimin proteolitik aktivitesi, çeşitli aktivatörler ve inhibitörler tarafından düzenlenir. MMP'lerin ekspresyonu, TNF- α dahil olmak üzere birçok enflamatuar sitokin ve epidermal büyüme faktörü (EGF) ve tümör büyüme faktörü- β (TGF- β) dahil olmak üzere büyüme faktörleri tarafından transkripsiyon seviyesinde yukarı doğru düzenlenir. MMP'lerin ekspresyonu ayrıca hormonlar, tümör promotörleri, hücre-hücre teması ve hücre-ECM etkileşimleri tarafından da düzenlenir (Ala-Aho & Kähäri, 2005; Benbow & Brinckerhoff, 1997).

Doku Yaralanmasında MMP'ler

Proteoliz, doku onarımının önemli bir özelliğidir. Derideki yara iyileşmesi üç aşamaya ayrılabilir: 1) hemostaz ve enflamasyon, 2) yeniden epitelizasyon ve 3)

granülasyon dokusu oluşumu ve doku yeniden şekillenmesi (Toriseva & Kähäri, 2009) MMP-1 ve MMP-9 sırasıyla cilt ve akciğerde doku onarımında re-epitelizasyon da görev alır. MMP-1'in ekspresyonu, iyileşen kutanöz yaranın kenarında göç eden keratinositlerde spesifik olarak yukarı doğru düzenlenir. MMP-1 kollajen tip I'i ayırır ve böylece keratinosit $\alpha 2\beta 1$ integrinin tip I kollajene afinitesini değiştirir (Pilcher vd., 1997). Enflamasyon normal yara onarımının önemli bir özelliği olmasına rağmen, kalıcı enflamasyon yara iyileşmesinin bozulmasına neden olur. Ayrıca kronik dermal ülserlerin patogenezinde rolü vardır (Eming vd., 2007). Buna göre, MMP-8 eksikliği olan farelerde nötrofillerin gecikmeli başlangıç akışı ve ardından kalıcı enflamasyon ile bağlantılı olarak yara kapanmasında bir gecikme olduğu gösterilmiştir (Gutiérrez-Fernández vd., 2007).

MMP'ler ve Bariyer İşlevi

Endotel hücreleri arasındaki hücreler arası bağlantıların gevşemesi, vasküler geçirgenliği ve endotel hücre yüzeyinden lökosit göçünü artırır. MMP'lerin endotel hücre bağlantı proteinlerini parçaladığı ve böylece plazma proteinlerinin ve enflamatuar hücrelerin ekstravazasyonuna izin verdiği ortaya çıkarılmıştır. MMP-2 ve -9, endotel hücre sıkı bağlantılarının bir transmembran bileşeni olan okludini parçalayabilir (Reijerkerk vd., 2006).

MMP'ler, Enflamatuar Sitokinler ve Kemokinler

Kemokinler, enflamatuar hücrelerin göçünü ve aktivasyonunu kontrol eder. Birkaç çalışmadan ortaya çıkan kanıtlar, MMP'lerin iltihaplı dokudaki kemokin gradyanlarının düzenlenmesinde potansiyel bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır, bu şekilde iltihaplanma veya yaralanma bölgesine iltihaplı hücre alımını düzenler. MMP'ler sitokinlerin ve kemokinlerin biyolojik fonksiyonlarını proteolitik işleme aktive edebilir, etkisiz hale getirebilir veya antagonize edebilir ve bu şekilde enflamasyonu teşvik edebilir veya baskılayabilir (McQuibban vd., 2000, 2001; Schönbeck vd., 1998; van den Steen vd., 2003; Vandenbroucke vd., 2013).

MMP'ler ve Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, yeniden epitelizasyonla gerçekleştirilen bir süreçtir ve iki işleve dayanır: çoğalma ve hücre göçü (Pastar vd., 2014). Yara iyileşme süreci, proteinler ve ECM arasındaki karmaşık etkileşimler tarafından yönetilir ve bir dizi

sinyal yolları vardır (Olczyk vd., 2014). MMP'ler tüm yara iyileştirme olaylarında yer alır. Bunların işlevleri çeşitlidir ve yalnızca ECM'deki değişikliklerle ilgili değildir. Örneğin, enflamasyon sırasında, nötrofiller enfeksiyona karşı korumak için yaraya sızar ve yaranın debridmanı için gerekli olan ve hasarlı kollajen tip I'i parçalamak için gerekli olan MMP-8'i serbest bırakır. Yapılan *in vivo* çalışmalar, MMP-8 eksikliğinin TGF- β 'ye yol açtığını göstermektedir. Sinyal verme, iltihaplanma ve gecikmiş yara iyileşmesi gibi görevleri olur (Gutiérrez-Fernández vd., 2007). Yaralı ciltte, MMP-1 üretimi, dermiste $\alpha 2$ ve $\beta 1$ integrinler yoluyla tip I kollajene bağlanan keratinositler tarafından indüklenir (Revilla vd., 2016). Keratinositlerin tip I kollajene göçü için MMP-1'in düzgün çalışması gereklidir. Bu endüktif yanıt, göç eden hücreler üzerindeki $\alpha 2\beta 1$ integrini tarafından kontrol edilir (Lan vd., 2009). MMP-2 ve MMP-9, yara iyileşmesinde yer alan hücre göçünde önemli roller oynar. Normal olarak MMP-2, keratinositlerin yara iyileşmesinin son aşamasına göçünü modüle eden uzun süreli yeniden şekillenme fazı sırasında laminin-5'in proteolizine katılır (Mäkelä vd., 1999). MMP-1, MMP-2 ve MMP-9 ayrıca keratinositlerin başlangıçta dermal matriks ile kurduğu sıkı temasları gevşeterek yaranın yeniden epitelizasyonuna katkıda bulunur. MMP-1 ayrıca normal ve hipertrofik yara izlerinin azaltılmasında da görev alır (Rohani & Parks, 2015).

Özetle, pro-enflamatuar ve anti-enflamatuar sitokinlerin dengesizliği, MMP'lerin ve TIMP'lerin (proteolitik eksen) düzensizliği yoluyla hastalıkların patogeneze katkıda bulunur. IL-1 β ve TNF- α gibi enflamatuar sitokinler, aktive edilmiş B hücrelerinin nükleer faktörü kappa-hafif zincir (NF- κ B) arttırıcı, fosfoinositid 3-kinaz/protein gibi sinyal yollarının aktivasyonunu indükleyebilir.(Linton vd., 2019; Malemud, 2019; Noack & Miossec, 2017; M. Zhang & Zhang, 2019).

MMP'lerin birçok koşulda etkinliği vardır. Bunların en etkilisi enflamatuar süreçtir ve çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda rol oynayan temel proteolitik enzimlerdir (Zheng vd., 2009). TNF- α ve IL-1 β kemoterapinin neden olduğu bağırsak mukozitinin yoğunluğuna katkıda bulunan pro-enflamatuar sitokinlerdir (Sonis, 2004, 2010). Ayrıca TNF- α , epitelyal ülserasyona ve submukozal yıkıma katkıda bulunan nötrofiller ve aktive makrofajlar tarafından üretilen oldukça güçlü bir matriks metalloproteinazdır (Griffin vd., 2012). TNF- α ve IL-1 β ekspresyonunun 5-FU tedavisine yanıt olarak arttığı gösterilmiş, bu da kemoterapi ve radyoterapinin neden olduğu mukozit etiyolojisinde enflamatuar sitokinlerin rol oynadığını

göstermektedir. Bunlarda sonuç olarak, TNF- α ve IL-1 β 'in mukozitte rol oynadığı ve baskılanmayı hedef aldığı düşünülmektedir (Sultani vd., 2012).

Yara iyileşmesi çok karmaşık bir süreçtir. Bu yara iyileşmesi için hücre dışı matriksin müteakip oluşumu ile birkaç hücre popülasyonuna göç, çoğalma ve farklılaşmayı içeren çok faktörlü bir süreçtir. MMP'lerin bir başka özelliği, hücre dışı matriksin bozulması veya hücreyel yapışkanlarını değiştirerek hücre göçünü etkileyebilmeleridir. Özellikler MMP'ler ayrıca hücre dışı matriks mikro-ortamını değiştirerek çoğalmayı ve/veya anti-apoptozu indükleyebilir (Mott & Werb, 2004; Vu & Werb, 2000).

Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücreyel homeostazı düzenler ve hastalık patofizyolojisine katkıda bulunan hücreyel işlev bozukluğunun ana modülatörleri olarak hareket ederler. ROS, bazal metabolik fonksiyonun bir parçası olarak sitoplazma, hücre membranı, endoplazmik retikulum (ER), mitokondri ve peroksizom dahil olmak üzere çeşitli hücre bölmelerinde çok sayıda enzimatik reaksiyonun yan ürünleridir. Ayrıca NOX'lar (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar) gibi enzimler tarafından spesifik olarak üretilirler ve hücrede bir sinyal işlevi görürler. ROS kaynağına, hücre tipine ve doku ortamına bağlı olarak, ROS sinyali normal fizyolojik süreçlere katılabilir veya metabolik işlev bozukluğuna ve enflamatuvar sinyale yol açan uyumsuz bir cevaba katkıda bulunabilir. Ateroskleroz, diabetes mellitus ve inme gibi yüksek enflamatuvar sinyalleme ve metabolik işlev bozukluğu ile ilişkili hastalıklar, değişmiş bir redoks dengesi ile ilişkilidir (Allen & Bayraktutan, 2009; Kaneto vd., 2010;).

Sitoplazmik Reaktif Oksijen Türleri

Sitoplazmik ROS (ROS) üretimi, hücreyel sinyalleşme ve hastalık patofizyolojisinin temel taşıdır. En iyi bilinen sitoplazmik ROS kaynaklarından biri, NOX enzim ailesidir. NOX proteinleri, NADPH elektron değişimi yoluyla O₂⁻ üretir ve NOX'e bağlı ROS üretimi birçok metabolik süreci ve hastalık durumunu etkiler (Cave vd., 2006). NOX bağımlı ROS üretimine ek olarak, nitrik oksit sentazlar da (eNOS (endotelyal), nNOS (nöronal) ve iNOS (indüklenbilir)) sitoplazmik ROS kaynaklarıdır (Vásquez-Vivar vd., 1998).

Sitoplazmik ROSlar ayrıca AMPK (AMP ile aktive olan protein kinaz) aktivitesini indükler (S. Wang vd., 2012). AMPK, glikoliz, lipid metabolizması, mitokondriyal fonksiyon, hücre büyümesi ve otofaji dahil olmak üzere çoklu metabolik fonksiyonlarda yer alan hücrel metabolizmanın merkezi bir düzenleyicisidir (Mihaylova & Shaw, 2011).

Endotelial hücrelerdeki düşük oksijen gerilimi, NOX aracılı, ROS kaynaklı hipoksi indüklenebilir faktör 1 alfa (HIF1 α) sinyali yoluyla anjiyojenik yanıtın bir parçası olarak glikolizi artırır (Paik vd., 2017). Bununla birlikte, bazı hastalık durumlarında artan ROS sinyali, glikoliz hız sınırlayıcı enzimi piruvat kinaz M2'yi etkisiz hale getirir ve ROS detoksifikasyonu için gerekli indirgeyici eşdeğerleri oluşturmak üzere glikolitik substratları Pentoz-Fosfat yolu (PPP) yoluna yönlendirir, böylece koruyucu bir mekanizma görevi görür (Anastasiou vd., 2011).

Mitokondriyal Reaktif Oksijen Türleri

Mitokondriler, aerobik enerji üretiminin merkezi düzenleyicileridir. Uygun solunum zinciri işlevi, pro-oksidan ve antioksidan sistemler arasında hassas bir denge gerektirir. Daha da önemlisi, mitokondriyal solunum, ATP üretimini yönlendirmek için elektron transferine ve bir proton gradyanına dayanır. ROS, bu sürecin doğal bir yan ürünüdür; ancak, enflamatuar ve metabolik hastalıklar bozulmuş mitokondriyal ROS (mitoROS) üretimi ile ilişkilidir (Bulua vd., 2011; Nishikawa & Araki, 2006). Kompleks I, NADH'den solunum zincirine elektronlar için bir giriş noktası görevi görür. Süperoksit anyon (O_2^-), matriks NADH/NAD $^+$ oranı yüksek olduğunda O_2 'nin indirgenmiş flavin mononükleotit (FMN) ile etkileşiminden üretilir ve matrikse O_2^- salınmasına neden olur (Kussmaul & Hirst, 2006). Ayrıca mitoROS, kompleks I yoluyla üretilir. Ters elektron transferi (RET) yoluyla. RET, azaltılmış koenzim Q'yu ve elektronları tekrar kompleks I'e yönlendiren proton hareket gücündeki bir değişikliği içeren 2 aşamalı bir süreçte gerçekleşir. Kompleks III aynı zamanda bir mitoROS kaynağıdır. Normal koşullar altında, elektronlar koenzim Q havuzundan sitokrom C'ye akar. Kompleks III çok düşük seviyelerde O_2^- üretse de Antimisin A'nın varlığında Qi bölgesi inhibe olur, bu da Qo bölgesinden O_2^- üretimini teşvik eder (Bleier & Dröse, 2013).

ROS ve Endoplazmik Retikulum

Endoplazmik Retikulum (ER), Ca^{2+} işleme, protein sentezi/katlanması ve salgı yolunun düzenlenmesindeki rolleri nedeniyle metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarda köklü bir role sahiptir (Hotamisligil, 2010; Minamino vd., 2010). Protein katlanması, ER redoks durumuna karşı oldukça hassastır ve ER stresine yanıt olarak disülfit bağı oluşumunun düzensizliği, lümen oksidatif stresi artırarak ER işlevinde düşüşe yol açar (Cao & Kaufman, 2014). Katlanmış proteinler, PDI (protein disülfit izomeraz) ve ERO1 (ER oksidoredüktin 1) yoludur. PDI, katlanan substratlarda tiyol oksidasyonu yoluyla disülfür bağları sağlar ve PDI'yi indirgenmiş bir durumda bırakır. İndirgenmiş PDI, elde edilen elektronları bir flavin adenin dinükleotit kofaktörü yoluyla H_2O_2 oluşturan moleküler oksijene aktaran ERO1 aracılığıyla yeniden oksitlenir. ER H_2O_2 ayrıca Prdx4 tarafından PDI'yi yeniden oksitlemek için kullanılabilir, böylece ERO1 aracılı disülfid bağ transferinin etkinliği artar (Espinosa-Diez vd., 2015; Tavender vd., 2010).

ROS ve Enflamasyon

Çok sayıda metabolik ve kardiyovasküler bozukluğun kronik düşük dereceli enflamasyon sergilediği göz önüne alındığında, enflamasyon ve metabolizma karmaşık bir şekilde iç içe geçmiştir (Baker vd., 2011). Kanonik NF- κ B (nükleer faktör κ -aktifleştirilmiş B hücrelerinin hafif zincir arttırıcısı) sinyali ilişkilidir. İnsülin direnci, obezite ve ateroskleroz (Arkan vd., 2005; Baker vd., 2011; Xu vd., 2003) ve yağ asitleri ve glikoz gibi dolaşımdaki diyet faktörleri, enflamatuar sinyali tetikleyebilir. Ayrıca NF- κ B'nin aerobik glikoliz lehine metabolik yeniden programlamayı düzenleyebileceği öne sürülmüştür (Mauro vd., 2011). ROS'un NF- κ B sinyali üzerindeki etkisi, oksidasyonun hücre sel konumuna (sitoplazmik ve nükleer) bağlı olabilir (Kabe vd., 2005). Genel olarak, ROS, enflamatuar agonistlere yanıt olarak NF- κ B'yi aktive edebilir (Marui vd., 1993). NF- κ B nükleer translokasyonu, H_2O_2 'ye yanıt olarak meydana gelir (Canty vd., 1999), I κ Ba içeren bir mekanizma yoluyla (B-hücreleri inhibitörü a) tirozin fosforilasyonu (Tyr42), serin/treonin PEST bölgesi (prolin, glutamik asit, serin ve treonin sekansı) fosforilasyonu ve ardından kalpain yoluyla bozunma ve p65 fosforilasyonu (ser529)(Schoonbroodt vd., 2000; Takada vd., 2003) NF- κ B hafif polipeptit geninin nükleer faktörü ROS kaynaklı NF- κ B, SOD2 aşırı ekspresyonu tarafından inhibe

edilir ve NOX protein ailesi de NF- κ B aktivitesini etkiler ve etkilenir (Anrather vd., 2006; C. J. Chen vd., 2013; Gauss vd., 2007; Johar vd., 2006).

Spesifik enflamatuar agonistler, sinyal kaskadlarının bir parçası olarak ROS'u kullanır. IL-1 β , MyD88 ve NOX2 ROS kaynaklı tümör nekroz faktörü reseptörü (TRAF) içeren aktif endozomal IL-1R kompleksi düzeneğini indükler (Q. Li vd., 2006). NOX4 aktivitesi lipopolisakkarit ile indüklenen NF- κ B aktivasyonu için gereklidir ve TNF- α ile indüklenen NF- κ B aktivasyonu, bir ROS/JNK (c-Jun N-terminal kinaz) yolu yoluyla TNF- α ile indüklenen apoptotik sinyalin azalmasına yol açan antioksidan ekspresyonu artırır (Gloire vd., 2006; Parks vd., 2004).

Glutasyon peroksidaz ve Superoksit dismutaz

Glutasyon peroksidazın (GPx) "hemoglobini oksidatif parçalanmadan koruyan bir enzim"(Mills, 1957) olarak etkisi, eser element selenyum üzerine yapılan araştırma ile biyokimyadaki rolü arasındaki bağlantıyı sağlamıştır (Rotruck vd., 1980). Ayrıca, keşfedilen ikinci memeli selenoproteini, fosfolipid hidroperoksit GPx (şimdi GPx4), oksidatif hasarın önlenmesinde rol oynadığı kanıtlandı. Bu arka plan ışığında, selenyum geniş çapta "biyolojik bir antioksidan" olarak atfedilmektedir. (Brigelius-Flohé & Maiorino, 2013).

Genel olarak, peroksidazlar düzenleyici süreçlere farklı şekillerde müdahale edebilirler: (i) Sinyal molekülleri olarak kullanılan hidroperoksitler için redoksla düzenlenen proteinlerle rekabet edebilirler. (ii) Aktive edilmek için hidroperoksit gerektiren enzimleri susturabilirler. (iii) Geçici inaktivasyona uğrayabilirler, böylece sinyal verme amaçları için hidroperoksitleri koruyabilirler. (iv) Se-tiyooilenmiş homo- veya heterodimerler veya polimerler oluşturmak için hidroperoksitleri (-Flohé & Maiorino, 2013) kullanabilirler. (v) H₂O₂ veya ROOH'yi algılayabilirler ve spesifik olarak oksidasyon eşdeğerlerini hedef proteinlere aktarabilirler, böylece karışık düşük moleküler ağırlıklı oksidan H₂O₂'ye etkinlik ve özgüllük kazandırır (Flohé & Flohé, 2020).

GPx, substrat olarak indirgenmiş GSH gerektiren bir enzim ailesidir. Oksidatif strese karşı ikinci bir savunma hattı sağlarlar. 21 kDa'lık dört özdeş alt birimden oluşur ve her alt birim bir selenosistein (Sec) kalıntısı içerir (Lubos vd., 2011). GPx, kofaktör olarak GSH kullanarak organik ve inorganik H₂O₂'nin H₂O'ya ve karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eder (Birben vd., 2012). Çok bileşenli bir antioksidan savunma sistemi olarak işlev gördüğü hücre zarı çoklu

doymamış yağ asitlerinin korunmasında önemli bir rol oynar. GPx'in substrat için katalaz (CAT)'den daha yüksek bir afinitesi vardır ve yağ asidi hidroperoksitlerini azalttığı bilinmektedir (Gathwala & Aggarwal, 2016).

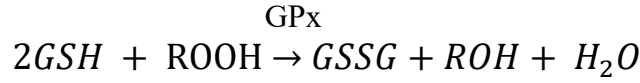
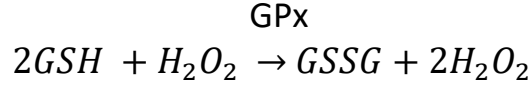
GPx, selenyum bağımlı ve selenyumdan bağımsız olarak iki şekilde sınıflandırılabilir. Hem sitozolde hem de mitokondride bulunurlar. Memeli dokularında selenyum bağımlı dört ana tip GPx izozimi mevcuttur: (a) klasik GPx (GPx1), (b) gastrointestinal GPx (GPx2), (c) plazma GPx (GPx3) ve (d) fosfolipid GPx (PHGPx4 veya GPx4). GPx1 çoğunlukla eritrositlerde, karaciğerde, akciğerde ve böbrekte bulunur. GPx2 ve GPx3 her yerde bulunur ancak çoğunlukla böbrek, akciğer, epididim, vas deferens, plasenta, seminal vezikül, kalp ve kas gibi organlarda bulunur. GPx4, çeşitli dokularda geniş çapta dağılmıştır (Margis et al., 2008). GPx'ler ayrıca ROS'un detoksifikasyonunda önemli bir rol oynar ve yüksek ROS seviyeleri altında aktive olan ilk enzim olduğu bulunmuştur (Duggett vd., 2016).

Glutasyon redüktaz (GR), hücrelerde GPx ile benzer bir dağılım modeli gösteren sitozolik bir proteindir. NADPH kullanarak oksitlenmiş glutasyonu (GSSG) azaltır. Glutasyon redüktazın önemli işlevlerinden biri GSH/GSSG oranını korumaktır. Hücre içindeki GSSG konsantrasyonu arttığında, genellikle DNA kırılmasına, protein denatürasyonuna ve lipid peroksidasyonuna yol açar (Zitka vd., 2012).

GPx Reaksiyonları. Aşırı süperoksit ve hidroksil radikali (OH•), peroksinitrit (ONOO⁻) ve nitrojen dioksit (NO₂) gibi türevlerinin varlığı oksidatif strese yol açar ve enflamasyon, mitokondriyal dejenerasyon ve tümör oluşumu sırasında yaygındır (Mirişala vd., 2012).

Glutasyon peroksidaz (GPx), biyolojik moleküllerin zarar görmesini, inaktivasyonunu, çapraz bağlanmasını ve parçalanmasını ve peroksidasyonu koruyan H₂O₂'yi H₂O'ya parçalayabilen güçlü bir antioksidan enzimdir. GPx aktivitesinin azalması, NF-κB ile ilişkili enflamatuar yolların aktivasyonuna ve doğrudan doku hasarına yol açan hidrojen peroksit hareketindeki artışla ilişkilidir (B. P. Yu & Chung, 2006).

Sitosolik glutasyon peroksidaz (GPx1), hidrojen peroksitin (H₂O₂) bozunmasını katalize eder (-Flohé & Maiorino, 2013; Flohé, 2009, 2015). GPx tarafından katalize edilen temel reaksiyonlar:



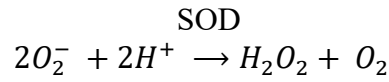
Superoksit dismutaz (SOD) enzimleri, oksijen radikallerine karşı en önemli savunmalardan biridir. Memelilerde SOD üç izoformda bulunur, bunlardan ikisi şunlardır: sitoplazmada 32 kDa'lık bir homodimer olarak lokalize olan, SOD1 olarak bilinen bakır/çinko SOD ve dış mitokondriyal boşlukta 135 kDa'lık bir tetramerik glikoprotein olan SOD3. Üçüncüsü, SOD2 olarak bilinen bir Mn SOD'dur ve yalnızca iç mitokondriyal boşlukta lokalize olan 88 kDa'lık bir homotetramerdir (Fridavich, 1995). Bazı bakteriler bir demir SOD, diğerleri Mn SOD içerir ve bazıları her ikisini de içerir (Imlay, 2013). Bitkilerde üç izoform bulunur: mitokondriyal Mn SOD, sitozol ve kloroplastlarda bir CuZn SOD ve kloroplastlarda bir demir SOD (Bowler vd., 1994).

SOD'ların tüm aerobik organizmalardaki ana rolü, hücrelerin sitozol, mitokondri ve endoplazmik retikulumunda üretilen O_2^- 'yi hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonu yoluyla nötralize etmektir. SOD ayrıca, en azından kısmen, nitrik oksidin O_2^- ile reaksiyonundan oluşan oksitleyici ve nitratlayıcı madde peroksinitritin (ONOO^-) detoksifikasyonunda yer alır (Radi vd., 2001).

Bununla birlikte, O_2^- 'nin ayrışması hücreler için toksik olan hidrojen peroksit ürettiğinden, SOD pro-oksidan bir etkiye de sahip olabilir. Katalaz (CAT) gibi diğer önemli antioksidan sistemler, hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürürken, glutatyon peroksidaz, glutatyon üreten glutatyon disülfid ve suyu oksitlemek için hidrojen peroksit kullanır (Pruchniak vd., 2016).

SOD Reaksiyonları. Stres koşulları altında gelişmiş ROS oluşumu hem koruyucu tepkileri hem de hücrel hasarı indükler. O_2^- 'nin temizlenmesi, süperoksitin H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize eden bir yukarı akış enzimi olan SOD aracılığıyla sağlanır. Bu reaksiyon, spontan dismutasyondan 10.000 kat daha hızlıdır (Bowler vd., 1992). Enzim, tüm aerobik organizmalarda ve oksidatif strese duyarlı tüm hücre kompartmanlarında bulunur (Bowler vd., 1992).

Süperoksit radikalleri, istilacı patojenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive etmek için normalde NADPH oksidaz enzimi tarafından üretilir. Süperoksit, elektron taşıma zinciri tarafından nihai pozisyonu işgal eden ve terminal elektron alıcısı olarak hareket eden oksijenden üretilir. Bazı elektronlar, elektron taşıma zincirinden rastgele "sızılabir ve süperoksit radikalleri üretmek için oksijenle etkileşime girer. Böylece fizyolojik koşullar altında mitokondrideki oksijen moleküllerinin yaklaşık %1-3'ü süperoksit radikallerine dönüştürülür."(Campian vd., 2004). Süperoksit radikali normalde esas olarak bir anyon radikali formunda bulunur ve bir dismutasyon reaksiyonu ile uzaklaştırılır. SOD'un katalizlediği reaksiyon aşağıda yer almaktadır.



Malondialdehit (MDA)

Oksidatif stresin en önemli ve sık görülen sonuçlarından biri peroksidasyondur. Serbest radikallerin biyolojik moleküllerle, özellikle doymamış lipitlerle reaksiyona girdiği bir süreçtir, çünkü bunların çift bağları radikal hasar için zayıf bir noktadır (Cheeseman & Slater, 1993). Lipit peroksidasyonu, bir lipid molekülü ile moleküler oksijen arasındaki doğrudan reaksiyondan kaynaklanan otooksidatif bir süreçtir (Kendler, 2002). Çevreleyen biyolojik ortam, zararlı peroksidasyon sürecine karşı koymak için bir dizi koruyucu mekanizma geliştirmiştir. Bunların içinde en önemlilerinden biri antioksidanlardır.

Konumlarına göre üç ana gruba (hücre içi, hücre dışı veya hücre zarı içi) ve ek olarak bileşimlerine göre iki kategoriye (enzimatik veya enzimatik olmayan) kategorize edilebilirler (Birben vd., 2012). Lipid peroksidasyonu, farklı metabolitlerin oluşumuna neden olur ve biyolojik ortamlarda bunların tespiti ve analizi, çeşitlilikleri, düşük konsantrasyonları ve yüksek reaktiviteleri nedeniyle zordur. En çok çalışılan lipid peroksidasyon ürünleri 4-hidroksinonenal, 4-hidroksiheksenal ve malondialdehittir (Barrera vd., 2018). MDA, karsinogenez, karaciğer ve böbrek toksisitesi, diabetes mellitus, kardiyovasküler ve nörovasküler hastalıklardaki rolünü ve nükleik asitler üzerindeki çeşitli etkilerini gösteren çok sayıda rapora sahip çok reaktif bir metabolittir (Ayala vd., 2014).

MDA, mitokondriyal aldehit dehidrogenaz ve dekarboksilasyon ile asetaldehite metabolize edilir, bu daha sonra asetata ve ayrıca su ve CO₂'ye oksitlenir

(Esterbauer vd., 1991; Siu & Draper, 1982). MDA (OHC-CH₂-CHO, Mw =72 g/mol), en az bir metilen grubu içeren çoklu doymamış lipitlerin parçalanmasından elde edilen bir metabolittir. Ana MDA öncüleri arasıdonik, dokosaheksaenoik ve linolenik asitlerdir (Esterbauer vd., 1991).

Antioksidan Uygulamaları

Hayvan çalışmaları, ROS'un kardiyovasküler hastalığın tedavisinde terapötik müdahale için uygun bir hedef olduğunu kesin olarak öne sürmüştür. Buna rağmen, klinik deneyler olumlu sonuçlanmamıştır (Bjelakovic vd., 2007; Steinhubl, 2008) ve bu sonuçlar olumsuz olsa da mevcut yaklaşımların neden başarısız olduğunu ve gelecekteki müdahalelerin nasıl başarılı olacağını belirlemeye yardımcı oldular. Çoğu antioksidan denemesi çeşitli vitaminlerle (A, C ve E) yapılmıştır ve vitaminlerin antioksidan özellikleri olmasına rağmen etkileri çok geniş olabilir ve konsantrasyonları hiçbir zaman ROS üretimini azaltmak için gereken seviyelere ulaşamayabilir veya ROS temizlemede o kadar etkili olmayabilir. Doku antioksidan savunmaları ile doğal antioksidan formülasyonları karşılaştırıldığında sentetiklerin etkinliği ve aynı zamanda verilmiş şekli (örneğin, diyete karşı hap) hakkında endişeler ortaya çıkmıştır. Ayrıca, özellikle ateroskleroz ve kalp yetmezliği durumunda, hastalığın ilerlemesi zaman alır. Bugüne kadar, çoğu çalışma, pozitif etkileri ortaya çıkarmak için yeterince uzun olmayabilecek, hastalığın daha ileri evrelerinde yalnızca küçük bir zaman aralığına (≈ 5 yıl) bakılmıştır. Ayrıca, ROS'un fizyolojik işlevi sürdürmek için hayati önem taşıdığı ve bu nedenle, ROS'un genel olarak temizlenmesinin, hücrel homeostazı tehlikeye atabileceği ve bazı durumlarda hastalığın ilerlemesini artırabileceği giderek daha açık hale geldi. Bu, özellikle ROS'un yerini ve kaynağını, çeşitli ROS türlerinin belirli rollerini ve konsantrasyondaki değişikliklerin hücrel sinyali nasıl etkileyebileceğini düşündüğümüz için önemlidir. Örneğin, H₂O₂'nin sırasıyla KCL ve fenilefrin ile tedavi edilen kan damarlarında hem vazokonstriksiyona hem de vazorelaksasyona neden olduğu bulunmuştur (Lucchesi vd., 2005).

Pro-enflamatuar Sitokinler

Pro-enflamatuar sitokinler esasen aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilir ve enflamatuar reaksiyonların yukarı regülasyonunda yer alır. Bunlar arasında en dikkati çekenler ve birçok çalışmaya konu olmuş olanlar TNF- α ve IL-1 β 'dir.

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), çeşitli hücre tipleri üzerinde pleiotropik etkileri olan bir sitokindir. Enflamatuar yanıtların ana düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır ve bazı enflamatuar ve otoimmün hastalıkların patogenezinde yer aldığı bilinmektedir (Bradley, 2008). Yapısal olarak, TNF- α , esas olarak aktifleştirilmiş makrofajlar, T-lenfositler ve doğal öldürücü hücreler tarafından üretilen 157 amino asitten oluşan bir homotrimer proteindir (Horiuchi vd., 2010). Diğer sitokinler ve kemokinler dahil olmak üzere bir dizi çeşitli enflamatuar molekülü tetiklediği fonksiyonel olarak bilinmektedir. TNF- α çözünebilir ve transmembran formunda bulunur. Transmembran TNF- α (tmTNF- α) başlangıçta sentezlenen prekürsör formdur ve çözünür TNF- α olarak salınması için membrana bağlı bir disintegrin metalloproteinaz olan TNF- α -dönüştürücü enzim (TACE) tarafından işlenmesi gerekir (Jiang vd., 2017). Genel olarak TNF- α , reseptörlerine, özellikle TNFR1 ve TNFR2'ye bağlanır ve daha sonra iltihaplanma ve hücre ölümü gibi biyolojik işlevler için moleküler sinyaller iletir. TNFR1, hem sTNF- α hem de tmTNF- α tarafından aktive edilir ve TNFR1 ile ilişkili ölüm alanı (TRADD) adaptör proteini ile etkileşime giren bir ölüm alanını işler (Pobezinskaya & Liu, 2012).

TNF ağırlıklı olarak aktive edilmiş makrofajlar ve T lenfositleri tarafından 26 kDa'lık bir protein olarak pro-TNF olarak üretilir ve bu protein, hücre dışı alanda matriks metalloproteinazlar tarafından parçalanabildiği ve bunun da salınmasına neden olan plazma membranında ifade edilir. Çözünür 17 kDa büyüklüğündeki formdur. Hem membran ilişkili hem de çözünür TNF'ler, trimerik formlarında aktiftir ve TNF'nin iki formu, farklı biyolojik aktivitelere sahip olabilir. TNF α dönüştürücü enzim (TACE, ADAM-17 olarak da bilinir) hücre yüzeyinden TNF'nin salınmasına aracılık eder (Black vd., 1997) ancak eylemiyle salınan TNF reseptörleri dahil olmak üzere birkaç hücre membranıyla ilişkili proteinin işlenmesinde yer alır (J. Wang vd., 2003).

TNF genellikle sağlıklı bireylerde tespit edilemez, ancak enflamatuar ve enfeksiyöz durumlarda yüksek serum ve doku seviyeleri bulunur (Nürnberg vd.,

1995) ve serum seviyeleri enfeksiyonların ciddiyeti ile ilişkilidir. Enflamatuar hastalıkta TNF kaynağı olarak, mast hücreleri, T ve B lenfositleri, doğal öldürücü (NK) hücreler, nötrofiller, endotel hücreleri, düz ve kalp kası hücreleri, fibroblastlar ve osteoklastlar dahil olmak üzere geniş bir hücre yelpazesi TNF üretebilir (Waage vd., 1987).

TNF sinyal iletim yolları karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılmamıştır. Transkripsiyon faktörü NF- κ B'nin düzenlenmesi, TNF sinyal iletiminin önemli bir bileşenidir, ancak yakın zamanda tanımlanmış 221 moleküler ile ilişki ve daha önce bilinmeyen etkileşimcilerin modülasyonunda yer alan RNA enterferansı kullanan fonksiyon kaybı analizi ile büyük ölçekli fiziksel haritalama yapma fonksiyonu vardır (Bouwmeester vd., 2004).

Interlökin-1beta (IL-1 β)

Son 40 yılda, lökositik pirojen ve lenfosit aktive edici faktörün tanımlanmasından başlayarak, daha sonra lökositlerle iletişim kurma kapasitesi nedeniyle interlökin (IL)-1 olarak tanımlanan, enflamasyona neden olan moleküllerin varlığı ortaya çıkarılmıştır (Dinarello vd., 1974; Garlanda vd., 2013). IL-1 terimi, birbiriyle ilişkili iki sitokini, IL-1 alfa (IL-1 α) ve IL-1 beta'yı (IL-1 β) kapsar. IL-1 ailesi, agonistik aktiviteye sahip yedi molekül (IL-1 α , IL 1 β , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ), üç reseptör antagonisti dahil 11 üyeden oluşur (IL 1R α , IL-36R α , IL-38). Bu aile üyeleri, tümü Toll benzeri reseptör (TLR)'lerle bir hücre içi sinyal alanını paylaşan 11 molekül içeren Toll-IL 1 reseptörü (TIR) süper ailesine ait spesifik IL-1 reseptörlerine (IL-1R) bağlanır (Dinarello, 2009).

IL-1 α , epitel, endotel ve stromal hücrelerde yapısal olarak bulunur ve TLR agonistleri, enflamatuar sitokinler, oksidatif stres ve hormonlar gibi çeşitli uyarımlarla hematopoietik ve hematopoietik olmayan hücrelerde yukarı regüle edilebilir. IL-1 β , yalnızca düşük ekspresyona sahip yerleşik makrofajlarda yapıcıdır (Rider vd., 2011) ve enflamasyon üzerine kesinlikle indüklenebilir. Miyeloid türevli hücrelerde, IL-1 β ekspresyonu, TLR ligandları ile stimülasyon üzerine veya IL-1 α gibi ligandların salınmasından sonra artar (C. J. Chen vd., 2007). Bu, kaspaz-1'in enzimatik fonksiyonunun aktivasyonu için enflamasyon bağımlı olan kabul edilen süreçtir. İltihaplanma kompleksi, tehlike ile ilişkili moleküler modeller veya patojenle ilişkili moleküler modeller gibi farklı ligandlar tarafından aktive edilir. Nötrofillerin bol olduğu iltihaplı dokularda, IL-1 β 'nin güçlü aktivasyonunu sağlayan

enflamasyondan bağımsız başka bir mekanizma vardır. Nötrofil türevli serin proteazlar (proteinaz-3 ve katepsin G), nötrofil elastazlar ve granzim A, bu bağlamda süreci katalize edebilen enzimlerdir (Guma vd., 2009).

IL-1 α ve IL-1 β , strese ve anormal vücut koşullarına yanıt verme, gen ekspresyonunu düzenleme, enflamasyonu ortaya çıkarma ve bağışıklık tepkisini aktive etme, bu mekanizmaları farklı şekillerde tetikleme gibi gereksiz rolleri paylaşır. Aslında, etkileri yerel veya sistemik ölçeklerde görülür (Dinarello, 2019; A. Mantovani vd., 2019). IL-1 α birincil lokaldir ve hastalık durumunda dolaşımda nadiren rapor edilirken, IL-1 β hem sağlıkta hem de hastalıkta dolaşımda bulunur (ter Horst vd., 2016). IL-1 α , lokalizasyonuna göre iki farklı davranışı olan bir "çift işlevli" sitokinler grubuna (IL-33 ve IL-37 gibi) aittir (Bertheloot & Latz, 2017).

Çeşitli çalışmalar IL-1 β aktivitelerine odaklanmıştır. IL-1 β 'nın vazodilatasyona yol açan, granülositlerin iltihaplı dokuya çekilmesini destekleyen ve akut enflamatuvar yanıt sırasında prostaglandinlerin ekspresyonunu indükleyen oldukça güçlü bir pro-enflamatuvar aracı olduğu iyi bilinmektedir. T hücreleri üzerindeki ek etkiler, IL-1 β 'nin doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık arasında bir bağlantı işlevi olduğunu öne sürerek tarif edilmiştir (Ben-Sasson vd., 2009).

Alfa-Lipoik Asit (ALA)

Tioktik asit veya (R)-5-(1,2-ditiyolan-3-il)-pentanoik asit olarak da bilinen α -lipoik asit (ALA) disülfid içeren bir maddedir ve mitokondride sentezlenir. ALA, mitokondriyal piruvat dehidrojenaz (PDH) kompleksindeki doğal bir koenzimdir. PDH kompleksi, piruvat ve α -ketoglutarat gibi α -keto asitlerin oksidatif dekarboksilasyonunu katalize eder (Dörsam & Fahrner, 2016). Ayrıca glikoz katabolizmasında çeşitli metabolik enzimleri düzenler (Liu, 2008). ALA, PDH kompleksinin E2 alt birimi içindeki bir lizin kalıntısının yan zinciri ile kovalent bir bağ oluşturur ve PDH enzim aktivitesini destekler (Guo vd., 2020). PDH kompleksi, glikolizden oksidatif fosforilasyona (OXPHOS) kritik geçiştir. Ayrıca, ALA'nın çeşitli kanser alt tiplerinde apoptozu teşvik ettiği bildirilmiştir (S. Park vd., 2015; Phiboonchaiyanan & Chanvorachote, 2017). ROS üretimini indükleyebilir ve kanser apoptozuna yol açabilir (S. J. Kim vd., 2019; Yan vd., 2020).

Şekil 8.

ALA'nın Optik İzomerlerinin Kimyasal Yapısı (Salehi et al., 2019)



ALA tek bir kiral merkez içerir ve her iki formda, yani R- ve S-enantiyomerlerinde bulunur. Öte yandan, yalnızca R-ALA, korunmuş lizin kalıntısına bağlı amiddir, bu da onu biyolojik sistemlerde önemli bir kofaktör haline getirir (Molz & Schröder, 2017). İnsan hücrelerinde, yağ asitleri sitoplazmada yağ asidi sentaz tip 1 (FAS-I) tarafından ve mitokondride yağ asidi sentaz tip 2 (FAS-II) tarafından de novo sentezlenir (White vd., 2005). Amit bağıyla lizin kalıntılarının ϵ -amino grubuna katıldığı için, ALA iki enantiyomerik (optik izomer) formda bulunur, S ve R izoformu oksidatif metabolizmanın mitokondriyal enzimleri için temel bir kofaktördür (Szeląg vd., 2012). R-ALA, enzimler tarafından bir kofaktör olarak kullanılır: piruvat dehidrojenaz (PDH), dallı zincirli α -keto-asit dehidrojenaz (KDH) ve α -ketoglutarat dehidrojenaz (KGDH) (McLain vd., 2013; Padmalayam vd., 2009). Piruvat dehidrojenaz, piruvatın geri dönüşümsüz oksidatif dekarboksilasyonunu sitrik asit döngüsünün bir bileşeni olan asetil koenzim A'ya (asetil-KoA) üç aşamada katalize eden üç enzimden oluşan bir multienzim kompleksidir (B. H. Hassan & Cronan, 2011).

İnsan vücudu de novo katabolizma yoluyla yalnızca sınırlı miktarda ALA üretebilir, bu nedenle ALA temel bir besin maddesi olarak düşünülmelidir. Proteinlerin enerji süreci, karbonhidratlar ve yağ metabolizmasında yer alır. Öte yandan, ALA, kükürt içerikli yapısı nedeniyle hemen hemen tüm serbest radikal formlarını (oksijen ve azot) temizleyen benzersiz bir antioksidan olarak kabul edilir. Dihidrolipoik asit (DHHLA) (indirgenmiş ALA formu), E vitamini, glutatyon ve askorbatı bu radikal formlardan geri kazanma eğilimindedir. DHHLA, bilişsel işlevler ve nöronal homeostaz için gerekli olan kolin asetiltransferaz (ChAT) aktivitesini potansiyel olarak artırır (Molz & Schröder, 2017).

Ayrıca, Nrf-2 ve NF- κ B'yi kodlayan spesifik genleri düzenleme yeteneği nedeniyle ALA, bir pleiotropik molekül olarak adlandırılır. ALA'nın etki mekanizmaları, sinyal iletim yollarının aktivasyonu üzerinde dolaylı olarak etki ettiğini gösterir (Salinthon vd., 2010). Siklik adenosin monofosfat (cAMP) gibi ikinci haberciler ile etkileşimler yoluyla oluşur. Pro-enflamatuar sitokinlerin salınımını inhibe ederek cAMP'de bir artışa neden olur. Ayrıca cAMP, kemokinlerden, sitokin reseptör inhibisyonundan, lipopolisakkarit (LPS) tarafından indüklenen enflamatuar araçların inhibisyonundan sorumlu olan bir anti-enflamatuar sitokinin (IL-10) üretimini teşvik eder. cAMP, düzenleyici alt birimlerine bağlanarak, katalitik alt birimleri inhibisyonundan serbest bırakarak ve çeşitli aşağı akış substratlarının fosforilasyonuna izin vererek protein kinaz A'yı (PKA) aktive eder. Mevcut çok çeşitli ligandlar ve GPCR'ler nedeniyle cAMP, PKA'yı aktive ederek birçok fizyolojik ve patolojik süreci düzenler. NF- κ B üzerindeki ALA eklenmesi ayrıca PGE2, iNOS, COX-2, IL-1 β , TNF- α ve IL-6'yı içeren enflamatuar araçların ifadelerini de etkiler (Collins vd., 1995; Khan vd., 2021, 2022). Histon asetilasyonunun disfonksiyonu, DNA metilasyonu ve miRNA'ların düzenlenmesi gibi epigenetik mekanizmalar, nörodejeneratif bozuklukların patolojisinde hayati bir rol oynar (Zhang & Frei, 2001).

Lipidden çözünen ALA, hücre zarlarında bulunabilen lipid peroksitler dahil olmak üzere serbest radikallerle mücadelede büyük ölçüde etkilidir. Suda çözünürlüğü, reaktif oksijen türlerini mitokondriyal kaynaklarında verimli bir şekilde temizlediği sitozole serbest erişim sağlar. Antioksidan potansiyeline ek olarak, ALA, indirgenmiş glutatyon (GSH) ve C vitamini de dahil olmak üzere endojen enzimatik olmayan antioksidanları yeniden üretebilir ve bu da E vitamini ve koenzim Q10'u geri dönüştürebilir (Biewenga vd., 1997).

Kısaca ALA, bitkiler, hayvanlar ve insanlardan üretilen ve doğada bulunan bir organosülfür bileşiğidir. Krebs döngüsünde, ALA, hücre için enerji üretiminde yer alan bazı enzimatik kompleksler için bir kofaktör olarak hareket ederek çeşitli kimyasal reaksiyonlarda önemli roller oynar. Ayrıca proteinlerle kovalent bağlar oluşturur ve terapötik potansiyele sahiptir. Tek bir kiral merkeze ve iki optik izomer ile sonuçlanan asimetrik karbona sahiptir: R- ve S- lipoik asit (Brookes vd., 1983). Böylece ALA, birbirinin ayna görüntüsü olarak kabul edilen S ve R enantiyomerleri olarak adlandırılan iki enantiyomerik forma sahiptir. Hem S hem de R enantiyomerleri ALA'da eşit olarak bulunur, ancak R izomerik formu doğal olarak

bulunurken S izomeri kimyasal işlemlerle hazırlanır. Gıdalar, proteinlerle kovalent bağlar oluşturan canlı organizmaların içinde doğal olarak üretilen R enantiyomerinin doğal bir kaynağıdır (Ghibu vd., 2009)

İnsan vücudu tarafından düşük miktarda sentezlenmesine rağmen üretilen ALA miktarları hücrenin enerji ihtiyacını karşılamaya yetmemektedir. Bu nedenle çoğunlukla diyetten, özellikle et ve sebzelerden elde edilir. Meyveler de bu asidin kaynağıdır. ALA, sebzeler (ıspanak, brokoli, domates) ve etler, özellikle iç organlar gibi diyet bileşenlerinde ve birçok diyet takviyesinde bulunur. ALA, oktanoik asit ve sisteinden (kükürt verici olarak) enzimatik reaksiyonlar yoluyla bitki ve hayvanların mitokondrilerinde de sentezlenebilir (Padmalayam vd., 2009; Szeląg vd., 2012).

ALA'nın özelliklerinden biri de kükürt içeren bir madde olmasıdır. Bu nedenle, bir tiyol bileşiği olarak kabul edilir. Memeli hücreleri, farklı klinik koşullarda aşağı regüle edilebilen mitokondri lipoik asit sentazın (LASY) etkisiyle ALA'yı sentezleyebilir (Padmalayam vd., 2009). ALA ve indirgenmiş formu DHLA, birçok reaktif oksijen türü için temizleme kapasitesine sahiptir. Sonuç olarak, güçlü doğal antioksidan ajanlar olarak kabul edilirler (Packer vd., 1995; Scott vd., 1994).

Alfa Lipoik Asidin Anti-Oksidan ve Anti-Enflamatuvar Özellikleri

Alzheimer hastalığı ve diyabetik polinöropati gibi bazı sinir sistemi patolojileri ortak özelliklere sahiptir: enflamasyon ve oksidatif stres. Bu patolojilerle ilgili enflamatuvar süreç, ROS ve NOS'un aşırı üretimini uyarabilir. Örneğin, makrofajlar tarafından üretilen oksijen ve nitrojen radikalleri, multipl sklerozda ve onun hayvan modeli olan deneysel otoimmün ensefalomyelitte demiyelinizasyon ve aksonal yaralanmanın aracısı olarak yer almıştır (Bö vd., 1994; Koprowski vd., 1993; van der Goes vd., 1998).

Lipoik asit hem antioksidan hem de anti-enflamatuvar etkilere sahiptir (Kermeoğlu vd., 2022; Saymer vd., 2020; Sehirli vd., 2019). Antioksidan etkilerin, glutatyon redüktaz gibi artan antioksidan enzimlere, indirgenmiş/oksidlenmiş glutatyon oranının restorasyonuna ve NADP⁺'nin azalmasına bağlı olduğu iyi bilinmektedir (M. Y. Chang vd., 2017).

Enflamasyonla ilişkili oksidatif stres, vasküler adezyon moleküllerinin yukarı modülasyonu dahil, ateroskleroz ile ilişkili erken vasküler olayları belirler. Bu olaylar, enflamatuvar süreçlerde ve endotel hücre göçünde yer alan birçok genin ekspresyonunu indükleyen bir transkripsiyon faktörü olan NF-κB'nin aktivasyonunu

gerektirir. ROS aracılı enflamasyon, NF- κ B, aktivatör protein 1 (AP-1) ve mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) aktivasyonunu indükler. NF- κ B aynı zamanda enflamatuar sitokinlerin üretimini kolaylaştırır: TNF- α , interlökin-(IL-) 6, siklooksijenaz 2 (COX-2) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS)(Román-Pintos vd., 2016). Oksidatif stres ayrıca hiperglisemi ile ilişkilidir ve viral enfeksiyonlar, patojenler ve radyasyon gibi diğer durumların varlığının I κ B'yi fosforile ettiğine ve bunun NF- κ B'nin bozulmasına, salınmasına ve aktivasyonuna yol açtığına inanılmaktadır. Bu sonuncusu, enflamasyon, vasküler adezyon ve monositlerin göçü ile ilişkili birkaç molekülün transkripsiyonunu indüklemek için çekirdeğe hareket eder (Yamamoto & Gaynor, 2001; Yaworsky vd., 2000).

ALA, NF- κ B'yi muhtemelen MAPK gibi yukarı akış kinazlarının modülasyonu yoluyla I κ B'nin degradasyonunu önlediği için veya I κ B'yi fosforile edebilen protein kinaz C'nin inhibisyonuyla sonuçlanan E vitamini yenileme gücü nedeniyle inhibe eder. ALA'nın bu son aktivitesi, antioksidan etkisinden bağımsız gibi görünmektedir. Bu nedenle, ALA'nın anti-enflamatuar etkileri, NF- κ B, TNF- α ve IL-6'dan gelen enflamatuar aktivitenin baskılanmasından ve artan anti-enflamatuar proteinlerden kaynaklanmaktadır (Packer, 1998; Ying vd., 2011).

ALA ve indirgenmiş formu DHLA, birçok reaktif oksijen türünü temizleme kabiliyetine sahip güçlü doğal antioksidanlar olarak kabul edilir (Moura vd., 2015; Packer vd., 1995, 2001; Scott vd., 1994).

ALA/DHLA tarafından yeniden üretilebilen diğer antioksidan maddeler arasında C vitamini, E vitamini ve indirgenmiş/oksidlenmiş glutatyon (GSH/GSSG) oranı yer alır (Szeląg vd., 2012). Glutatyon, glutamat, sistein ve glisin içeren bir kükürt tripeptittir (Newsholme vd., 2012). Biyosentezleri, sistini sisteine dönüştüren ALA/DHLA tarafından güçlendirilen bir substratın (sistein) mevcudiyetine ve ayrıca gen ekspresyonuna bağlıdır (Packer vd., 2001).

Sirkadiyen ritimlerle de bağlantılı olan GSH, yaşlanma, oksidatif denge ve kirletici detoksifikasyon gibi hücre içi süreçlerde çok sayıda işlevi yerine getirir (Wilking vd., 2013).

Periferik dokularda ve beyinde, ALA, 5' adenosin monofosfatla aktive olan protein kinazın (AMPK) (hipotalamus) aktivitesinde ve ifadesinde önemli bir rol oynar. AMPK, metabolizma, stres yanıtı, hücre döngüsü ve yaşlanma ile ilgili çok sayıda hücre içi yola katılan çok işlevli bir proteindir (Steinberg & Kemp, 2009). AMPK, LKB-1 ve Ca/kalmodulin bağımlı protein kinaz tarafından aktive edilen bir

hücrenel enerji sensörüdür. AMPK aktive edildiğinde, glukoneojenik enzimlerin sentezini, yağ asitlerinin sentezini ve metabolik yolların yukarı regülasyonunu destekleyen transkripsiyonel olaylar, glikoz ve yağ asidi oksidasyonu yoluyla ATP üretiminin artmasına neden olur (Zhou vd., 2001).

ALA ayrıca iskemi, hipoksi ve glukoz yoksunluğu gibi ATP üretimini engelleyen metabolik streslerin yanı sıra oksidatif strese yanıt olarak beyindeki AMPK aktivitesini de modüle edebilir (Ramamurthy & Ronnett, 2012).

Oksidatif stres, tümör oluşumunda önemli bir rol oynar (Durand & Mach, 2013). Umut verici sonuçlarla ALA, öncelikle çeşitli tümörigenez hücre tiplerinin deneysel çalışmalarında bir antikanser ajanı olarak kullanılmıştır (al Abdan, 2012; Feurecker vd., 2012; J. I. Kim vd., 2012; G. Mantovani vd., 2003; Michikoshi vd., 2013). Şimdiye kadar, bu eylemin altında yatan kesin moleküler mekanizmalar bilinmemektedir. Antioksidan aktivitesinin yanı sıra, bir başka olasılık da yakın zamanda akciğer hücrelerinde gösterildiği gibi hücrenel apoptozu indüklemeye kabiliyetine sahip olmasıdır (Michikoshi vd., 2013). Bu etkiler, endoplazmik retikulum stresi tarafından indüklenen kaspaz proteinlerinin aktivasyonundan kaynaklanabilir (G. Mantovani vd., 2003). Doğal olarak oluşan antioksidan ALA'nın çeşitli kanser hücre dizilerinde seçici olarak hücre ölümünü indükleyebildiği bulunmuştur (Dörsam & Fahrner, 2016; van de Mark vd., 2003).

NO, radikal ara madde üretmek için doğrudan indirgenmiş tiyol ile reaksiyona girer. Daha sonra oksijen gibi elektron alıcıları indirgenerek süperoksit anyonu (O_2^-) üretilir. İndirgenmiş tiyollerin bolluğu (indirgenmiş a-lipoik asit formu), S-nitrozotiyollerin oluşumunu kinetik olarak mümkün kılar. Bu koşullar altında, artan SOD aktivitesi, artan O_2^- 'yi nötralize etmek için bir geri besleme mekanizması olarak düşünülebilir. SOD ayrıca NO'yu bağlar ve nitrosonyum (NO^+) ve nitroksil (NO^-) türlerine bozunmasını uyarır. Aerobik koşullar altında, SOD'dan türetilen NO türleri, peroksinitrit oluşumunu başlatır. Peroksinitrit oluşumuna, önemli miktarlarda H_2O_2 oluşumu eşlik eder (Filipović vd., 2009). Çok sayıda araştırma, pleiotropik etkileriyle ALA'nın ilaca bağlı toksisiteyi hafifletmede doğal antioksidanların kullanımı çok dikkat çekiyor ve umut verici görünüyor (Singh vd., 2018). Bununla birlikte, ALA, zayıf suda çözünürlüğü, oral uygulamadan sonra kısa bir yarılanma ömrü (yaklaşık 30 μ /dk) ve düşük biyoyararlanımı ile karakterize edilir

ve bu nedenle etkili tıbbi kullanımını sınırlar. Ayrıca, ışık ve ısı altında kararsızdır ve kükürt içeriğinden dolayı bozunmasına hoş olmayan bir koku eşlik eder (Rageh & El-Gebaly, 2019). Çeşitli çalışmalar, etkili bir ALA nanoformülasyonu geliştirerek bu dezavantajların üstesinden geldiğini bildirdi (Gogoi vd., 2020).

BÖLÜM III

Yöntem

Bu bölümde araştırmanın modeline, araştırmanın çalışma grubuna, verilerin toplanması ve çözümlenmesine ve ortaya çıkan bulguların nasıl raporlaştırıldığına ilişkin bilgilere yer verilmiştir

Etik Kurul Onayı ve Çalışma Grupları

Araştırmanın etik onayı Yakın Doğu Üniversitesi Yerel Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'ndan alındı (Toplantı No 2019/01-17/1.2019 ve Toplantı No:2020/11-27/11/2020).

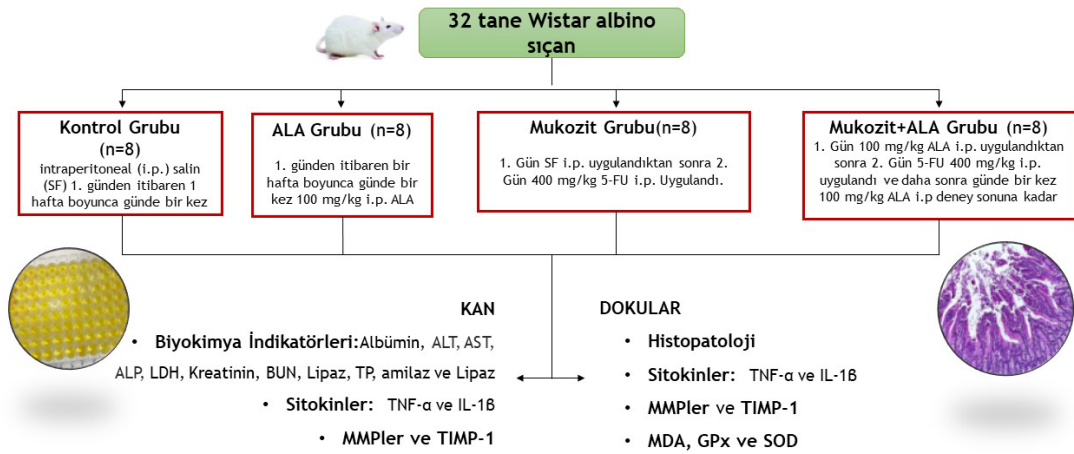
Çalışmada her iki cinsiyetten toplam 32 adet 200-250 g ağırlığındaki Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, Yakın Doğu Üniversitesi Deneyleti Hayvanları Araştırma Merkezinden (DEHAM) temin edildi. Sıçanlar, nem kontrollü odada (± 5), $+22 \pm 2$ °C sıcaklıkta, başlangıçtan itibaren 12:12 saat karanlık/aydınlık döngüsü olacak şekilde barındırıldı. Sıçanlar deney süresince *ad libitum* suya ve yeme erişti.

Çalışma gruplarını oluşturmak için sıçanlar her grupta 8 hayvan (n=8) olacak şekilde toplam 4 gruba yerleştirildi ve aşağıda belirtildiği şekilde uygulamalar gerçekleştirildi (Şekil 9).

- **Kontrol Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 1. günden itibaren 1 hafta boyunca günde bir kez sadece intraperitoneal (i.p.) salin (SF) uygulandı.
- **Alfa-lipoik asit (ALA) Grubu:** Herhangi bir işlem uygulanmadı ve bu gruptaki hayvanlara 1. günden itibaren bir hafta boyunca günde bir kez sadece 100 mg/kg i.p. ALA verildi (Şehirli, Şener, vd., 2008).
- **Mukozit Grubu:** Bu gruptaki hayvanlara 1. Gün SF i.p. uygulandıktan sonra 2. Gün 400 mg/kg 5-FU i.p. ve deneyin sonuna kadar günde bir kez SF yapıldı (S. H. Kim vd., 2018). Hayvanlar 1 hafta boyunca gözlemlendi.
- **Mukozit+ALAGrubu:** Bu gruptaki hayvanlara 1. Gün 100 mg/kg ALA i.p. uygulandıktan sonra 2. Gün 5-FU 400 mg/kg i.p. uygulandı ve daha sonra günde bir kez 100 mg/kg ALA i.p. deney sonuna kadar devam edildi. Hayvanlar 1 hafta boyunca gözlemlendi.

Şekil 9.

Çalışmanın Akış Şeması



Çalışma Materyallerinin Toplanması

Deney süresinin sonunda deneklere yüksek dozajda anestezik (Ketamin ve Ksilazin) verilerek bilinç kaybındayken dekapitasyon tekniği ile sakrifiye edildi. Laboratuvar analizi için en kısa süre içinde kan ve doku örnekleri (mide, ince ve kalın bağırsak) örnekler toplandı.

Kan numuneleri 5ml'lik serum separtör tüplerine alındı (BD Vacutaine SST Advance ref 367955). Yaklaşık 30 dakika beklemeden sonra Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi Tanı Laboratuvarı'nda 2000 x g'de 10 dakika santrifüj ederek serumlar ayrıldı (K241, BRK5324, Centurion Scientific, Chichester, BK). Daha sonra serum örnekleri analize kadar -80 °C'de saklandı.

Hem biyokimyasal hem de histopatolojik laboratuvar deneyleri için doku örnekleri (mide, ince bağırsak, kalın bağırsak) toplandı. Biyokimyasal analiz için örnekler alındıktan sonra eritrositler soğuk fizyolojik tuzlu su ile perfüze edilerek uzaklaştırıldı. Daha sonra dokular filtre kâğıdı ile kurutularak biyokimyasal ve histopatolojik analiz için iki ayrı parçaya ayrıldı. Biyokimyasal analiz için kullanılacak örnekler 50 mM fosfat tamponlu (pH 7.4) doku örnek kaplarına alınarak Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi Tanı Laboratuvarı'na aktarıldı. Histopatolojik inceleme için kullanılacak doku kesitleri %10 formaldehit içeren kaplara yerleştirildi ve Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Patoloji Laboratuvarına transfer edildi.

Dokuların Homojenizasyonu

Radyoimmünopresipitasyon deney tamponu (RIPA) lizis tamponu (ürün no. 10010263, parti no. 0490889-1, Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI, ABD) ve Dounce doku öğütücü seti (D8938, Lot No: 3110, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) kullanıldı.

Hayvanlardan alınan doku örnekleri 20-25 mg olacak şekilde anatilik terazide ölçüldü ve dounce doku öğütücü setinin tüp malzemesi içerisine alınıp üzerine 250 µL RIPA lizis tamponu eklendi ve buz üzerinde öğütücü malzeme ile homojenizasyon işlemi yapıldı. Daha sonra homojenatlar, 1,5 mL hacimli mikrosantrifüj tüplerine alındı ve +4 °C'de 10000 x g'de 10 dakika santrifüjlemeye tabi tutuldu (MIKRO 200R, Hettich, Tuttlingen, Almanya) ve süpernatantlar porsiyonlara ayrılarak analiz öncesine kadar -80 °C'de saklandı. Analiz öncesinde ise önce -80 °C'den -18 °C'ye ardından +4 °C'ye son olarak da oda sıcaklığına alındı ve kademeli olarak çözdürülüp deneyler yapıldı. Doku homojenatlarının protein konsantrasyonları iki kopya olacak şekilde Bradford metodu ölçüldü (Bradford, 1976).

Bradford Protein Tayin Yöntemi

Bradford testi, Coomassie Brilliant Blue G250 boyasının proteine bağlanması esasına dayanır. Asidik test reaktif çözeltisinde baskın olan boyanın üç yüklü formundan, daha katyonik olan kırmızı ve yeşil formlar, sırasıyla 470 nm ve 650 nm'de absorbans maksimumlarına sahiptir. Buna karşılık, proteine bağlanan boyanın daha anyonik mavi formu, 590 nm'de maksimum bir absorbansa sahiptir. Böylece mavi iyonik formdaki boya miktarı belirlenerek protein miktarı tespit edilebilir. Bu da çözeltinin absorbansının 595 nm'de ölçülmesiyle elde edilir (Bradford, 1976) .

Deneyde kullanıma hazır Bradford reaktifi (Cat. B6916 Sigma Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile gerçekleştirildi ve deney öncesinde oda sıcaklığına getirildi. İlk önce mikropalakaya 250 µL Bradford reaktifi ardından 5 µL numune kuyucuklara konuldu. Daha sonra karanlık ortamda 10 dakikalık bir inkübasyon sonrasında örnekler 595 nm'de spektrofotometrede (Molecular Devices VersaMax Microplate Reader, S/N BNR06322, California, ABD) okutuldu.

Serum Biyokimya İndikatörleri

Serum biyokimya indikatörleri kullanıma hazır test kitleri ile ölçüldü. Ölçümler otomatik klinik biyokimya analizöründe (BS-240VET, Mindray, Shenzhen, Çin) tüm örnekler için iki kopya olacak şekilde kit üreticilerinin cihaz aplikasyon belgelerinde belirtilen direktifleri doğrultusunda yapıldı.

Total Protein (Ref. D00686, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya).

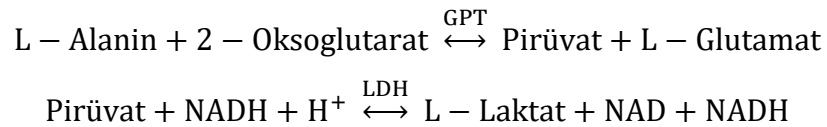
Testin prensibi biüret yöntemine dayanmaktadır. Bu yöntemde proteinler, alkali çözeltide bakır iyonları ile menekşe mavisi bir renk kompleksi oluşturur. Bu renkli kompleksin 540 nm’de okutulup absorbansı numunedeki protein konsantrasyonuna doğru orantılıdır.

Albümin (Ref. D00205, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Test

prensibine göre hafif asit pH’da bromokresol yeşili varlığında, serum albümini, indikatörün sarı-yeşilden yeşil-maviye bir renk değişikliğine neden olur. Mavi-yeşil rengin yoğunluğu, 578 nm’de okutulup absorbansı numunedeki albümin konsantrasyonu ile orantılıdır.

ALT (Alanin aminotransferaz) (Ref. D00640, Dialab GmbH, Wiener

Neudorf, Avusturya). Testin prensibine göre 340 nm’de absorbansta ortaya çıkan azalma, numunedeki GPT aktivitesi ile doğru orantılıdır. Bu, IFCC (Uluslararası Klinik Kimya Federasyonu) tarafından önerilen GPT testi için değiştirilmiş bir formülasyondur. Piridoksal fosfat (P-5-P) içeren IFCC referans yöntemleri. P-5-P, AA transferinde bir koenzim olarak işlev görür ve transaminaz aktivitesini stabilize eder.

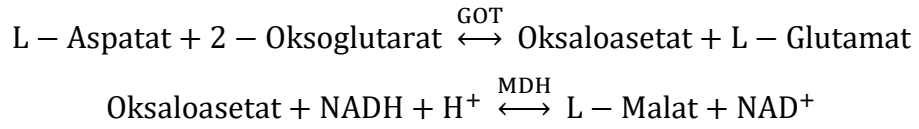


ALP (Alkalin fosfataz) (Ref. D00523, Dialab GmbH, Wiener Neudorf,

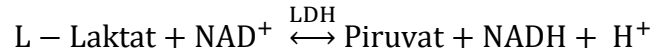
Avusturya). Alkali koşul altında, renksiz p-nitrofenol, çok yoğun bir sarı renk geliştiren 4 nitrofenokside dönüştürülür. Yoğunluğu, 405 nm’de okutulup absorbansı numunedeki alkalin fosfatazın aktivitesi ile orantılıdır.



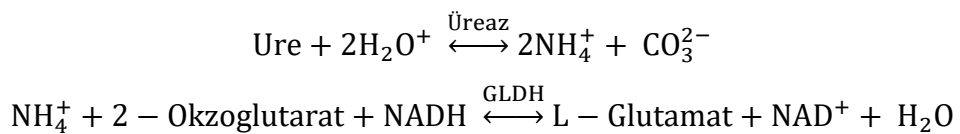
AST (Aspartat transaminaz) (Ref. D00678, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Testin prensibi IFCC tarafından önerilen GOT testi için değiştirilmiş bir formülasyondur. IFCC referans yöntemi, piridoksal-5'-fosfat (P-5-P) içerir. P-5-P, AA transferinde koenzim görevi görür ve transaminazların aktivitesini stabilize eder. Bu nedenle, P-5-P'nin eklenmesi, yetersiz endojen P-5-P içeren numunelerde hatalı olarak düşük değerleri önler. Yoğunluğu, 340 nm'de okutulup absorbansı numunedeki aspartat transaminaz aktivitesi ile orantılıdır.



LDH (Laktat dehidrogenaz) (Ref. D00664, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). LDH'nin, hidrojen alıcısı NAD^+ 'nin aracılık ettiği, L-laktatın pirüvata tersinir oksidasyonuna yol açan katalitik özelliği, LDH aktivitesinin ölçümünde temel olarak kullanılır. 340 nm'de fotometrik olarak ölçülen numunenin optik yoğunluğunu değiştiren NADH üretim hızı değerlendirilir.



Üre (Ref. 413925, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Üre, amonyak ve karbondioksit üretmek için su ve üreaz varlığında hidrolize edilir. Modifiye edilmiş bir Berthelot reaksiyonunda amonyum iyonları, yeşil bir boya oluşturmak için hipoklorit ve salisilat ile reaksiyona girer. 578 nm'de absorbans artışı, numunedeki üre konsantrasyonu ile orantılıdır. GLDH reaksiyonundan kaynaklanan absorbanstaki azalma, numunedeki üre konsantrasyonu ile orantılıdır.

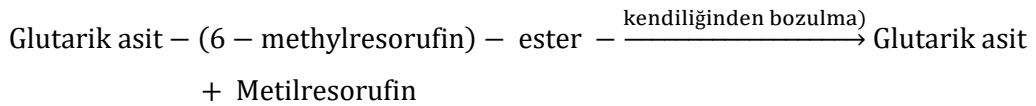
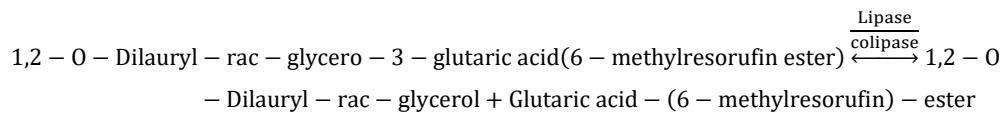


Şekil 10.

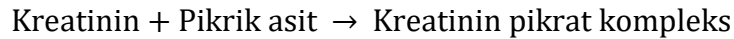
Dialab Üre Test Kiti



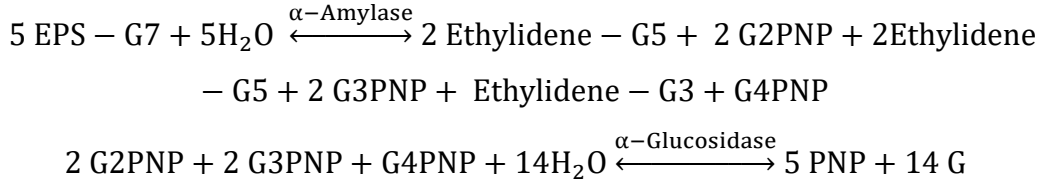
Lipaz (Ref. D0440, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Aşağıdaki test reaksiyonları esasına dayalı olarak gerçekleşen deney prosedürü sonrasında 578 nm’de fotometrik olarak okuma yapıldı ve hesaplandı.



Kreatinin (Ref. D00617, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Kreatinin, bir alkalik pikrat çözeltisi içinde renkli turuncu-kırmızı bir kompleks oluşturur. Dönüşüm sırasında sabit zamanlarda absorbanstaki fark, numunedeki kreatinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Deney sonuçları 510 nm’de okutulmuş olarak hesaplandı.



Alfa-Amilaz (Ref. 355911, Dialab GmbH, Wiener Neudorf, Avusturya). Aşağıda verilen test reaksiyonları esasına dayalı olarak gerçekleşen deney prosedürü sonrasında 405 nm’de okuma yapıldı ve hesaplandı.



Pro-enflamatuar Sitokinlerin Ölçümü

Pro-enflamatuar sitokinlerden TNF- α ve IL-1 β düzeyleri hem serum hem de doku örneklerinde sıçan spesifik enzim immunoassay deney kitleri kullanılarak mikropalaklarda çalışıldı. Örnekler çift kopya olacak şekilde çalışıldı ve deney prosedürleri sırasında yıkama işlemleri otomatik mikropalaka yıkayıcısında yapıldı (MW-12A, Mindray, Shenzhen, Çin). Deney sonunda örneklerin absorbansları da mikropalaka okuyucudan (MR-96A, Mindray, Shenzhen, Çin) elde edildi ve sonuçlar hesaplandı.

IL-1 β

Sıçan spesifik deney kiti kullanıldı (ELR-IL-1 β , RayBiotech, RayBiotech Life Inc. Norcross, ABD). Bu tekniğin esası rat spesifik IL-1 β 'ya özgü antikor kullanılmak suretiyle örneklerdeki interlökin-1 β düzeylerinin tespit ve miktarının belirlenmesidir. Buna göre 96 kuyucuk içeren bir plaka üzerinde kaplanmış IL-1 β 'ya özgü bir antikor kullanılır. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlenir ve numunelerde bulunan IL-1 β , hareketsizleştirilmiş antikor tarafından kuyucuğa bağlanır. Daha sonraki aşamada ise kuyucuklar yıkanır ve biyotin eklenir ve anti-RatIL-1 β antikor eklenir. Bağlanmamış biyotinlenmiş antikor yıkadıktan sonra, HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve bir içlerine TMB substrat solüsyonu eklenir daha sonra bağlı IL-1 β miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya değiştirir ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür.

Deney reaktiflerinin hazırlanması

1. Bütün kimyasallar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (18-25°C).
2. Test dilüent B (madde E) Bire beş oranında distile su ile dilüe edildi
3. Örneklerin hazırlanması Test dilüent A (madde D) ile serumların bire iki oranında dilüe edildi. Test dilüent B (madde E) ile birebir oranında süpernatantlar dilüe edildi.

4. Standartların hazırlanması vialin içinde olan madde içine 400 µl test dilüent A (serumlar için) birebir oranında, dilüent B ise süpernatantlar için hazırlanarak Madde C nin içerisinde eklenir ve 50000 pg/mL lik bir standart elde edilir. Tozun çözünmesi için yavaşça karıştırıldı ve çözünmesi beklendi. Test dilüent A dan 260 µl bütün tüplerin içine eklendi. Standartları hazırlarken seri dilüsyon işlemi yapıldı. Test dilüent A sıfırıncı standart olarak kullanıldı (0 pg/mL).
5. Yıkama solüsyonunu 20 kat distile su ile dilüsyon yapıldı.
6. Tespit edici antikor olan (madde F) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. Şişenin içerisine 100 µl test dilüent B (madde E) eklenerek karıştırıldı. Tespit edici antikorun konsantrasyonu 80 kat test dilüent B (madde E) ile İşlem prosedürü ile kullanılır.
7. HRP-Stepravidin konsantre edilmiş (madde G) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. 200 Kat test dilüent B (madde E) dilüsyon edildi ve iyi bir şekilde karıştırıldı.

Deney prosedürü

1. Bütün reaktifler, standartlar ve örnekler oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Bütün standartlar ve örneklerinde çift şekilde çalışıldı.
2. Bütün etiketleri kuyucuklardan çıkartıldı.
3. Hazırlama adımındaki gibi hazırlanmış standartları ve örnekleri kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 2 buçuk saat boyunca inkübe edildi.
4. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve otomatik mikropkaya yıkayıcısı ile 4 defa yıkama işlemi yapıldı. Kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi.
5. Her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanmış biyotinli antikor (aşama 6) eklendi. Kuyucukluların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak bir saat boyunca inkübe edildi.
6. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
7. Hazırlanmış olan strepravidin solüsyonu (madde 7) her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 45 dakika boyunca inkübe edildi.

8. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
9. TMB one-step substrate reaktifini (madde h) 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucukların üzerleri kapatılarak karanlıkta ve hafif şekilde çalkalanacak biçimde 30 dakika boyunca inkübe edildi.
10. En son aşamada ise stop solüsyonu (madde I) her bir kuyucuğa eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutularak sonuçlar hesaplandı.

TNF-α

Sıçan spesifik deney kiti kullanılarak (ELR-TNF-α, RayBiotech Life Inc. Norcross, ABD) ölçüm yapılmıştır. Bu tekniğin esası rat spesifik TNF-α'ya özgü antikor kullanılmak suretiyle örneklerdeki TNF-α düzeylerinin tespit ve miktarının belirlenmesidir. Buna göre 96 kuyucuk içeren bir plaka üzerinde kaplanmış TNF-α'ya özgü bir antikor kullanılır. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlenir ve numunelerde bulunan TNF-α, hareketsizleştirilmiş antikor tarafından kuyucuğa bağlanır. Daha sonraki aşamada ise kuyucuklar yıkanır ve biyotin eklenir anti-Rat TNF-α antikor eklenir. Bağlanmamış biyotinli antikor yıkadıktan sonra, HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve bir içlerine TMB substrat solüsyonu eklenir ve bağlı TNF-α miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya değiştirir ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür.

Deney Reaktiflerinin Hazırlanması.

1. Bütün kimyasallar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (18-25°C).
2. Test dilüent B (madde E) Bire beş oranında distile su ile dilüe edildi.
3. Örneklerin hazırlanması Test dilüent A (madde D) ile serumların bire iki oranında dilüe edildi. Test dilüent B (Madde E) ile birebir oranında süpernatantlar dilüe edildi.
4. Standartların hazırlanması vialin içinde olan Madde içine 400 µl test dilüent A (serumlar için) birebir oranında, dilüent B ise süpernatantlar için hazırlanarak Madde C'nin içerisinde eklenir ve 100 ng/mL'lik bir standart elde edilir Tozu çözünmesi için yavaşça karıştırıldı ve çözünmesi beklendi. Test dilüent A dan 400 µl bütün tüplerin içine eklendi. Standartları hazırlarken seri

dilüsyon işlemi yapıldı. Test dilüent A sıfırncı standart olarak kullanıldı (O pg/mL).

5. Yıkama solüsyonunu 20 kat distile su ile dilüsyon yapıldı.
6. Tespit edici antikor olan (madde F) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. Şişenin içerisine 100 µl test dilüent B (madde E) eklememiz karıştırıldı. Tespit edici antikorun konsantrasyonu 80 kat test dilüent B (madde E) ile 6. İşlem prosedürü ile kullanılır.
7. HRP-Stepravidin konsantre edilmiş (madde G) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. 200 kat test dilent B (madde E) dilüsyon edildi ve iyi bir şekilde karıştırıldı.

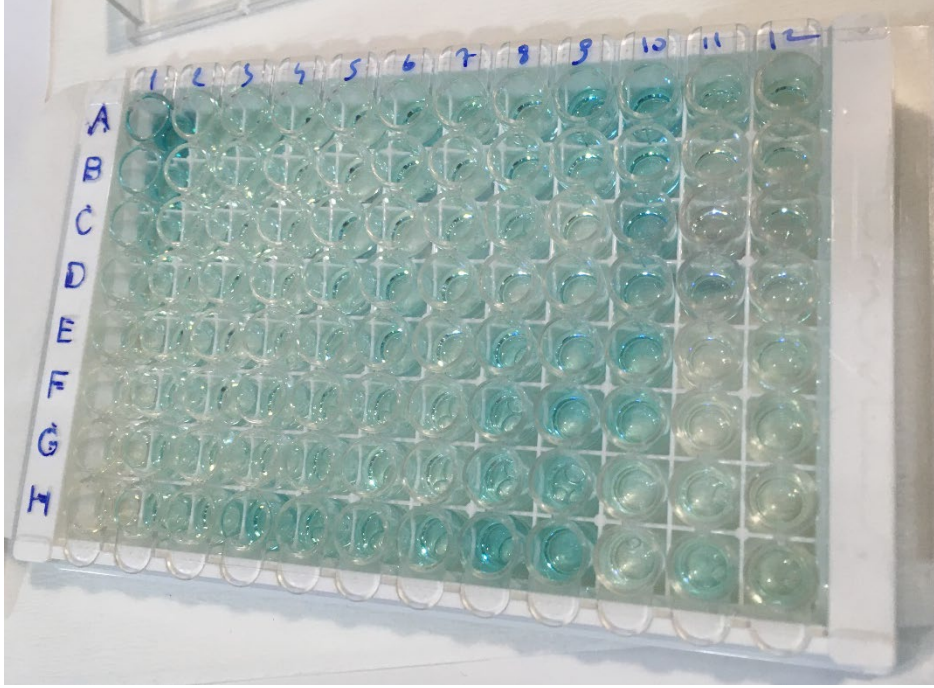
Deney prosedürü

1. Bütün reaktifler, standartlar ve örnekler oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Bütün standartlar ve örneklerinde çift şekilde çalışıldı.
2. Bütün etiketleri kuyucuklardan çıkartıldı.
3. Hazırlama adımındaki gibi hazırlanmış standartları ve örnekleri kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 2 buçuk saat boyunca inkübe edildi.
4. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve otomatik mikropkaya yıkayıcısı ile 4 defa yıkama işlemi yapıldı. Kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi.
5. Her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanmış biyotinli antikor (aşama 6) eklendi. Kuyucukluların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak bir saat boyunca inkübe edildi.
6. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'deki gibi yıkama işlemi yapıldı.
7. Hazırlanmış olan strepravidin solüsyonu (madde 7) her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 45 dakika boyunca inkübe edildi.
8. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'deki gibi yıkama işlemi yapıldı.
9. TMB one-step substrate reaktifini (madde h) 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucukların üzerleri kapatılarak karanlıkta ve hafif şekilde çalkalanacak biçimde 30 dakika boyunca inkübe edildi.

10. En son aşamada ise stop solüsyonu (madde I) her bir kuyucuğa eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutulularak sonuçlar hesaplandı

Şekil 11.

TNF- α Çalışması Sırasında Substrat Aşaması



Matriks Metalloproteinazlar (MMP) ve TIMP-1 Seviyelerinin Ölçümü

Matriks metalloproteinlerden MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 düzeyleri hem serum hem de doku örneklerinden sıçan spesifik enzim immunoassay deney kitleri kullanılarak belirlendi. Örneklerle uygulanan deney prosedürü çift kopya olacak şekilde yürütüldü. Testlerin yıkama işlemleri otomatik mikroparka yıkayıcısında yapıldı (MW-12A, Mindray, Shenzhen, Çin). Deney sonunda örneklerin absorbansları da mikroparka okuyuculardan (MR-96A, Mindray, Shenzhen, Çin) elde edildi ve sonuçlar hesaplandı.

MMP-1

Sıçan spesifik Sandviç-ELISA esaslı deney kiti kullanıldı (E-EL-R0617, Elabscience, Wuhan, Çin). Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası, Rat MMP-1'e

özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, uygun ELISA mikro plaka kuyucuklarına eklenerek spesifik antikor ile birleştirildi. Ardından, Rat MMP-1 ve Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş tespit antikorları, her bir mikro plaka kuyucuğuna art arda eklenerek inkübe edildi. İnkübasyondan sonra serbest bileşenler yıkandı. Daha sonra her kuyucuğa Substrat Reaktif eklendi, sadece sıçan MMP-1, biyotinlenmiş saptama antikor ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyucuklarda mavi renk elde edildi. Enzim substrat reaksiyonu, Durdurma Solüsyonu eklenerek sonlandırıldı ve örneklerde sarı renkte tespit edildi. Optik yoğunluk (OD), 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçüldü. OD değeri, sıçan MMP-1 konsantrasyonu ile orantılı bulundu. Numunelerdeki sıçan MMP-1 konsantrasyonu, numunelerin OD'si standart eğri ile karşılaştırılarak hesaplandı.

Reaktif Hazırlama

1. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirildi.
2. Yıkama tamponu: 750 mL yıkama tamponu hazırlamak için 30 mL konsantre yıkama tamponunu distile suyla seyreltili.
3. Standart çalışma solüsyonu: standardı 10.000 \times g'de 1 dakika santrifüj edildi. 1,0 mL referans standart ve numune seyreltici eklendi. Bu sulandırma, 10 ng/mL'lik bir stok solüsyon üretildi. Daha sonra gerektiği gibi seri dilüsyonlar yapıldı. Önerilen dilüsyon gradyanı şu şekildedir: 10, 5, 2,5, 1,25, 0,63, 0,31, 0,16, 0 ng/mL. Seyreltme yöntemi: 7 mikrosantrifüj tüpüne alındı, her tüpe 500 μ L referans standart ve örnek seyreltici eklendi. İlk tüpe 500 μ L 10 ng/mL stok solüsyonu pipetlendi ve 5 ng/mL stok solüsyonu üretmek için karıştırıldı. Bu adıma göre sırayla önceki tüpten ikinci tüpe 500 μ L solüsyon pipet ile çekildi.
4. Biyotinlenmiş saptama antikor çalışma solüsyonu: deneyden önce gerekli miktarı karar verildi (100 μ L/kuyucuk). Kullanmadan önce stok tüpü santrifüj yapıldı, 100 \times konsantre biyotinlenmiş Saptama antikor Biyotinlenmiş Saptama Ab Seyreltici ile 1 \times çalışma solüsyonuna seyreltili.
5. Konsantre HRP Konjugat çalışma solüsyonu: Deneyden önce gerekli miktarı hesaplanıldı (100 μ L/kuyu). 100 \times Konsantre HRP Konjugatı Konsantre HRP Konjugat seyreltici ile 1 \times çalışma solüsyonuna seyreltili.

Test Prosedürü

1. İlk iki sütuna farklı konsantrasyonlarda standart çalışma solüsyonu eklendi: Solüsyonun her konsantrasyonu yan yana duplike olarak iki kuyucuğa eklendi (her kuyu için 100 µL). Diğer kuyulara numune eklenildi (her kuyu için 100 µL). 37°C’de 90 dakika inkübe edildi. Not: Çözeltiler mikro ELISA plakasının dibine eklenmesine, mümkün olduğunca iç duvara değmemesine ve köpürmemesine dikkat edildi.
2. İnkubasyondan işlemi ardından her kuyucuğunun içeriği dökülüp, daha sonra her kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş saptama antikorlu çalışma solüsyonu eklendi. 37°C’de 1 saat inkübe edildi.
3. Kuyucukların içindeki reaktif dökülür ve yıkama adımları, otomatik mikro plaka yıkayıcısı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 350 µl her bir kuyucuğu 3 defa boyunca yıkandı, kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi
4. Her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu pipetlendi. Plaka kapatici ile kaplanarak 37°C’de 30 dakika inkübe edildi.
5. Her kuyudan solüsyonlar aspire edildi, 3. adımda yürütüldüğü gibi yıkama işlemi beş kez tekrarlandı.
6. Her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktif eklendi. 37°C’de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi, ancak 30 dakika beklendi.
7. Her kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu eklendi.
8. Mikroplaka okuyucusu tarafından 450 nm dalga boyunda okutulup kaydedildi.

MMP-2

MMP-2 ölçümü enzim immunoassay tekniği ile rat spesifik deney kiti (ELR-MMP2, RayBiotech Life Inc. Norcross, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Bu tekniği esası rat spesifik MMP-2 özgü antikor kullanılmak suretiyle örneklerdeki MMP-2 düzeylerinin tespit ve miktarının belirlenmesidir. Buna göre 96 kuyucuk içeren bir plaka üzerinde kaplanmış MMP-2’ya özgü bir antikor kullanılır. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlenir ve numunelerde bulunan MMP-2, hareketsizleştirilmiş antikor tarafından kuyucuğa bağlanır. Daha sonraki aşamada ise kuyucuklar yıkanır ve biyotin eklenir anti-Rat MMP-2 antikor eklenir.

Bağlanmamış biyotinlenmiş antikoru yıkadıktan sonra, HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve bir içlerine TMB substrat solüsyonu eklenir ve bağlı MMP-2 miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya değiştirir ve rengin yoğunluğu 450 nm’de ölçülür.

Deney Reaktiflerinin Hazırlanması.

1. Bütün kimyasallar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi(18-25°C).
2. Test dilüent B (madde E) bire beş oranında distile su ile dilüe edildi.
3. Örneklerin hazırlanması test dilüent A (madde D) ile serumların bire iki oranında dilüe edildi. Test dilüent B (madde E) ile birebir oranında süpernatantlar dilüe edildi.
4. Standartların hazırlanması vialin içinde olan madde içine 600 µl test dilüent A (serumlar için) birebir oranında, dilüent B ise süpernatantlar için hazırlanarak madde C’nin içerisinde eklenir ve 150 ng/mL’lik bir standart elde edilir. Tozu çözünmesi için yavaşça karıştırıldı ve çözünmesi beklendi. Test dilüent A dan 300 µl bütün tüplerin içine eklendi. Standartları hazırlarken seri dilüsyon işlemi yapıldı. Test dilüent A sıfırcı standart olarak kullanıldı (0 pg/mL).
5. Yıkama solüsyonunun 20 kat distile su ile dilüsyon yapıldı.
6. Tespit edici antikor olan (madde F) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. Şişenin içerisine 100 µl test dilüent B (madde E) eklenip karıştırıldı. Tespit edici antikoron konsantrasyonu 80 kat test dilüent B (madde E) ile İşlem prosedürü ile kullanılır.
7. HRP-Stepravidin konsantre edilmiş (madde G) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. 200 kat test dilent B (madde E) dilüsyon edildi ve iyi bir şekilde karıştırıldı.

Deney Prosedürü:

1. Bütün reaktifler, standartlar ve örnekler oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Bütün standartlar ve örneklerinde çift şekilde çalışıldı.
2. Bütün etiketleri kuyucuklardan çıkartıldı.
3. Hazırlama adımındaki gibi hazırlanmış standartları ve örnekleri kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 2 buçuk saat boyunca inkübe edildi.

4. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve otomatik mikropkaya yıkayıcısı ile 4 defa yıkama işlemi yapıldı. Kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi.
5. Her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanmış biyotinli antikor (aşama 6) eklendi. Kuyucukluların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak bir saat boyunca inkübe edildi.
6. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
7. Hazırlanmış olan streptavidin solüsyonu (madde 7) her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 45 dakika boyunca inkübe edildi.
8. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
9. TMB one-step substrate reaktifini (madde h) 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucukların üzerleri kapatılarak karanlıkta ve hafif şekilde çalkalanacak biçimde 30 dakika boyunca inkübe edildi.
10. En son aşamada ise stop solüsyonu (madde I) her bir kuyucuğa eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutularak sonuçlar hesaplandı.

Şekil 12.

MW-12A Mikropkaya Yıkayıcısı



MMP-8

Sıçan spesifik deney kiti (ELR-MMP8 RayBiotech Life Inc. Norcross, ABD) kullanılmıştır. Bu tekniği esası rat spesifik MMP-8 özgü antikor kullanılmak suretiyle örneklerdeki MMP-8 düzeylerinin tespit ve miktarının belirlenmesidir. Buna göre 96 kuyucuk içeren bir plaka üzerinde kaplanmış MMP-8'ye özgü bir antikor kullanılır. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlenir ve numunelerde bulunan MMP-8, hareketsizleştirilmiş antikor tarafından kuyucuğa bağlanır. Daha sonraki aşamada ise kuyucuklar yıkanır ve biyotin eklenir anti-Rat MMP-8 antikoru eklenir. Bağlanmamış biyotinlenmiş antikoru yıkadıktan sonra, HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve bir içlerine TMB substrat solüsyonu eklenir ve bağlı MMP-8 miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya değiştirir ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür.

Deney Reaktiflerinin Hazırlanması:

1. Bütün kimyasallar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (18-25°C).
2. Test dilüent B (madde E) Bire beş oranında distile su ile dilüe edildi.
3. Örneklerin hazırlanması Test dilüent A (madde D) ile serumların bire iki oranında dilüe edildi. Test dilüent B (madde E) ile birebir oranında süpernatantlar dilüe edildi.
4. Standartların hazırlanması vialin içinde olan Madde içine 400 µl test dilüent A (serumlar için) birebir oranında, dilüent B ise süpernatantlar için hazırlanarak madde C'nin içerisinde eklenir ve 200 ng/mL'lik bir standart elde edilir. Tozu çözünmesi için yavaşça karıştırıldı ve çözünmesi beklendi. Test dilüent A dan 400 µl bütün tüplerin içine eklendi. Standartları hazırlarken seri dilüsyon işlemi yapıldı. Test dilüent A sıfırıncı standart olarak kullanıldı (0 pg/mL).
5. Yıkama solüsyonunu 20 kat distile su ile dilüsyon yapıldı.
6. Tespit edici antikor olan (madde F) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. Şişenin içerisine 100 µl test dilüent B (madde E) eklenip karıştırıldı. Tespit edici antikorun konsantrasyonu 80 kat test dilüent B (madde E) ile İşlem prosedürü ile kullanıldı.

7. HRP-Stepravidin konsantre edilmiş (madde G) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. 200 Kat test dilent B (madde E) dilüsyon edildi ve iyi bir şekilde karıştırıldı.

Deney Prosedürü

1. Bütün reaktifler, standartlar ve örnekler oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Bütün standartlar ve örneklerinde çift şekilde çalışıldı.
2. Bütün etiketleri kuyucuklardan çıkartıldı.
3. Hazırlama adımındaki gibi hazırlanmış standartları ve örnekleri kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 2 buçuk saat boyunca inkübe edildi.
4. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve otomatik mikropkaya yıkayıcısı ile 4 defa yıkama işlemi yapıldı. Kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi.
5. Her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanmış biyotinli antikor (aşama 6) eklendi. Kuyucukluların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak bir saat boyunca inkübe edildi.
6. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
7. Hazırlanmış olan strepravidin solüsyonu (madde 7) her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 45 dakika boyunca inkübe edildi.
8. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
9. TMB one-step substrate reaktifini (madde h) 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucukların üzerleri kapatılarak karanlıkta ve hafif şekilde çalkalanacak biçimde 30 dakika boyunca inkübe edildi.
10. En son aşamada ise stop solüsyonu (madde I) her bir kuyucuğa eklendi ve 450 nm dalga boyunda okuttularak sonuçlar hesaplandı.

TIMP-1

Sıçan spesifik deney kiti (ELR-TIMP-1 RayBiotech Life Inc. Norcross, ABD) kullanılmıştır. Bu tekniğin esası rat spesifik TIMP-1 özgü antikor kullanılmak suretiyle örneklerdeki TIMP-1 düzeylerinin tespit ve miktarının belirlenmesidir.

Buna göre 96 kuyucuk içeren bir plaka üzerinde kaplanmış TIMP-1'e özgü bir antikor kullanılır. Daha sonraki aşamada ise kuyucuklar yıkanır ve biyotin eklenir anti-TIMP-1 antikor eklenir. Bağlanmamış biyotinlenmiş antikor yıkadıktan sonra, HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve bir içlerine TMB substrat solüsyonu eklenir ve bağlı TIMP-1 miktarı ile orantılı olarak renk oluşur. Durdurma solüsyonu rengi maviden sarıya değiştirir ve rengin yoğunluğu 450 nm'de ölçülür.

Deney Reaktiflerinin Hazırlanması.

1. Bütün kimyasallar ve örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi (18-25°C).
2. Test dilüent B (madde E) bire beş oranında distile su ile dilüe edildi.
3. Örneklerin hazırlanması Test dilüent A (madde D) ile serumların bire iki oranında dilüe edildi. Test dilüent B (madde E) ile birebir oranında süpernatantlar dilüe edildi.
4. Standartların hazırlanması vialin içinde olan madde içine 400 µl test dilüent A (serumlar için) bire beş oranında, dilüent B ise süpernatantlar için hazırlanarak madde C'nin içerisinde eklenir ve 50 ng/mL'lik bir standart elde edilir. Tozu çözünmesi için yavaşça karıştırıldı ve çözünmesi beklendi, 30 µl TIMP-1 standartlından madde C'lik alınıp tüpün içinde 470 µl assay dilüent A (serumlar için) assay dilüent B ise dokular için hazırlandı ve 3000 pg/mL stock standart elde edildi. Test dilüent A dan 400 µl bütün tüplerin içine eklendi. Standartları hazırlarken seri dilüsyon işlemi yapıldı. Test dilüent A sıfırcı standart olarak kullanıldı (0 pg/mL).
5. Yıkama solüsyonunu 20 kat distile su ile dilüsyon yapıldı.
6. Tespit edici antikor olan (madde F) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. Şişenin içerisine 100 µl test dilüent B (madde E) eklenerek karıştırıldı. Tesbit edici antikorun konsantrasyonu 80 kat test dilüent B (madde E) ile 6. İşlem prosedürü ile kullanılır.
7. HRP-Stepravidin konsantre edilmiş (madde G) kullanmadan önce yavaş bir şekilde kullanılmadan karıştırıldı. 200 kat test dilüent B (madde E) dilüsyon edildi ve iyi bir şekilde karıştırıldı.

Deney Prosedürü

1. Bütün reaktifler, standartlar ve örnekler oda sıcaklığına gelmesi için beklendi. Bütün standartlar ve örneklerinde çift şekilde çalışıldı.
2. Bütün etiketleri kuyucuklardan çıkartıldı.
3. Hazırlama adımındaki gibi hazırlanmış standartları ve örnekleri kuyucuklara 100 µl olacak şekilde eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 2 buçuk saat boyunca inkübe edildi.
4. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve otomatik mikropilaya yıkayıcısı ile 4 defa yıkama işlemi yapıldı. Kuyucukların içerisinde kalıntı kalmamasına özen gösterildi.
5. Her bir kuyucuğa 100 µl hazırlanmış biyotinli antikor (aşama 6) eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak bir saat boyunca inkübe edildi.
6. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
7. Hazırlanmış olan streptavidin solüsyonu (madde 7) her bir kuyucuğa 100 µl eklendi. Kuyucukların üzerleri kapandı ve hafif şekilde çalkalayıcıya koyarak 45 dakika boyunca inkübe edildi.
8. Kuyucukların içindeki reaktif döküldü ve madde 4'teki gibi yıkama işlemi yapıldı.
9. TMB one-step substrate reaktifini (madde h) 100 µl her bir kuyucuğa eklendi. Kuyucukların üzerleri kapatılarak karanlıkta ve hafif şekilde çalkalanacak biçimde 30 dakika boyunca inkübe edildi.
10. En son aşamada ise stop solüsyonu (madde I) her bir kuyucuğa eklendi ve 450 nm dalga boyunda okutulularak sonuçlar hesaplandı.

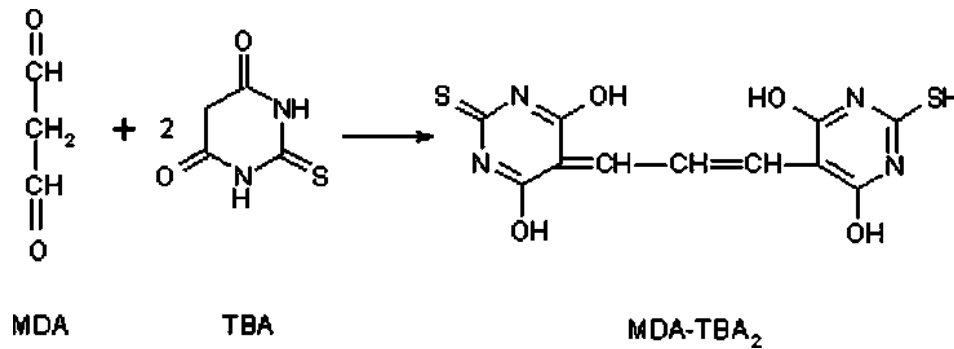
Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi

Malondialdehit (MDA) düzeyleri ticari hazır kit kullanılarak belirlenmiştir (TBARS Assay Kit, 1009055, Cayman Chemicals, Ann Arbor, Michigan, ABD). Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonunun doğal olarak oluşan ürünüdür. Lipid peroksidasyonu hem hücrelerde hem de hayvanlarda hücre hasarını iyi bilinen mekanizmasıdır ve hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılır. PUFA'lardan türetilen lipid peroksitler kararsızdır ve reaktif karbonil bileşikleri içeren karmaşık bir dizi bileşik oluşturmak üzere ayrışır MDA gibi. Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddelerinin (TBARS) ölçümü, lipid

peroksidasyonunu taramak ve izlemek için iyi kurulmuş bir yöntemdir. TBARS testinin modifikasyonları birçok araştırmacı tarafından insan ve hayvan dokuları ve sıvıları ilaçlar ve gıdalar dahil olmak üzere çeşitli numune tiplerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Lipoprotein fraksiyonları, çözünür TBARS'a müdahale eden numunelerden ilk asit çökeltisi ise, lipid peroksidasyonunu belirlemek için kullanılan en yaygın olarak kullanılan tahlil, en aza indirilir ve test, lipid peroksidasyonu için oldukça spesifik hale gelir. Doymamışlığı daha yüksek olan lipidler, daha yüksek TBARS değerleri verecektir. Cayman'ın TBARS Test Kiti, serum ve doku homojenatlarında lipid peroksidasyonu için basit, tekrarlanabilir ve standartlaştırılmış bir araçtır. MDA ve TBA'nın yüksek sıcaklık (90-100°C) ve asidik koşullar altında reaksiyona girmesiyle oluşan MDA-TBA eklentisi, 530-540 nm'de kolometrik olarak ölçülür.

Şekil 13.

Malondialdehitin (MDA) 2 Molekül 2-Tiyobarbitürik asit (TBA) İle Reaksiyonu (Weitner et al., 2016)



Reaktif Hazırlama

1. Tiyobarbitürik asit (10009199). 2 g tiyobarbitürik asit içerir, kullanıma hazır olarak geldi.
2. TBA Asetik asit (10009200). İki şişenin içindeki toplam (40 ml) olan TBA acetic acidi 160 ml distile suda dilüsyon yapıldı.
3. TBA Sodyum Hidroksit (10X) (1009201). 20 ml şişenin içindeki TBA Sodyum Hidroksit 180 ml distile su dilüe edildi.
4. TBA Malondialdehit standartı (10009202). Şişenin içerisine 500 µl Malondialdehit var.
5. TBA SDS solusyonu (10009203). Sodyum dodesil sülfat (SDS) Kullanıma hazırdır.

6. Renk verici solüsyonun hazırlanması. Renk reaktifi hazırlanması
Tiyobarbitürik asit (10009199) den 530 mg tartıp 150 ml kadar olan beherin içerisinde 50 ml lik dilüsyon yapılmış TBA asetik asit solüsyonunda eklendi. Daha sonra ise 50 ml dilüyon yapılmış TBA sodyum hidroksik eklenip karıştırıldı ve TBA nın tamamen çözünmesi beklendi.

Deney prosedürü

1. Bütün örnekler ve standartlar çift kopya olacak şekilde 100 µl işaretlenmiş tüplerin içerisine pipetlendi.
2. SDS Solüsyonundan 100 µl pipetlenip kuyucukların içerisinde karıştırıldı.
3. Kuyucuklara 4 ml renk reaktifi pipetlendi.
4. Tüplerin üzerleri kapakla kapatıldı, dik bir konumda iken kaynamakta olan su banyosuna konuldu.
5. Su banyosunda 1 saat boyunca kaynatıldı.
6. Bir saat sonunda hemen kırık buzların üzerinde reaksiyon durduruldu on dakika boyunca bekletildi.
7. Örnekler 1600 x g de 10 dakika santrifuj edildi (4°C), süpernatantlarda ayrıldı.
8. Tüpler 30 boyunca oda sıcaklığında kaldı.
9. Tüplerin içinden 150 µl kadar ve 532 nm'de reaksiyon karışımının absorbansının ölçülmesi. Absorbans, VersaMax Ayarlanabilir Mikroplaka Okuyucu (Molecular Devices, CA, ABD) ile ölçüldü. Doku MDA konsantrasyonları nmol MDA/mg protein olarak ifade edildi.

Şekil 14.

MDA Test kiti



Glutasyon peroksidaz (GPx) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitelerinin Ölçülmesi

GPx ve SOD testleri üretici direktifleri doğrultusunda otomatik biyokimya analizörüne (BS-240VET, Mindray, Shenzhen, Çin) apliance edildi ve çift kopya olacak şekilde ölçümler yapıldı.

Glutasyon peroksidaz aktivitesi hazır test kiti ile ölçüldü (Ransel RS505, Randox Laboratories Ltd. Crumlin, County Antrim, BK) ile ölçülmüştür. Testin prensibi şu şekildedir; GPx, oksitlenmiş GSH'ye (GSSG) glutasyon (GSH)-kümen hidroperoksit reaksiyonunu katalize eder. GSSG, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve glutasyon redüktaz (GR) arasındaki reaksiyon ile nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP⁺) üretilir. GPx aktivite seviyesi dolaylı olarak NADP⁺ seviyesindeki artışla ölçülmüştür.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi hazır test kiti ile ölçülmüştür (RANSOD, SOD125, Randox Laboratories Ltd. Crumlin, County Antrim, BK). Deneyin prensibi şu şekildedir; süperoksit radikalleri, ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından üretilir. Süperoksit radikalleri, kırmızı bir formazan boyası oluşturmak için 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5 feniltetrazolyum klorür ile reaksiyona

girerken, SOD süperoksit radikal aktivitesini inhibe eder. Dolayısıyla bu analizde, bir birim SOD aktivitesi, I.N.T.'nin %50 inhibisyonuna neden olan SOD miktarıdır.

Şekil 15.

BS-240VET Otomatik Biyokimya Analizörü



Histopatolojik İnceleme

Deney sonrası elde edilen mide, duodenum ve kolon dokuları, %10 nötral formalin içerisinde, 24 saat boyunca ve oda sıcaklığında fikse edildi. Fiksasyon işleminden sonra, dokular doku takip cihazına (Leica TP1020) yerleştirildi. Doku takip cihazından alınan dokular parafine gömüldü. Dokulardan mikrotom (Leica RM2255) yardımı ile 5 mikron kalınlığında kesitler alındı ve rutin Hematoksilen & Eozin (HE) boyaması yapıldı. Kesitler, Leica Microsystem Framework entegre dijital görüntüleme analiz sistemi (Leica Application Suit sürüm 3.0 Seri 38132019 Leica ICC50 HD) ile birleştirilmiş bir Leica DM500 ışık mikroskobu ile histomorfolojik olarak incelendi.

İstatistiksel Hesaplama

standart sapma (ortalama \pm SD) olarak ifade edildi. Veri gruplarını karşılaştırmak için bir varyans analizi (ANOVA) kullanıldı ve bunlar daha sonra Tukey'nin çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak incelendi. $p < 0,05$ 'lik bir fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BÖLÜM IV

Bulgular ve Yorumlar

Bu bölümde çalışma sorularına yönelik toplanan veriler ışığında ulaşılan bulgulara değinilmektedir.

ALA Uygulamasının Biyokimyasal İndikatörlere Etkisi

Sunulun tez çalışmasında deney gruplarında genel sistemik değerlendirme amacıyla kan serumunda Albümin, TP, ALP, ALT, AST, LDH, BUN, Kreatinin, Amilaz ve Lipaz çalışılmıştır (Tablo 1, Şekil 16 ve 17).

Tablo 1.

Sıçan Serumlarında Serum Enzimlerin ve Metabolitlerin Sonuçları (Ortalama ± SD).

	Kontrol	ALA	Mukozit	Mukozit +ALA
Albümin (g/dL)	2,97 ± 0,16	3,22 ± 0,35*	3,76 ± 0,22**	3,10 ± 0,57§
TP (g/dL)	4,44 ± 0,47	5,28 ± 0,93	5,77 ± 0,42*	4,95 ± 0,87
ALP (U/L)	64,01 ± 21,15	71,85 ± 19,19	120,50 ± 11,97***,††	69,14 ± 24,45§§
ALT (U/L)	27,36 ± 9,12	25,00 ± 4,73	43,55 ± 11,10**,††	25,57 ± 3,85§§
AST (U/L)	109,60 ± 13,20	114,3 ± 5,3	142,3 ± 13,2**,†	118,40 ± 19,40§
LDH (U/L)	939,00 ± 249,00	681 ± 156	1853 ± 454***,††††	1241,00 ± 377,00§
BUN (mg/dL)	18,04 ± 2,29	21,49 ± 2,71	23,80 ± 1,49***	18,22 ± 1,90§§
Kreatinin (mg/dL)	0,30 ± 0,09	0,41 ± 0,86	0,51 ± 0,048***	0,37 ± 0,04§
Amilaz (U/L)	1350,00 ± 165,00	1681,00 ± 188,00	2575,00 ± 426,00***,†††	1659,00 ± 312,00§§§
Lipaz (U/L)	24,50 ± 4,84	27,67 ± 4,22	31,83 ± 3,97*	27,67 ± 4,54

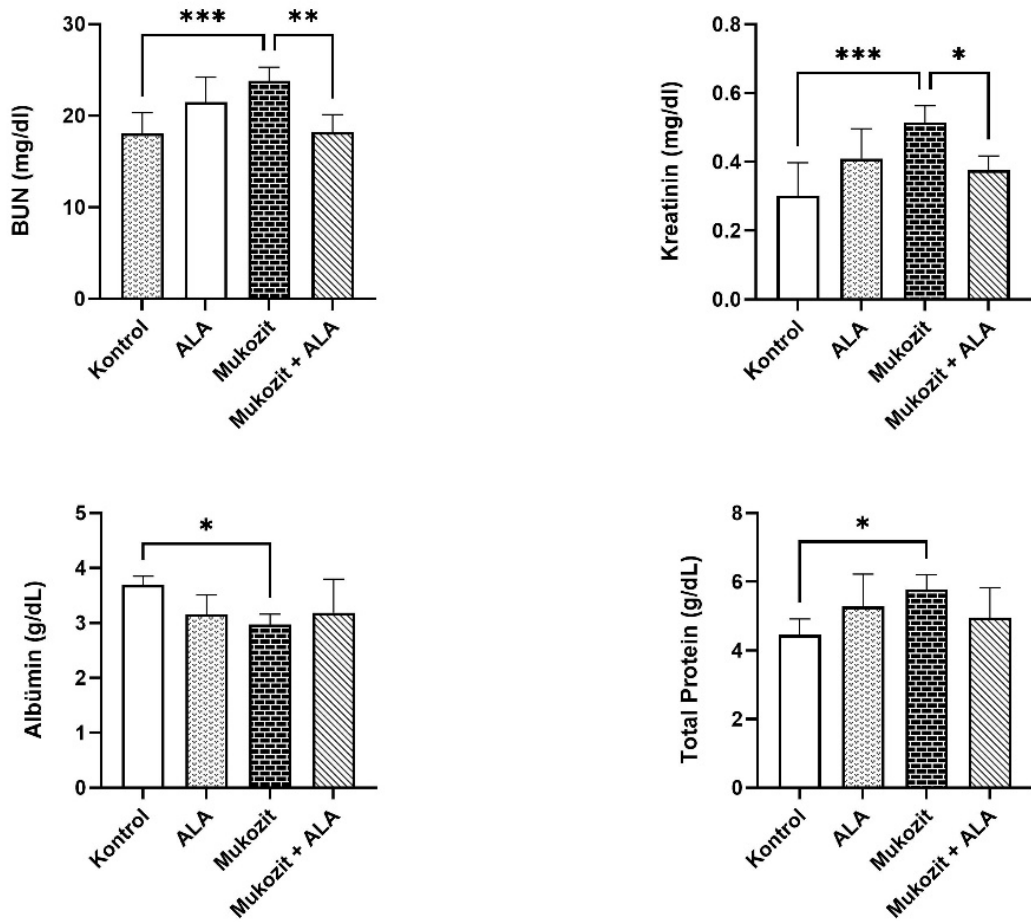
* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001 **** p<0,0001 Kontrol ile kıyaslandığında; † p<0,05 †† p<0,01 ††† p<0,001 †††† p<0,0001 ALA ile kıyaslandığında; § p<0,05 §§ p<0,01 §§§ p<0,001 Mukozit ile kıyaslandığında.

Kreatinin gruplarının böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için BUN ve kreatinin konsantrasyonları ölçülmüştür. Çalışma sonunda BUN değerleri Kontrol grubunda 18,04 ± 2,29 mg/dl, ALA grubunda 21,49 ± 2,717 mg/dl, Mukozit grubunda 23,80 ± 1,49 mg/dl, Mukozit+ALAgubunda 18,22 ± 1,906 mg/dl tespit

edilmiştir. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Buna karşın ALA ve Mukozit grupları arasında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Mukozit grubuyla Mukozit+ALAGruplarına göre anlamlı düzeyde farklılık bulundu ($p<0,01$).

Şekil 16.

*Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALAGruplarında Serum BUN, Kreatinin, Albümin ve TP Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$*



Bir diğer böbrek fonksiyon parametresi olan Kreatinin konsantrasyonu ölçülmüştür. Kontrol grubunda $0,3017 \pm 0,09621$ mg/dl, ALA grubunda $0,41 \pm$

0,8626 mg/dl, Mukozit grubunda $0,515 \pm 0,04848$ mg/dl, Mukozit+ALAgubunda $0,3767 \pm 0,04082$ mg/dl tespit edilmiştir. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA ve Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,001$). Buna rağmen ALA ve Mukozit grupları arasında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Dahası Mukozit grubuyla Mukozit+ALAgöre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).

Çalışma gruplarının albümin ve TP konsantrasyonları ölçülmüştür. Ölçüm işlemleri sonucunda albümin değerleri şöyle çıkmıştır. Kontrol grubunda $2,977 \pm 0,1675$ g/dl, ALA $3,227 \pm 0,3576$ g/dl, Mukozit $3,762 \pm 0,2275$ g/dl ve Mukozit+ALA $3,107 \pm 0,5794$ g/dl ölçülmüştür. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA ve Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak yükselme tespit edilmiştir ($p<0,01$). Buna rağmen ALA ve Mukozit grupları arasında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit grubuyla Mukozit+ALAgöre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$).

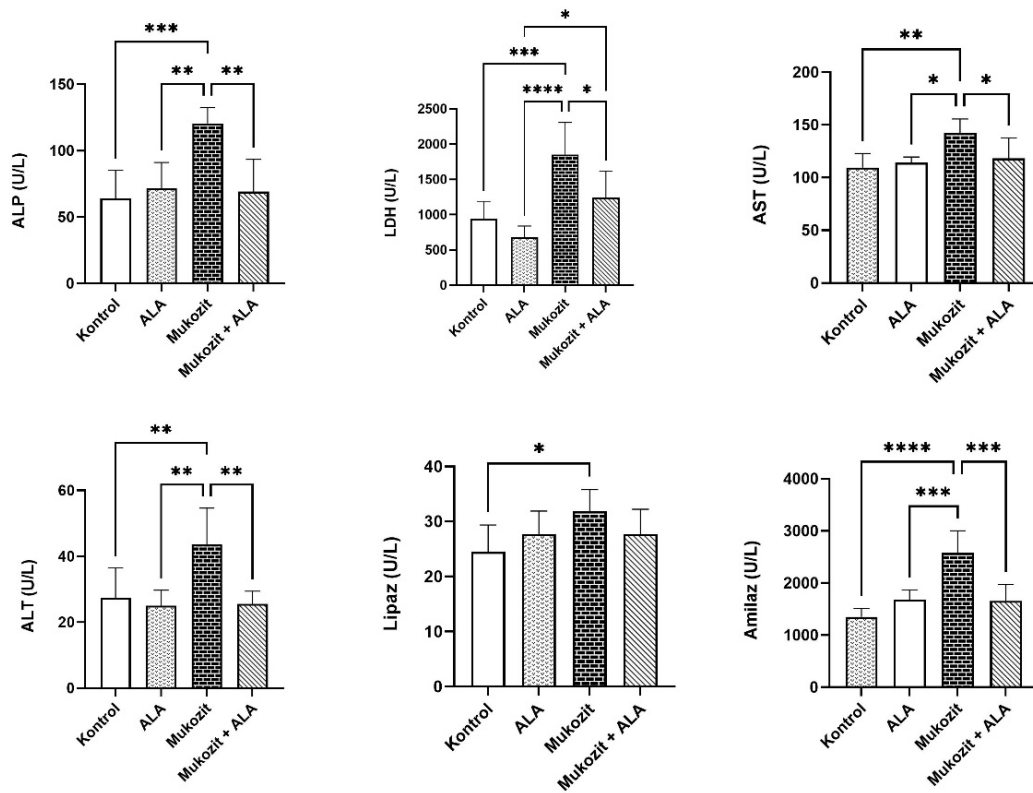
Ölçüm işlemleri sonucunda TP değerleri şöyle ölçülmüştür. Kontrol grubunda $4,448 \pm 0,4715$ g/dl, ALA $5,282 \pm 0,9392$ g/dl, Mukozit $5,777 \pm 0,4281$ g/dl ve Mukozit+ALA $4,955 \pm 0,8733$ ölçülmüştür. Gruplar arasında istatistiksel olarak karşılaştırma yapıldığında Kontrol, ALA ve Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bununla birlikte Mukozit ve Mukozit+ALAgubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$).

Sıçanların karaciğer fonksiyonlarının bir göstergesi olan ALT, AST, ALP ölçümleri şu şekilde sonuçlanmıştır. ALP değeri Kontrol grubunda $64,01 \pm 21,15$ U/L, ALA da $71,85 \pm 19,19$ U/L, Mukozit $120,50 \pm 11,97$ U/L, Mukozit+ALA $69,14 \pm 24,45$ U/L sonuçları bulunmuştur. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA ve Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları

karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının ALA grubuna göre anlamlı olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,01$). Dahası Mukozit grubuyla Mukozit+ALA göre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,01$) bu da bize ALA'nın koruyucu etkisi olduğundan anlaşılıyor.

Şekil 17.

*Serum ALP, LDH, AST, ALT, Lipaz ve Amilaz Değerlerinin Deney Grupları Arası Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.*



ALT değerleri incelendiğinde Kontrol grubunda $27,36 \pm 9,12$ U/L, ALA grubunda $25,00 \pm 4,733$ U/L, Mukozit $43,55 \pm 11,10$ U/L, Mukozit+ALA $25,57 \pm 3,856$ U/L sonuçları bulunmuştur. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol ve ALA grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte birlikte Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış olduğu bulunmuştur ($p<0,01$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulunmuştur ($p<0,01$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla Mukozit+ALA göre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,01$) bu da bize ALA'nın koruyucu etkisi olduğundan gösteriyor.

AST değerleri incelendiğinde Kontrol grubunda $109,60 \pm 13,17$ U/L, ALA grubunda $114,30 \pm 5,26$ U/L, Mukozit $142,30 \pm 13,24$ U/L ve Mukozit+ALA $118,40 \pm 19,38$ U/L ölçülmüştür. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol ve ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış bulunmuştur ($p<0,01$). Diğer taraftan baktığımızda Mukozit ile ALA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit grubuyla Mukozit+ALAgöre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Bu sonuçlara göre bize ALA'nın koruyucu etkisi olduğundan anlaşılıyor.

LDH değerlerini incelendiğinde Kontrol grubunun $939,30 \pm 249,00$ U/L, ALA $681,80 \pm 156,50$ U/L, Mukozit $1853,00 \pm 454,20$ U/L ve Mukozit+ALA $1241,00 \pm 377,00$ U/L ölçülmüştür. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol ve ALA grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış olduğu ölçülmüştür ($p<0,001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,0001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla Mukozit+ALAgöre anlamlı farklılık bulundu ($p<0,05$). Ayrıca ALA ve Mukozit+ALAguplarının değerleri incelendiğinde aralarında anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$).

Amilaz değerleri Kontrol $1350,00 \pm 165,20$ U/L, ALA $1681,00 \pm 188,70$ U/L, Mukozit $2575,00 \pm 426,30$ U/L, Mukozit+ALA $1659,00 \pm 312,80$ U/L ölçülmüştür. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte Mukozit ile Kontrol, karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artış olduğu belirlenmiştir. ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Bununla birlikte Mukozit ve Mukozit+ALAguplarının değerleri incelendiğinde aralarında anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,001$).

Lipaz değerleri Kontrol $24,50 \pm 4,848$ U/L, ALA $27,67 \pm 4,227$ U/L, Mukozit $31,83 \pm 3,971$ U/L ve Mukozit+ALA $27,67 \pm 4,546$ U/L. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$) Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Buna karşın Mukozit, ALA ve ALA+Mukozit aralarında istatikselsel olarak karşılaştırma yaptığımız zaman aralarında anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$).

ALA'nın Pro-enflamatuvar Sitokinler zerindeki Etkisi

Pro-enflamatuvar sitokin olan TNF- α serumdaki değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar Kontrol grubu $10,52 \pm 6,783$ pg/mL, ALA $12,13 \pm 5,739$ pg/mL, Mukozit $119,30 \pm 39,17$ pg/mL ve Mukozit+ALA $33,17 \pm 17,77$ pg/mL olarak ölçülmüştür (Tablo 2, Şekil 18). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte Mukozit ile Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Bununla birlikte Mukozit ile ALA arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA+Mukozit lm değerlerine bakıldığı zaman aralarında istatikselsel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,0001$).

Pro-enflamatuvar sitokin olan IL-1 β 'nin serumdaki değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar Kontrol için $86,03 \pm 13,16$ pg/mL, ALA $69,88 \pm 16,96$ pg/mL, Mukozit $161,80 \pm 31,76$ pg/mL ve Mukozit+ALA $91,43 \pm 15,12$ pg/mL olarak tespit edilmiştir. (Tablo 2, Şekil 18) Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Bununla birlikte Mukozit ile Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,0001$). Dahası Mukozit ile ALA+Mukozit lm değerlerine bakıldığı zaman aralarında istatikselsel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,0001$).

Tablo 2.

Sıçan Serumlarında Serum TNF- α Ve IL-1 β Sonuçları (ortalama \pm SD).

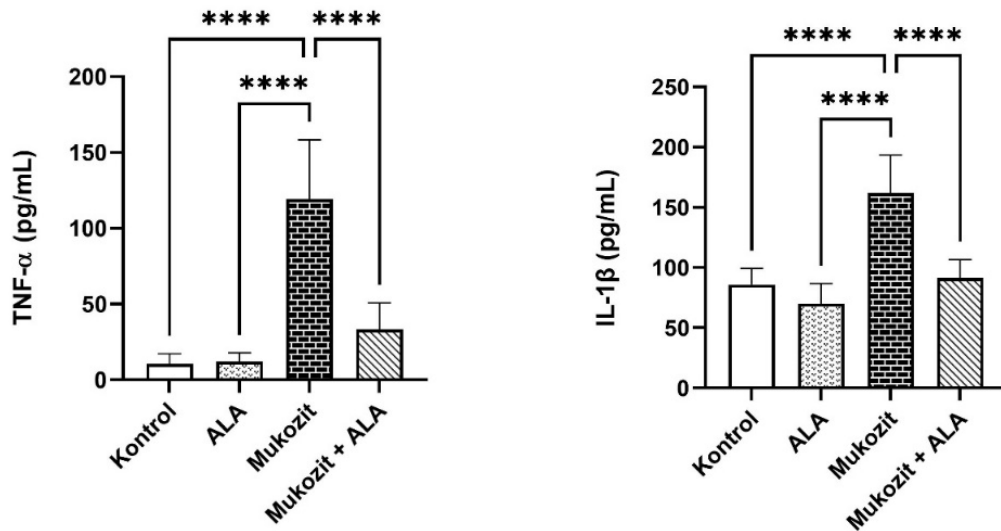
	Kontrol	ALA	Mukozit	Mukozit +ALA
TNF-α (pg/mL)	10,52 \pm 6,78	12,13 \pm 5,74	119,30 \pm 39,17 ^{****,†††}	33,17 \pm 17,77 ^{§§§§}
IL-1β (pg/mL)	86,03 \pm 13,16	69,88 \pm 16,96	161,80 \pm 31,76 ^{****,†††}	91,43 \pm 15,12 ^{§§§§}

^{****} $p < 0,0001$ Kontrol ile kıyaslandığında; ^{†††} $p < 0,0001$ ALA ile kıyaslandığında; ^{§§§§} $p < 0,0001$

Mukozit ile kıyaslandığında

Şekil 18.

*Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALA Gruplarında Serum, TNF- α ve IL-1 β Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). **** $p < 0,0001$.*



Midedeki pro-enflamatuvar sitokin TNF- α değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol 200,00 \pm 46,39 pg/mL protein, ALA 234,80 \pm 46,53 pg/mL protein, Mukozit 373,10 \pm 69,46 pg/mL protein ve Mukozit+ALA 226,50 \pm 59,73 pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 3, Şekil 19). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Ayrıca Mukozit grubunun değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p < 0,001$). Hatta Mukozit ile ALA arasında anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p < 0,01$). Dahası Mukozit grubunun sonuçları ALA+Mukozite göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşmüştür ($p < 0,01$).

İnce bağırsaktaki pro-enflamatuar sitokin TNF- α değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $113,60 \pm 40,47$ pg/mL protein, ALA $88,16 \pm 25,52$ pg/mL protein, Mukozit $438,20 \pm 63,29$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $240,10 \pm 63,88$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 3, Şekil 19). Mukozit grubunun TNF- α değeri Kontrol grubuna istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p < 0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0,001$). Buna rağmen Kontrol grubu ile ALA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ölçümlenmemiştir ($p > 0,05$). Buna karşın ALA grubu ile ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Hatta Mukozit grubunun ölçüm sonuçları ALA+Mukozite karşılaştırırsak anlamlı bir şekilde düşüş olmuştur ($p < 0,0001$). Ayrıca Kontrol grubuyla ALA+Mukozit grubunun arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

Tablo 3.

Sıçan Dokularında TNF- α Ve IL-1 β Sonuçları (ortalama \pm SD).

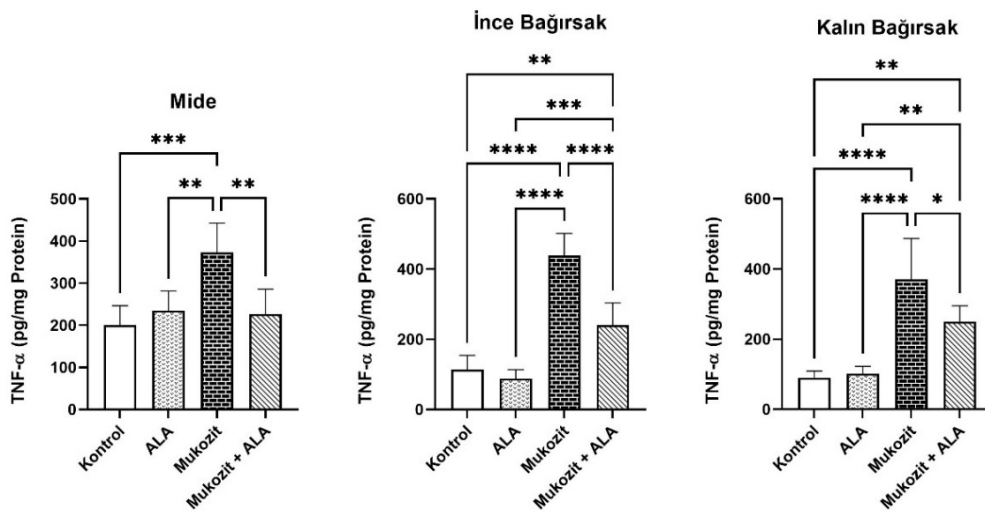
	Kontrol	ALA	Mukozit	Mukozit +ALA
TNF-α (pg/mL Protein)				
Mide	$200,00 \pm 46,39$	$234,80 \pm 46,53$	$373,10 \pm 69,46$ ****,††	$226,50 \pm 59,73$ §§
İnce Bağırsak	$113,60 \pm 40,47$	$88,16 \pm 25,52$	$438,20 \pm 63,29$ ****,††††	$240,10 \pm 63,88$ **,†††,§§§§
Kalın Bağırsak	$90,20 \pm 18,94$	$101,80 \pm 20,76$	$370,40 \pm$ $116,50$ ****,††††	$250,10 \pm$ $44,97$ **††,§
IL-1β (pg/mL Protein)				
Mide	$116,60 \pm 47,03$	$200,00 \pm 32,63$	$396,00 \pm$ $86,92$ ****,††††	$212,30 \pm$ $56,43$ *,§§§
İnce Bağırsak	$33,69 \pm 6,06$	$29,90 \pm 7,96$	$106,00 \pm$ $34,49$ ****,††††	$38,38 \pm 13,55$ §§§§
Kalın Bağırsak	$96,09 \pm 15,49$	$108,30 \pm 23,95$	$204,70 \pm$ $20,54$ ****,††††	$110,40 \pm 25,37$ §§§§

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ **** $p < 0,0001$ Kontrol ile kıyaslandığında; †† $p < 0,01$ ††† $p < 0,001$ †††† $p < 0,0001$ ALA ile kıyaslandığında; § $p < 0,05$ §§ $p < 0,01$ §§§ $p < 0,001$ Mukozit ile kıyaslandığında

Kalın bağırsaktaki pro-enflamatuar sitokin TNF- α değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $90,20 \pm 18,94$ pg/mL protein, ALA $101,80 \pm 20,76$ pg/mL protein, Mukozit $370,40 \pm 116,50$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $250,10 \pm 44,97$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 3, Şekil 19). Mukozit grubunun TNF- α değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p < 0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ($p < 0,0001$). Buna rağmen Kontrol grubu ile ALA grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ölçümlenmemiştir ($p > 0,05$). Buna rağmen ALA+Mukozit ve Mukozit gruplarının TNF- α değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardır ($p < 0,05$). Ayrıca Kontrol grubuyla ALA+Mukozit grubunun arasında anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0,01$). Hatta ALA ile ALA+Mukozit ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardır ($p < 0,01$).

Şekil 19.

*Şıçanların Mide, İnce Ve Kalın bağırsak Kontrol, ALA, Mukozit Ve Mukozit+ALA Gruplarında TNF- α Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ ve **** $p < 0,0001$.*



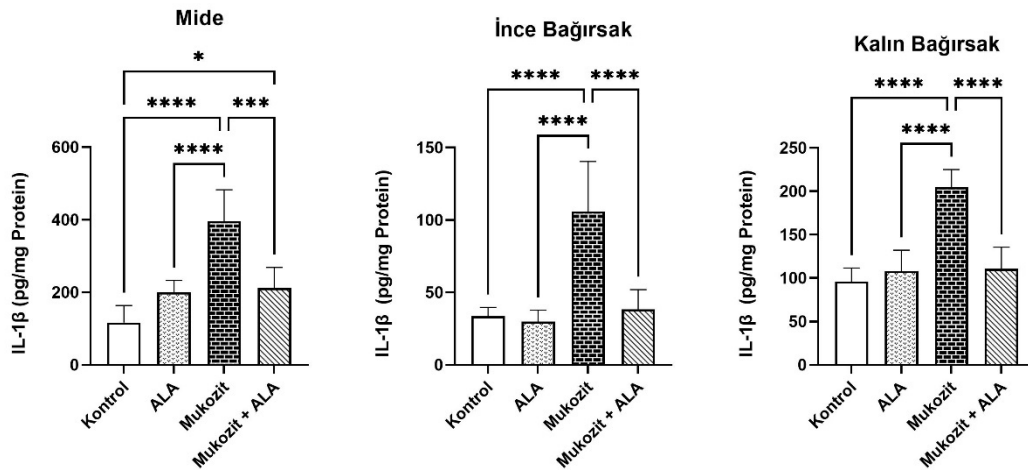
Midedeki IL-1 β değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $116,60 \pm 47,03$ pg/mL protein, ALA $200,00 \pm 32,63$ pg/mL protein, Mukozit $396,00 \pm 86,92$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $212,30 \pm 56,43$ pg/mL sonuçları elde edildi (Tablo 3, Şekil 20). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında ALA ile Kontrol ve ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Buna rağmen

Mukozit ile Kontrol grupları karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Bununla birlikte Mukozit ile ALA gruplarının değerleri arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Hatta Kontrol ve ALA+Mukozit gruplarının IL-1 β değerleri ölçüldüğünde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu ($p<0,05$). Dahası Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Şekil 20.

Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALAGruplarında Mide, İnce ve Kalın Bağırsak Dokuları IL-1 β Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD).

* $p<0,05$, *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.



İnce bağırsaktaki IL-1 β değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $33,69 \pm 6,06$ pg/mL protein, ALA $29,90 \pm 7,966$ pg/mL protein, Mukozit $106,00 \pm 34,49$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $38,38 \pm 13,55$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 3, Şekil 20). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit grubunun değeri IL-1 β Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit grubunun değerleri ALA+Mukozit grubuna göre anlamlı şekilde yüksektir ($p<0,0001$).

Kalın bağırsaktaki IL-1 β değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $96,09 \pm 15,49$ pg/mL protein, ALA $108,30 \pm 23,95$ pg/mL protein, Mukozit $204,70 \pm 20,54$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $110,40 \pm 25,37$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 3, Şekil

20). Kontrol, ALA ve ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun değerleri Kontrol grubuna göre kıyaslandığı zaman istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Dahası Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ölçülmüştür ($p<0,0001$).

MMPLer ve TIMP-1 Bulguları

Serum MMP-1 değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar şu şekildedir; Kontrol $1,09 \pm 0,1896$ pg/mL, ALA $1,138 \pm 0,3668$ pg/mL, Mukozit $2,993 \pm 0,8121$ pg/mL, Mukozit+ALA $1,872 \pm 0,8729$ pg/mL (Tablo 4, Şekil 21). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit ile Kontrol grupları incelendiğinde ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış olduğu bulunmuştur ($p<0,001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Dahası Mukozit ile ALA+Mukozit değerlerinin ölçüm sonuçlarına göre Mukozit grubunun değerleri istatistiksel olarak azalmıştır ($p<0,05$).

Serum MMP-2 değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar şu şekildedir Kontrol $25,06 \pm 6,364$ pg/mL, ALA $23,74 \pm 3,369$ pg/mL, Mukozit $37,13 \pm 7,806$ pg/mL ve Mukozit+ALA $20,04 \pm 4,137$ pg/mL ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 21). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit ile Kontrol grupları değerleri karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Bununla birlikte Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gösterilmiştir ($p<0,01$). Dahası Mukozit grubunun sonuçları ALA+Mukozite göre istatistiksel olarak anlamlı olarak düşmüştür ($p<0,001$).

Serum MMP-8 değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar şu şekildedir Kontrol $61,67 \pm 20,49$ pg/mL, ALA $73,23 \pm 14,00$ pg/mL, Mukozit $176,40 \pm 110,00$ pg/mL ve Mukozit+ALA $111,00 \pm 34,25$ pg/mL ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 21). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit grubunun değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde

artmıştır ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Buna rağmen Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç çıkmamıştır ($p>0,05$).

Serum TIMP-1 değerlerini ölçüldüğü zaman ortaya çıkan şu şekildedir Kontrol $434,70 \pm 174,60$ pg/mL, ALA $794,10 \pm 299,60$ pg/mL, Mukozit $21543,00 \pm 476,50$ pg/mL ve Mukozit+ALA $839,20 \pm 462,70$ pg/mL ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 21). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Dahası Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,0001$).

Tablo 4.

Siçanların Serum ve Dokularında MMP-1, -2, -8 ve TIMP-1 Sonuçları (Ortalama \pm SD).

	Kontrol	ALA	Mukozit	Mukozit +ALA
MMP-1 (serum pg/mL; dokularda pg/mg protein)				
Serum	1,09 \pm 0,18	1,14 \pm 0,37	2,99 \pm 0,81 ***;†††	1,87 \pm 0,87 §
Mide	1,01 \pm 0,29	1,03 \pm 0,19	1,94 \pm 0,36 ****;†††	1,34 \pm 0,27 §§
İnce Bağırsak	0,68 \pm 0,23	0,99 \pm 0,41	2,36 \pm 0,67 ****;†††	1,35 \pm 0,23 §§
Kalın Bağırsak	0,78 \pm 0,14	0,60 \pm 0,15	1,26 \pm 0,22 ****;††††	0,96 \pm 0,18 §
MMP-2 (serum pg/mL; dokularda pg/mg protein)				
Serum	25,06 \pm 6,36	23,74 \pm 3,37	37,13 \pm 7,81 **;††	20,04 \pm 4,14 §§§
Mide	1,39 \pm 0,32	1,45 \pm 0,27	2,07 \pm 0,27 **;††	1,59 \pm 0,31 §
İnce Bağırsak	0,74 \pm 0,33	0,86 \pm 0,19	1,38 \pm 0,12 ***;††	0,98 \pm 0,24 §
Kalın Bağırsak	0,73 \pm 0,20	0,81 \pm 0,21	1,39 \pm 0,29 ***;††	0,86 \pm 0,20 §§
MMP-8 (serum pg/mL; dokularda pg/mg protein)				
Serum	61,67 \pm 20,49	73,23 \pm 14,00	176,40 \pm 110,00 *;†	111,00 \pm 34,25
Mide	2,66 \pm 0,45	2,18 \pm 0,59	4,89 \pm 2,26 *;††	2,26 \pm 0,74 §§
İnce Bağırsak	0,95 \pm 0,31	0,69 \pm 0,36	1,98 \pm 0,55 **;††††	1,06 \pm 0,32 §§
Kalın Bağırsak	0,60 \pm 0,22	0,65 \pm 0,29	1,74 \pm 0,47 ****;††††	0,99 \pm 0,25 §§

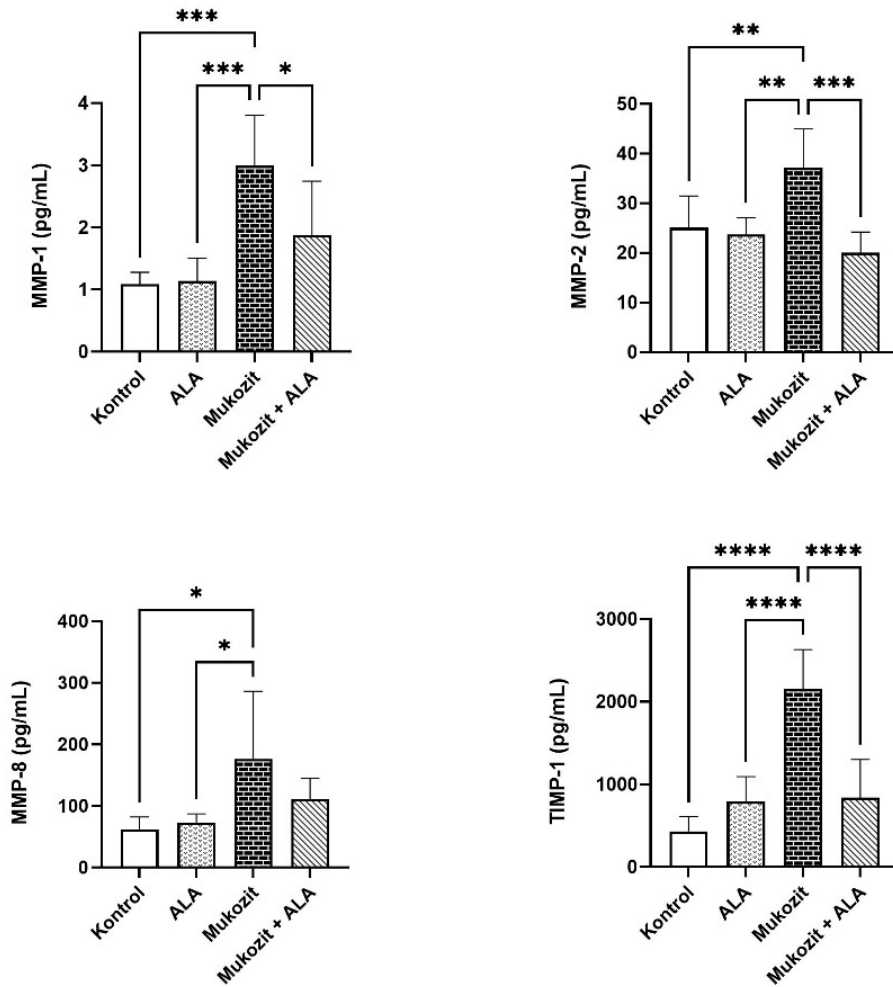
TIMP-1 (serum pg/mL; dokularda pg/mg protein)

Serum	435,00 ± 175,00	794,00 ± 300,00	2154,00 ± 477,00 ****,††††	839,00 ± 463,00 §§§§
Mide	592,00 ± 189,00	593,00 ± 121,00	893,00 ± 113,00 **,††	631,00 ± 138,00 §
İnce Bağırsak	57,40 ± 30,30	54,90 ± 27,10	213,20 ± 62,90 ***,†††	124,50 ± 64,70 §
Kalın Bağırsak	378,00 ± 62,00	470,00 ± 65,00	669,00 ± 50,00 ****,††††	551,00 ± 74,00 §

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$ Kontrol grubuna göre; † $p < 0,05$ †† $p < 0,01$ ††† $p < 0,001$ †††† $p < 0,0001$ ALA grubuna göre; § $p < 0,05$ §§ $p < 0,01$ §§§ $p < 0,001$ §§§§ $p < 0,0001$ Mukozit grubuna göre.

Şekil 21.

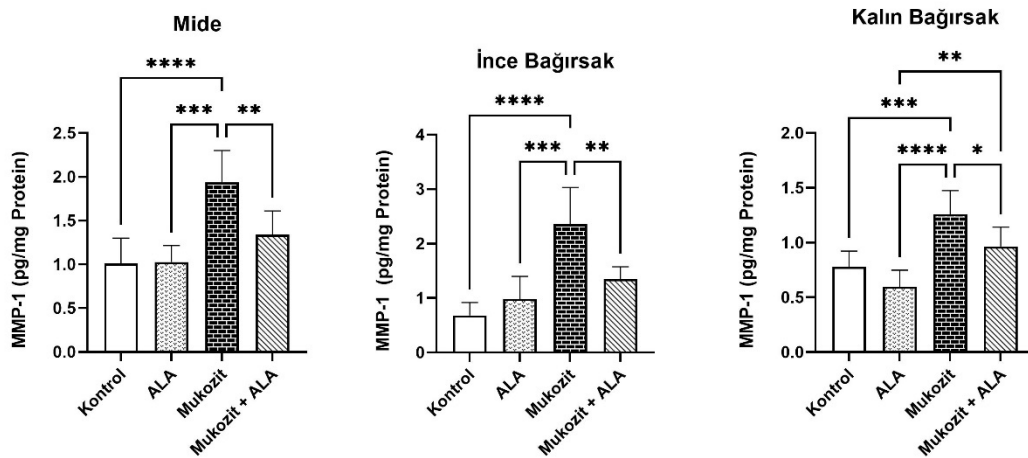
Kontrol, ALA, Mukozit ve Mukozit+ALA Gruplarında Serum MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1 Düzeylerinin Karşılaştırılması (Ortalama ± SD). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$



Midedeki MMP-1 değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $1,012 \pm 0,2903$ pg/mL protein, ALA $1,028 \pm 0,1868$ pg/mL protein, Mukozit $1,938 \pm 0,362$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $1,34 \pm 0,2722$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 22). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit ve Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Ayrıca Mukozit ile ALA gruplarının arasında istatistiksel olarak önemli bir fark var ($p<0,001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Şekil 22.

*Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-1 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (Ortalama±SD) * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.*



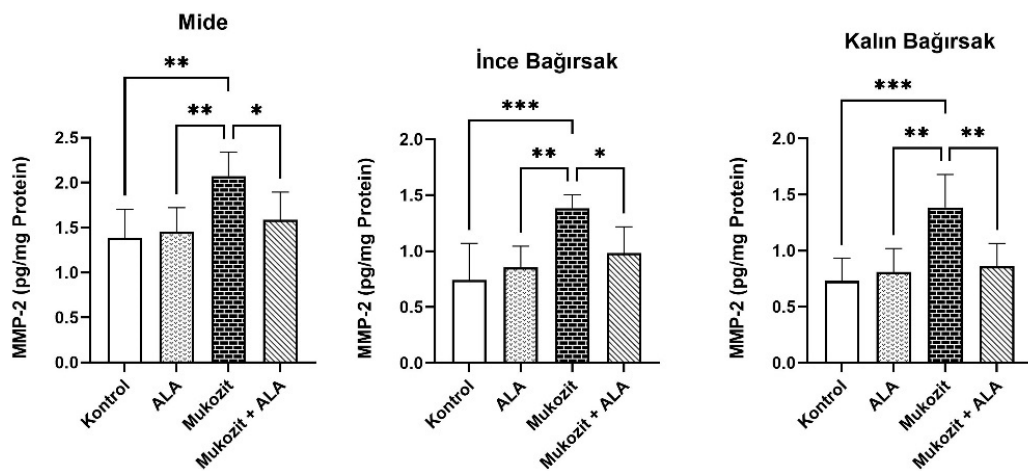
İnce bağırsaktaki MMP-1 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,6833 \pm 0,235$ pg/mL protein, ALA $0,985 \pm 0,4143$ pg/mL protein, Mukozit $2,357 \pm 0,6745$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $1,348 \pm 0,2268$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 22). Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit grubunun MMP-1 değeri Kontrol grubuna istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,0001$). Hatta Mukozit ile ALA grubunun ölçüm sonuçlarını karşılaştırırsak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunuyor ($p<0,001$). ALA+Mukozit ölçüm sonuçları Mukozit ile karşılaştırırsak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu ölçülmüştür ($p<0,01$).

Kalın bağırsaktaki MMP-1 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,7767 \pm 0,1464$ pg/mL protein, ALA $0,5967 \pm 0,1515$ pg/mL protein, Mukozit $1,258 \pm 0,2155$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $0,9633 \pm 0,1769$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 22). Mukozit grubunun MMP-1 değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p < 0,001$). Ayrıca Mukozit ile ALA gruplarının arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ölçülmüştür ($p < 0,0001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubunu karşılaştırıldığımız zaman istatistiksel olarak bir azalma var ($p < 0,05$) bununla birlikte rağmen Kontrol ile ALA arasında istatistiksel olarak bir farklılık yoktur ($p > 0,05$). Hatta ALA ile ALA+Mukozit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,01$).

Midedeki MMP-2 değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $1,387 \pm 0,3179$ pg/mL protein, ALA $1,4 \pm 0,272$ pg/mL protein, Mukozit $2,073 \pm 0,2656$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $1,587 \pm 0,3072$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 23). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Mukozit grubunun MMP-2 değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p < 0,01$). Hatta Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,01$). Ayrıca Mukozit grubunun değerleri ALA+Mukozit grubuna göre anlamlı şekilde yüksektir ($p < 0,05$).

Şekil 23.

*Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-2 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (Ortalama±SD). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$*



İnce bağırsaktaki MMP-2 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,7433 \pm 0,3265$ pg/mL protein, ALA $0,855 \pm 0,1885$ pg/mL protein, Mukozit $1,383 \pm 0,1203$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $0,9817 \pm 0,2352$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 23). Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit grubunun MMP-2 değeri Kontrol grubuna istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,001$). Hatta Mukozit ile ALA grubunun ölçüm sonuçlarını karşılaştırsak aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunuyor ($p<0,01$). ALA+Mukozit ölçüm sonuçları Mukozit ile karşılaştırsak aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu ölçülmüştür ($p<0,05$).

Kalın bağırsaktaki MMP-2 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,7317 \pm 0,2008$ pg/mL protein, ALA $0,8117 \pm 0,2072$ pg/mL protein, Mukozit $1,385 \pm 0,2941$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $0,8617 \pm 0,2031$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 23). Kontrol, ALA ve ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit grubunun MMP-8 değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0,001$). Hatta ALA ve Mukozit grubunun ölçüm sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,01$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubunu karşılaştırdığımız zaman istatistiksel olarak bir azalma var ($p<0,01$).

Midedeki MMP-8 değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $2,66 \pm 0,4543$ pg/mL protein, ALA $2,117 \pm 0,5861$ pg/mL protein, Mukozit $4,887 \pm 2,264$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $2,262 \pm 0,7395$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 24). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun MMP-8 değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit ile ALA arasında anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,01$). Hatta Mukozit grubunun ölçüm sonuçları ALA+Mukozit e göre istatistiksel olarak yüksektir ($p<0,01$).

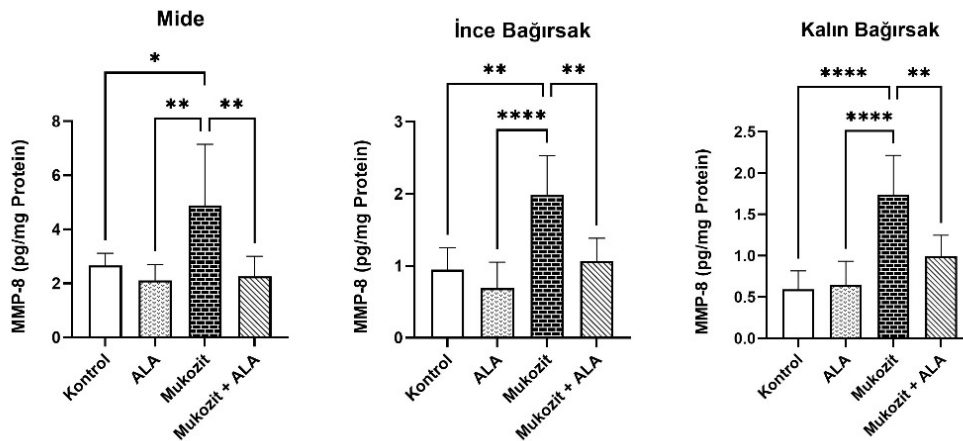
İnce bağırsaktaki MMP-8 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,945 \pm 0,3074$ pg/mL protein, ALA $0,6917 \pm 0,3601$ pg/mL protein, Mukozit $1,983 \pm 0,549$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $1,062 \pm 0,3208$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 24). Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun değerleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,01$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Dahası Mukozit grubuyla

ALA+Mukozit grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Kalın bağırsaktaki MMP-8 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $0,595 \pm 0,2217$ pg/mL protein, ALA $0,6483 \pm 0,286$ pg/mL protein, Mukozit $1,742 \pm 0,4723$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $0,995 \pm 0,2548$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 24). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit grubunun MMP-8 değeri Kontrol grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0,0001$). Hatta Mukozit ile ALA arasında anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,0001$). Bununla birlikte Mukozit ve ALA+Mukozit grupları arasında anlamlı azalış vardır ($p<0,01$). Buda bize ALA'nın koruyucu etkiden yorumlamamıza sebep olur.

Şekil 24.

*Mide, İnce ve Kalın Bağırsak MMP-8 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması. Sonuçları (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve **** $p<0,0001$.*



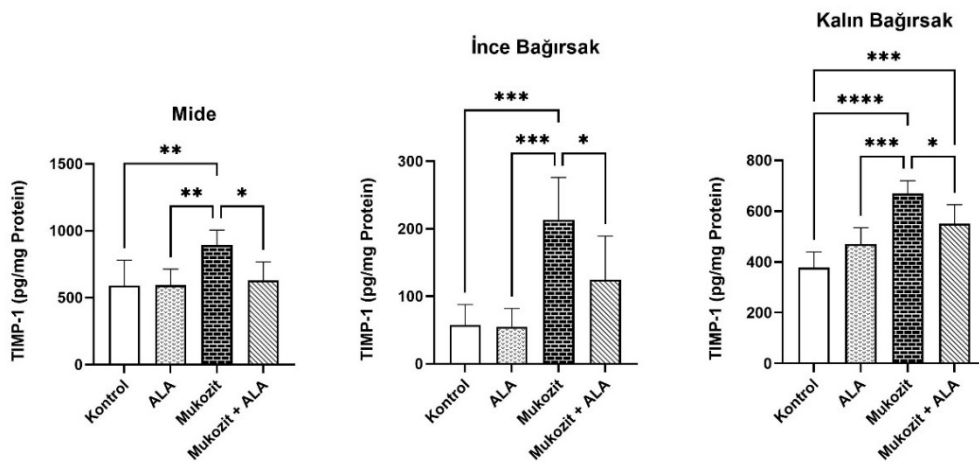
Midedeki TIMP-1 değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $591,50 \pm 189,40$ pg/mL protein, ALA $592,90 \pm 121,20$ pg/mL protein, Mukozit $893,30 \pm 112,90$ pg/mL protein ve $630,60 \pm 137,60$ Mukozit+ALAp/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 25). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun TIMP-1 değeri Kontrol, grubuna göre istatikselsel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,01$). Hatta Mukozit ile ALA arasında istatikselsel olarak anlamlı

sonuçları bulunmuştur ($p<0,01$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

İnce bağırsaktaki TIMP-1 değerlerine ölçüldüğü zaman Kontrol $57,44 \pm 30,25$ pg/mL protein, ALA $54,94 \pm 27,10$ pg/mL protein, Mukozit $213,20 \pm 62,97$ pg/mL protein ve Mukozit+ALA $124,50 \pm 64,66$ pg/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 25). Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun TIMP-1 değeri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0,001$). Hatta Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçları bulunmuştur ($p<0,001$). Dahası Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Şekil 25.

*Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsak TIMP-1 Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.*



Kalın bağırsaktaki TIMP-1 değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $377,60 \pm 61,62$ pg/mL protein, ALA $470,10 \pm 64,91$ pg/mL protein, Mukozit $669,00 \pm 50,36$ pg/mL protein ve $551,30 \pm 73,99$ Mukozit+ALAp/mL protein ölçülmüştür (Tablo 4, Şekil 25). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında ALA ile Kontrol, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun TIMP-1 değeri Kontrol, grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksektir ($p<0,0001$). Hatta Mukozit ile ALA arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçları bulunmuştur ($p<0,001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit

grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca Kontrol ile ALA+Mukozit grubunun arasında istatikselsel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$).

ALA'nın MDA, GPx ve SOD Seviyelerine Etkisi

Serum MDA değerleri ölçüldüğü zaman bulunan sonuçlar şu şekildedir; Kontrol $7,632 \pm 1,788$ $\mu\text{mol/L}$, ALA $7,21 \pm 1,501$ $\mu\text{mol/L}$, Mukozit $41,55 \pm 34,74$ $\mu\text{mol/L}$, Mukozit+ALA $8,235 \pm 2,073$ $\mu\text{mol/L}$ ölçülmüştür (Tablo 5, şekil 26). Gruplar arası istatikselsel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, Mukozit+ALAgupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna karşın Mukozit ile Kontrol grupları incelendiğinde ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit ile ALA grupları arasında istatikselsel olarak farklılık bulunmuştur ($p<0,05$). Dahası Mukozit ile ALA+Mukozit değerlerinin ölçüm sonuçlarına göre Mukozit grubunun değerleri istatikselsel olarak azalmıştır ($p<0,05$).

Midedeki MDA değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,85 \pm 0,4179$ nmol MDA/mg protein, ALA $0,855 \pm 0,2034$ nmol MDA/mg protein, Mukozit $4,347 \pm 2,205$ nmol MDA/mg protein ve Mukozit+ALA $1,348 \pm 0,5901$ nmol MDA/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, şekil 26). Gruplar arası istatikselsel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit ve Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,001$). Ayrıca Mukozit ile ALA gruplarının arasında istatikselsel olarak önemli bir fark var ($p<0,001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,01$).

İnce bağırsak MDA değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,8617 \pm 0,3186$ nmol MDA/mg protein, ALA $0,7217 \pm 0,3269$ nmol MDA/mg protein, Mukozit $2,327 \pm 1,04$ nmol MDA/mg protein ve Mukozit+ALA $1,25 \pm 0,6402$ nmol MDA/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, şekil 26). Gruplar arası istatikselsel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Buna rağmen Mukozit ve Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,01$). Ayrıca Mukozit ile ALA gruplarının arasında istatikselsel olarak

önemli bir fark var ($p<0,01$). Hatta Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Kalın bağırsak MDA değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,9817 \pm 0,2512$ nmol MDA/mg protein, ALA $1,083 \pm 0,2302$ nmol MDA/mg protein, Mukozit $5,275 \pm 0,8355$ nmol MDA/mg protein ve Mukozit+ALA $3,723 \pm 0,9086$ nmol MDA/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, Şekil 26). Mukozit ve Kontrol karşılaştırıldığında ise Mukozit grubu sonuçlarının Kontrol grubunda göre anlamlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Ayrıca ALA ile Mukozit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ölçülmüştür ($p<0,0001$). Buna karşın Kontrol ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Hatta ALA ile ALA+Mukozit gruplarının karşılaştırsak ALA+Mukozit grubunda anlamlı bir ölçüde artış olmuştur ($p<0,0001$). Bununla birlikte Kontrol ile ALA+Mukozit arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,0001$). Bununla birlikte Mukozit grubuyla ALA+Mukozit grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Tablo 5.

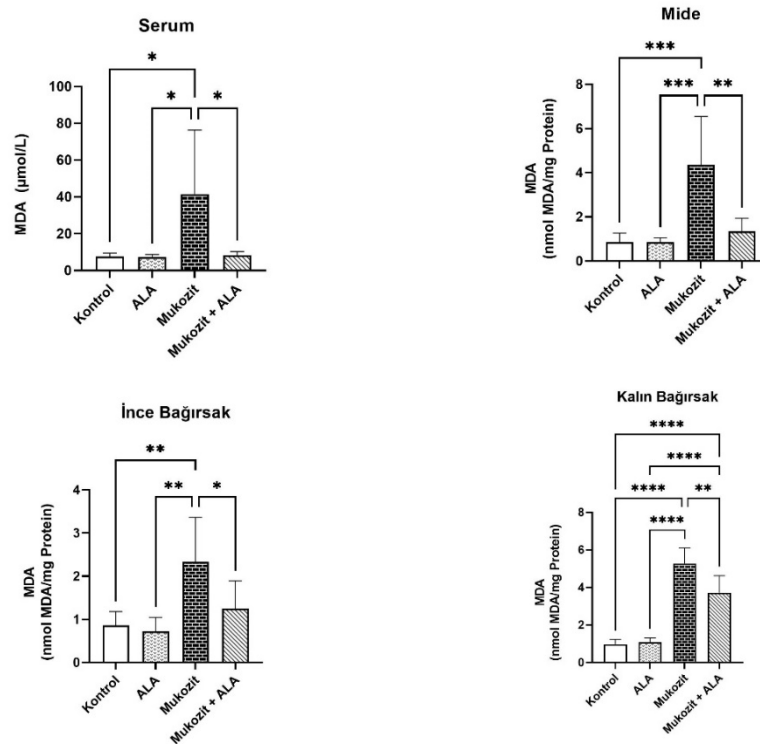
Sıçanların Serum ve Dokularında MDA, GPX ve SOD Sonuçları (Ortalama \pm SD).

	Kontrol	ALA	Mukozit	Mukozit +ALA
MDA (serum μmol/L; doku nmol MDA/mg protein)				
Serum	$7,63 \pm 1,78$	$7,21 \pm 1,50$	$41,55 \pm 34,74^{*,\dagger}$	$8,23 \pm 2,07^{\S}$
Mide	$0,85 \pm 0,41$	$0,85 \pm 0,20$	$4,34 \pm 2,20^{***,\dagger\dagger}$	$1,34 \pm 0,59^{\S\S}$
İnce Bağırsak	$0,86 \pm 0,31$	$0,72 \pm 0,32$	$2,32 \pm 1,04^{**,\dagger\dagger}$	$1,25 \pm 0,64^{\S}$
Kalın Bağırsak	$0,98 \pm 0,25$	$1,08 \pm 0,23$	$5,27 \pm 0,83^{****,\dagger\dagger\dagger}$	$3,72 \pm 0,90^{\S\S,\dagger\dagger\dagger,****}$
GPX (U/mg protein)				
Mide	$0,63 \pm 0,21$	$0,42 \pm 0,03^*$	$0,23 \pm 0,06^{****}$	$0,43 \pm 0,07^{*,\S}$
İnce Bağırsak	$0,54 \pm 0,08$	$0,45 \pm 0,16$	$0,23 \pm 0,04^{***,\dagger\dagger}$	$0,44 \pm 0,07^{\S\S}$
Kalın Bağırsak	$0,46 \pm 0,16$	$0,32 \pm 0,11$	$0,11 \pm 0,02^{****,\dagger}$	$0,29 \pm 0,07^{\S}$
SOD (U/mg protein)				
Mide	$0,88 \pm 0,12$	$0,78 \pm 0,28$	$0,43 \pm 0,14^{**,\dagger}$	$0,77 \pm 0,12^{\S}$
İnce Bağırsak	$0,68 \pm 0,21$	$0,62 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,10^{**,\dagger}$	$0,55 \pm 0,05^{\S}$
Kalın Bağırsak	$0,41 \pm 0,09$	$0,52 \pm 0,08$	$0,16 \pm 0,04^{****,\dagger\dagger\dagger}$	$0,35 \pm 0,03^{\dagger\dagger,\S\S\S}$

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$ **** $p < 0,001$ kontrol grubuna göre; † $p < 0,05$ †† $p < 0,01$ ††† $p < 0,001$ †††† $p < 0,0001$ ALA grubuna göre; § $p < 0,05$ §§ $p < 0,01$ §§§ $p < 0,001$ §§§§ $p < 0,0001$ Mukozit grubuna göre.

Şekil 26.

Siçanların Serum, Mide, İnce Ve Kalın Bağırsak MDA Seviyelerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ ve **** $p < 0,0001$.



Midedeki GPx değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,6328 \pm 0,2128$ U/mg protein, ALA $0,4237 \pm 0,03669$ U/mg protein, Mukozit $0,2373 \pm 0,06261$ U/mg protein ve Mukozit +ALA, $0,4338 \pm 0,07211$ U/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, Şekil 27). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırırsak Mukozit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p < 0,0001$). Ayrıca ALA ile Mukozit ve ALA+Mukozit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p > 0,05$). Buna karşın ALA ile Kontrol arasında istatistiksel olarak önemli bir tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Ayrıca Mukozit grubunun değeri ALA+Mukozit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p < 0,05$). Buna rağmen Kontrol ile ALA+Mukozit arasında istatistiksel olarak önemli bir fark vardır ($p < 0,05$).

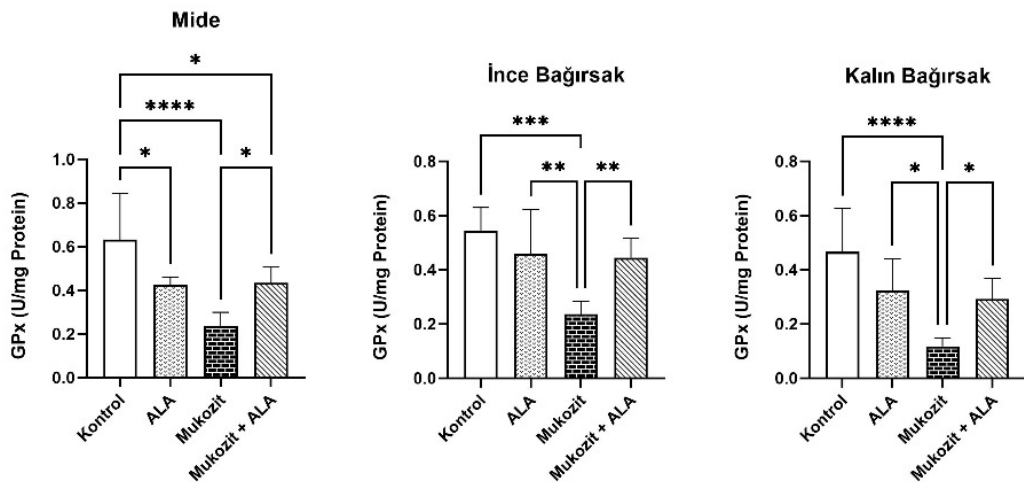
İnce bağırsak GPx değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,546 \pm 0,08445$ U/mg protein, ALA $0,4597 \pm 0,1636$ U/mg protein, Mukozit $0,2365 \pm 0,04769$ U/mg protein ve Mukozit +ALA, $0,445 \pm 0,07157$ U/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5,

Şekil 27). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırırsak Mukozit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p<0,001$). Ayrıca ALA ile Mukozit ve ALA+Mukozit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,01$). Ayrıca Mukozit grubunun değeri ALA+Mukozit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,01$).

Şekil 27.

Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsaktaki GPx Değerlerinin Karşılaştırılması.

*Sonuçları (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.*



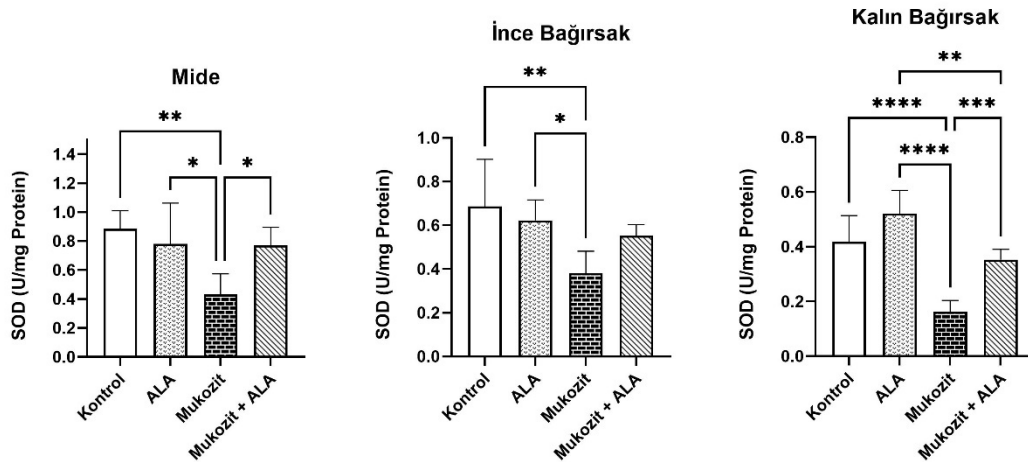
Kalın bağırsak GPx değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,4662 \pm 0,1601$ U/mg protein, ALA $0,3223 \pm 0,1185$ U/mg protein, Mukozit $0,1183 \pm 0,0298$ U/mg protein ve Mukozit+ALA $0,2928 \pm 0,07525$ U/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, Şekil 27). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırırsak Mukozit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p<0,0001$). Ayrıca ALA ile Mukozit ve ALA+Mukozit arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte Mukozit grubunun değeri ALA+Mukozit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

Midedeki SOD değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,8867 \pm 0,1238$ U/mg protein, ALA $0,7808 \pm 0,2822$ U/mg protein, Mukozit $0,4317 \pm 0,1423$ U/mg protein

ve Mukozit+ALA $0,7703 \pm 0,126$ U/mg protein elde edilmiştir (Tablo 5, Şekil 28). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırırsak Mukozit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p<0,01$). Hatta Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit grubunun değeri ALA+Mukozit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0,05$).

Şekil 28.

*Sıçanların Mide, İnce ve Kalın Bağırsaktaki SOD Değerlerinin karşılaştırılması (Ortalama \pm SD). * $p<0,05$, ** $p<0,01$ ve *** $p<0,001$ ve **** $p<0,0001$.*



İnce bağırsaktaki SOD değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,6862 \pm 0,2159$ U/mg protein, ALA $0,623 \pm 0,09343$ U/mg protein, Mukozit $0,381 \pm 0,1007$ U/mg protein ve Mukozit+ALA $0,5528 \pm 0,05108$ U/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, Şekil 28). Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar yapıldığında Kontrol, ALA, ALA+Mukozit grupları arasında önemli bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırırsak Mukozit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p<0,01$). Hatta Mukozit ile ALA grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ayrıca Mukozit grubunun değeri ALA+Mukozit grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kalın bağırsaktaki SOD değerleri ölçüldüğü zaman Kontrol $0,4183 \pm 0,09566$ U/mg protein, ALA $0,5208 \pm 0,0848$ U/mg protein, Mukozit $0,1627 \pm 0,04109$ U/mg protein ve Mukozit+ALA $0,3532 \pm 0,03772$ U/mg protein ölçülmüştür (Tablo 5, Şekil 28). Mukozit grubunun ölçüm sonuçlarını Kontrol grubuna göre karşılaştırsak Mukozit grubunda istatikselsel olarak anlamlı bir düşük ölçülmüştür ($p < 0,0001$). Bununla birlikte ALA ile Mukozit grubu arasında istatikselsel olarak anlamlı fark ölçülmüştür ($p < 0,0001$). Buna karşın Kontrol ile ALA grupları arasında istatikselsel olarak anlamlı fark ölçülmemiştir ($p > 0,05$). Bununla birlikte ALA+Mukozit ile Mukozit grubunun değerlerini karşılaştırıldığı zaman Mukozit grubunda istatikselsel olarak anlamlı bir düşüş ölçülmüştür ($p < 0,001$). Hatta ALA ile ALA+Mukozit grubunda istatikselsel olarak anlamlı bir fark da tespit edilmiştir ($p < 0,01$).

Histopatoloji Bulgular

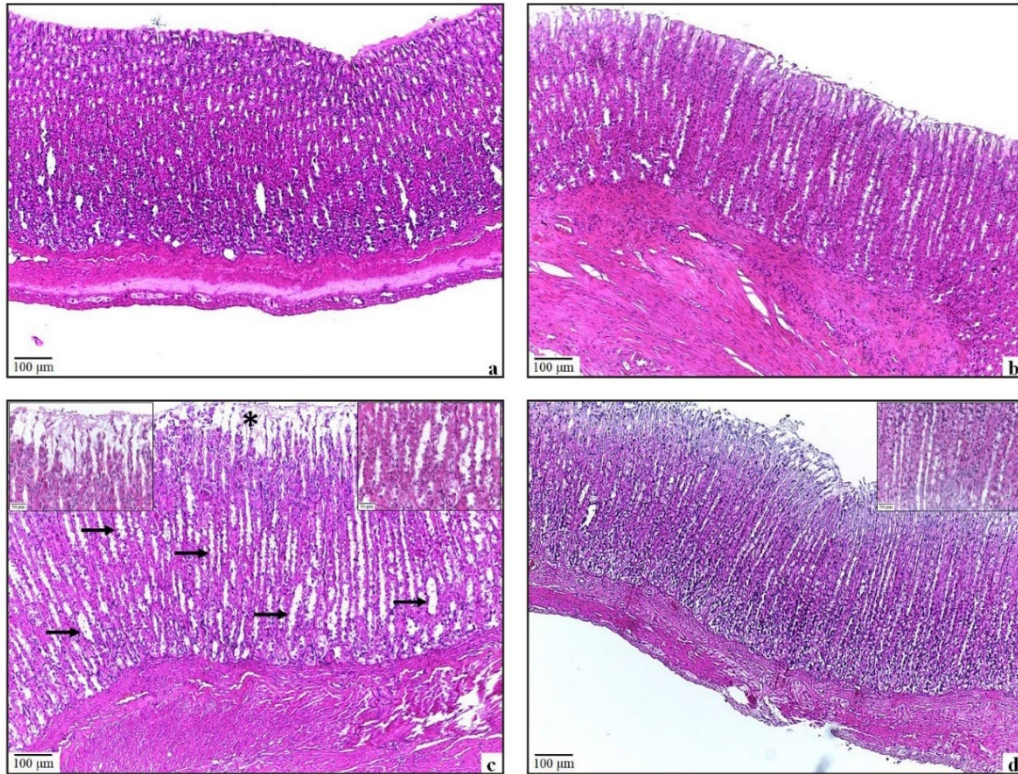
Mide'ye ait Histopatolojik Bulgular

Kontrol ve ALA gruplarına ait mide kesitlerinde, yüzey epitel hücreleri, faveola gastrica bölümleri ve bez epitel hücreleri, submokoza, muskularis ve serosa tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 29-1a, -1b). 5-FU uygulanan grupta yüzey epitel hücrelerinde dejenerasyon, ödem ve bezlerde yaygın olarak genişlemeler tespit edildi (Şekil 29-1c). Epitel hücrelerindeki dejenerasyon lokal odaklar şeklinde gözlemlendi. Bu gruptan bir denekte bezler arasında hafif konjesyon olduğu görüldü. Mukozit+ALAgubunda, epitel hücrelerindeki dejenerasyonun, ödemin ve bezlerdeki genişlemelerin azaldığı saptandı (Şekil 29, 1d).

Şekil 29.

Sıçanların Mide Dokularının Histopatolojik Bulguları

(29,a) Kontrol grubu, (29,b) ALA grubu, (29,c) Mukozit grubu ve (29,d) Mukozit+ALA grubu için HE ile boyanmış mide dokusunun görünümü. Bar = 100 mikron; büyütülmüş alan Bar = 50 µm. (a) Kontrol grubu mide korpus-fundus bölgesinin epitel hücrelerinin ve bez yapılarının normal olduğu görülmektedir. (b) Sadece ALA grubunun mide yapısı kontrol grubuna benzer. (c) Mide epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve ödem (*) ve bezlerin büyümesi (oklar) Mukozit grubunda yaygındır. (d) Mukozit+ALA grubunda Mukozit grubuna göre yüzey epitel hücrelerinde ödem ve bezlerde genişlemenin azaldığı görülmektedir.

**İnce Bağırsak Histopatolojik Bulgular**

Duodenumda villus yükseklikleri okuler mikrometre kullanılarak ölçüldü. 5-FU verilen grupta villus yükseklikleri, kontrol ve sadece ALA verilen gruba göre anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. ALA ile tedavi edilen Mukozit+ALAgubu villus uzunlukları ile Mukozit grubu arasında istatistiksel fark görüldü ($p < 0,05$) (Tablo 6).

Kontrol ve ALA gruplarına ait duodenumlarda, tunica mukoza, submukoza, muskularis ve serosa tabakalarının normal histolojik yapıda olduğu saptandı (Şekil 30-a ve -b). Mukozit grubunda villuslarda düzensizlikler, enterositlerde dökülmeler

gözlendi (Şekil 30-c). Mukozit+ALAg grubundaki villus düzensizlikleri azalmış olarak tespit edildi (Şekil 30-d).

Tablo 6.

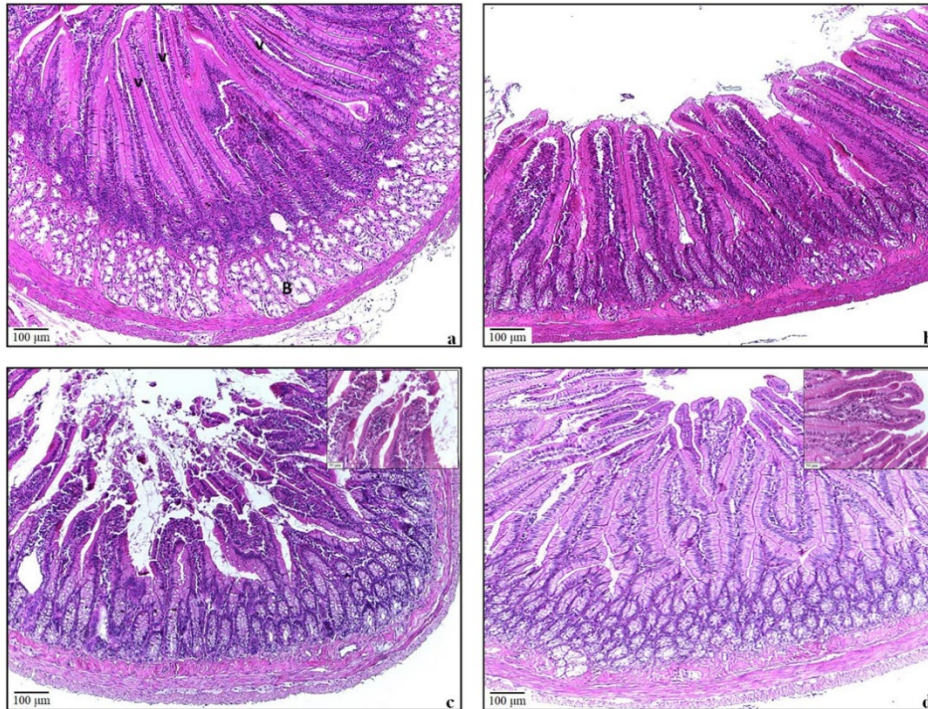
Deney Gruplarının İnce Bağırsaklarında Villus Uzunlukları

Gruplar	Villus yükseklikleri
Kontrol	425,56 ± 77,67
ALA	423,64 ± 69,99
Mukozit	351,83 ± 40,22
Mukozit +ALA	399,06 ± 42,69
p value	0,183

Şekil 30.

Sıçanların İnce Bağırsak Histopatolojik Bulguları

İnce bağırsak dokusunun HE boyalı slaytlarının mikroskopik görüntüleri. Bar = 100 mikron; büyütülmüş alan Bar = 50 µm. (a) Kontrol grubunun ince bağırsağının yapısı gösterilmiştir; Villus (v) ve Brunner bezleri (B). (b) Sadece ALA grubundaki ince bağırsağın yapısı kontrol grubuna benzer. (c) Mukozit grubunda villus dökülmesi ve enterositlerde düzensizlik görülür. (d) Mukozit+ALA grubunda villus yapılarının düzgün olduğu görülmektedir.



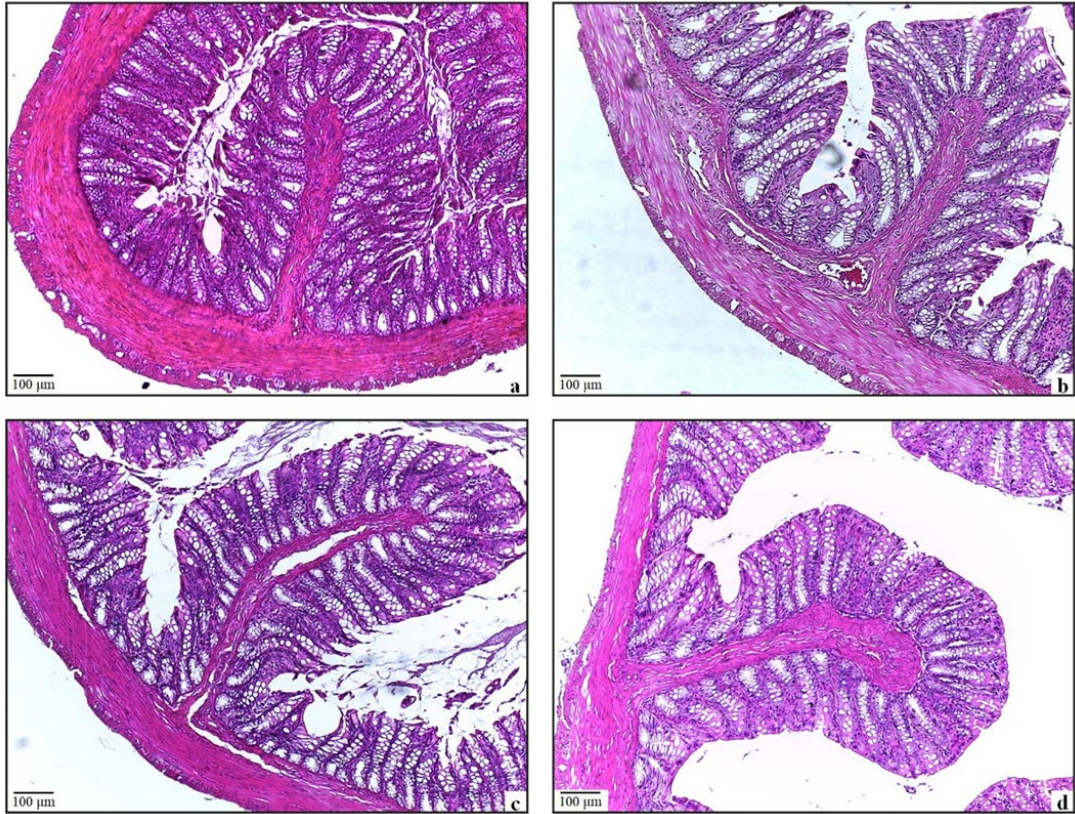
Kalın Bağırsak Histopatolojik Bulgular

Kontrol ve deney gruplarında kolon bölgesinde yapısal bir değişiklik saptanmadı. Tek katlı prizmatik epitel hücreleri, goblet hücreleri, bezler normal görünümde gözlemlendi (Şekil 31).

Şekil 31.

Sıçanların Kalın Bağırsak Histopatolojik Bulguları

Kalın bağırsak dokusunun HE boyalı slaytlarının mikroskopik görüntüleri. Bar = 100 mikron. (a) Görüntü, kontrol grubunun kalın bağırsağını göstermektedir. (b) Yalnızca ALA grubundaki yapı, kontrol grubuna benzer. (c) Mukozit grubundaki goblet hücre yoğunluğu kontrol ve ALA gruplarına benzerdi, enterositlerde dejenerasyon gözlenmedi. (d) Mukozit+ALA grubundaki yapı kontrol grubuna benzer.



BÖLÜM V

Tartışma

Bu bölümde, elde edilen bulgular literatürde yer alan araştırmalar çerçevesinde tartışılmıştır.

Kanser insidansı ve ölüm oranları hem büyüyen hem de yaşlanan bir popülasyonun yanı sıra, çoğu sosyoekonomik gelişme ile bağlantılı olan ana kanser risk faktörlerinin prevalans ve dağılımındaki değişiklikleri yansıtan, dünya genelinde çarpıcı bir şekilde artmaktadır (Gersten & Wilmoth, 2002; Omran, 2005).

5-FU, çok çeşitli malignitelerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik bir ajandır. 5-FU'nun sistemik kullanımı, mide adenokarsinomu, pankreas adenokarsinomu, meme karsinomu ve kolorektal adenokarsinom tedavisinde FDA tarafından kullanım onayı vardır (Prince et al., 2018). Sistemik kullanıma ek olarak, 5-FU, çoklu aktinik veya solar keratozların yanı sıra diğer tedavi yöntemleri pratik olmadığına yüzeysel bazal hücreli karsinomlar dahil olmak üzere birçok dermatolojik durumun tedavisinde topikal kullanım için de FDA onaylıdır (Gupta vd., 2001).

5-FU için FDA onaylı endikasyonlara ek olarak, klinisyenler genellikle melanomdan metastatik kutanöz lezyonlar, keratoakantomlar ve tedaviye dirençli vitiligo dahil olmak üzere çeşitli diğer cilt durumlarını tedavi etmek için topikal olarak kullanırlar. Kanıtlar, yüksek riskli bireylerde skuamöz hücreli karsinomu azaltmak için yüze ve kulaklara uygulanan geleneksel dört haftalık 5-FU kürünün düşünülebileceğini düşündürmektedir. 5-FU'nun diğer dermatolojik kullanımları, kolloidlerin ve hipertrofik skarların azaltılmasını içerir (Prince vd., 2018; Weinstock vd., 2018).

5-FU, oral yoldan uygulandığında gastrointestinal sistemde zayıf emilim sergiler. Sistemik biyoyararlanımı optimize etmek için viseral maligniteler tedavi edilirken 5-FU'nun parenteral uygulaması tercih edilir. 5-FU, intravenöz bolus yoluyla, birkaç gün boyunca sürekli intravenöz infüzyon yoluyla ve bir ila iki hafta boyunca bir ayaktan pompa aracılığıyla "uzun süreli" infüzyon yoluyla uygulanabilir. İntravenöz olarak verildiğinde, karaciğerdeki hızlı katabolizma nedeniyle 5-FU'nun terminal yarı ömrü yaklaşık 8 ila 20 dakikadır (Diasio & Harris, 1989).

Bazı genel doz rejimleri endikasyonlara göre uygulanır. Bununla birlikte, klinisyenler, toksisite ile ilgili doz ayarlamaları dahil olmak üzere spesifik dozlama için kurumsal protokollere ve prospektüslere başvurmalıdır. Ayrıca, burada kapsanmayan aşağıdaki koşullardan bazıları için alternatif rejimler de vardır.

Böbrek yetmezliği herhangi bir doz ayarlaması gerektirmez, ancak hemodiyaliz hastalarının diyaliz günlerinde dozlarını %50 azaltması gerekir. Karaciğer yetmezliğinde dikkatli olunması önerilir.

Kanserle mücadelede en önemli sınırlayıcı faktörlerden biri kullanılan kemoterapötik ilaçların neden olduğu yan etkilerdir. Mukozit kanser hastalarında en sık karşılaşılan sorunlardan biridir (Epstein vd., 2012). 5-FU, yaygın olarak kullanılan bir antikanser ilacıdır. İlk olarak 1957 yılında kullanılmış olup kolon kanseri tedavisinde önemli rol oynamıştır ve meme ve baş boyun kanseri gibi diğer kanserleri olan hastalarda kullanılmaktadır (Grem, 2000). Nükleosit metabolizması ve daha sonra RNA ve DNA'ya dahil edilir, bu da değişken toksisite ve ardından doku hasarı ile sonuçlanır (Noordhuis vd., 2004). Anti-metabolit ilaç 5-FU'nun toksik etkileri için oksidan-antioksidan dengesizliğine neden olmak, sitokin seviyelerini ve proteolitik enzim aktivitesini arttırmak ve nihayetinde farklı doku hasarı mekanizmalarını aktive etmek gibi çeşitli mekanizmalar önerilmiştir (Cairns vd., 2017; Wyatt & Wilson, 2009). Yaygın olarak kullanılan kemoterapi tedavileri, normal dokularda önemli oksidatif hasar ürettikleri için kanser tedavisinde kullanılmamaktadır (Ding vd., 2016). Klinik pratikte, çoğu kemoterapötik ajan, potansiyel olarak oral mukozadan alt gastrointestinal sisteme, karın ağrısı, şişkinlik, diyare, hematokezya veya gastrointestinal sistem enfeksiyonu olarak ortaya çıkabilen mukoziti indükleyebilir. Apoptoz, hipoproliferasyon ve enflamasyon mukozal hasara katkıda bulunur (Logan, Stringer, vd., 2007).

Patogenez, mukozitli hastalarda karmaşık bir süreçtir. Deneysel sonuçlarımız, farelere tekrarlanan 5-FU uygulamasının, fizyolojik semptomlar (kilo kaybı, ishal ve iltihaplanma gibi) ve morfolojik hasar (kısılma gibi) dahil olmak üzere bağırsak mukozitinde tipik patojenik değişikliklere neden olduğunu gösteren önceki bir çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. İnce bağırsakta villus yüksekliği ve kriptlerin yok edilmesi (C. T. Chang vd., 2012; Y. Chen vd., 2016; Gou vd., 2016). Ek olarak, bağırsak mikrobiyotasındaki değişiklikler, kemoterapiden sonra bağırsak mukozitinin ilerlemesini doğrudan etkileyen aktif toksik metabolitlerin oluşumuna yol açar (Stringer vd., 2009). 5-FU en önemli antineoplastik ilaçlardan biri olmasına rağmen

klirik uygulamalarda diyare ve dispepsi sendromu ile ilişkili intestinal mukoziti indükleyebilir (Baerg vd., 1999). 5-FU, kript tabanında hızla çoğalan hücreleri yok edebilir ve hücrelerin yenilenmesinin azalmasına neden olarak bütünlük kaybına neden olabilir (Peterson vd., 2011). 5-FU'nun bağırsak mukozitinin patogeneğinde yer aldığı mekanizmalar, karmaşık biyolojik olayların sonucudur, ancak bu mekanizmalar hala belirsizliğini koruyor. Birkaç çalışma, enflamatuar yollar dahil olmak üzere çeşitli patojenlerin dahil olduğunu ve bu süreçte NF-κB'nin kritik olduğunu düşünölmüştür (Uttra vd., 2018). 5-FU ile indüklenen bağırsak mukozitinde rol oynayan muhtemel anahtar molekül, IL-1, IL-6, TNF-α ve siklooksijenaz-2'yi kodlayanlar dahil olmak üzere çok sayıda enflamatuar genin indüklenmesi için gerekli olan NFκB'dir ve bağırsak lezyonlarına yol açar (C. T. Chang vd., 2012). Bulgularımız, 5-FU'nun bağırsak dokusunda NF-κB ekspresyonunu artırabileceği IL-1β ve TNF-α gibi pro-enflamatuar sitokinlerin üretimini artırabileceğine dair önceki raporlarla tutarlıdır (C. T. Chang vd., 2012; Y. Chen vd., 2016). Daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, 5-FU ile indüklenen intestinal mukozal enflamatuar hastalığın ve ALA'nın 5-FU ile tedavi edilen ratlarda koruyucu etkilerinin enflamatuar yolları rahatlatmak için genişletilebileceğini gösterildi. Sonuç olarak, yan etkisi olmayan veya çok az yan etkisi olan yeni antikanser tamamlayıcı ve alternatif ilaçlara umutsuzca ihtiyaç duyulmaktadır

5-FU gibi antikanser ilaçlarının uygulanması, SOD ve GPx aktiviteleri dahil olmak üzere antioksidan enzim aktivitelerinde ciddi azalmaya ve ayrıca sülfhidril grupları gibi enzimatik olmayan antioksidanlar üzerinde zararlı etkilere neden olabilir. Bu veriler, 5-FU tedavisine bir oksidatif denge bozukluğunun eşlik ettiğini gösteren önceki çalışmaları tamamen doğrulamaktadır (Conklin, 2004; Hess & Khasawneh, 2015; Panis vd., 2012). Sıçanlarda, 5-FU uygulaması ciddi vücut kütle kaybına, lökopeniye, villus/kript oranında önemli bir düşüşe, nötrofil infiltrasyonuna ve ROS tüketimine atfedilebilecek bağırsak SOD ve GPx konsantrasyonunda bir azalmaya neden olmuştur (Sonis, 2004). Önceki çalışmalardan elde edilen kanıtlar, aşırı serbest radikal salınımı ve ROS yoluyla 5-FU ile indüklenen gastrointestinal hasarın patogeneğinden oksidatif stresin sorumlu olduğunu bildirmiştir (Yan vd., 2020). 5-FU, farelerde esas olarak bağırsak mukoziti ve sistemik değişiklikler nedeniyle kilo kaybını indükler, kript hücre dönüşümünü etkiler ve sonuçta villus emici yüzey alanının azalmasına yol açar (Soares vd., 2008). 5-FU ile mücadele

edilen sıçanlarda dehidrasyon, anoreksi ve derin lökopeniye ek olarak 5-FU enjeksiyonundan 6 gün sonra %20 kilo kaybı sergiler (Wu vd., 2011). Daha önceki çalışmaların sonuçlarına göre, oksidatif stresin patofizyolojisi, aşırı serbest radikal salınımı ve 5-FU'nun neden olduğu ROS gastrointestinal hasarından kaynaklanmaktadır (Nadhanan vd., 2012; Rapa vd., 2021; Rashid vd., 2014). Bu çalışmanın sonuçları, 5-FU'nun, hücrel SOD ve GPx antioksidanlarının tükenmesine neden olmasının yanı sıra, lipid peroksidasyonunu ve bunun sonucunda hücrel membranlarda hasarı tetiklediğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular önceki raporlarla uyumludur (Al-Henhena vd., 2015; Kütük & Nazıroğlu, 2020; Ma vd., 2020; Rashid vd., 2014).

İnce bağırsak mukozasında protein ekspresyonunun belirlenmesi, bir 5-FU tedavi grubunun önemli ölçüde daha yüksek ekspresyona sahip olduğunu ve toplam NF- κ B ekspresyonundaki artışın doza bağımlı olmadığını ortaya çıkardı (M.-K. Song vd., 2013). 5-FU ile tedavi edilen farelerde, NADPH oksidaza (NOX) ROS, NF- κ B dahil olmak üzere çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yoluyla TNF- α gibi pro-enflamatuar sitokinlerin yukarı regülasyonunu desteklediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda, 5-FU'nun neden olduğu NOX1'den türetilmiş ROS'un, kaspaz 3 ve kaspaz 8 gibi sistein-aspartik proteazları (kaspazlar) aktive ederek ve enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu artırarak hücre ölümünü desteklediğini öne sürdüler (Yasuda vd., 2012) IL-1 β , endotelyal adezyon moleküllerinin enflamatuar yanıtını başlatmada sinerjik bir etki için TNF- α ile çalışırken bile, NF- κ B yolunun aktivasyonunda çok önemli bir rol oynar (Dinarello, 2000).

ALA'nın en iyi bilinen işlevleri, oksidatif stresle ilişkili patolojiler için potansiyel bir müdahale stratejisi olarak kullanımını teşvik eder. Ayrıca, ALA'nın gastrointestinal sistemi koruyan anti-enflamatuar özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda mide, ince ve kalın bağırsaklarda MDA seviyeleri artmış, SOD ve GPx aktiviteleri azalmış, ALA tedavisi bu değişiklikleri iyileştirmiştir. Aslında, ALA'nın, artan oksidatif strese neden olan ağır metalleri ortadan kaldırarak ve antioksidan savunma sistemini geri yükleyerek, sadece mide ülserleri değil, aynı zamanda ince ve kalın bağırsaklar da dahil olmak üzere çeşitli modellerde olağanüstü antioksidan aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Sonuçlarımız daha önceki çalışmalar ile uyumlu çıkmıştır (Bhattacharyya vd., 2014; Kaplan vd., 2012; C. H. Park vd., 2009; Piechota-Polanczyk vd., 2016).

Gastrointestinal mukozitin iyi bilinen önemli bir özelliği, öncelikle bağırsak villus yırtılması ve atrofi, kript yapısının kaybı, mide epitel hücre dejenerasyonu, artan goblet hücre boşalması ve enflamatuar hücre infiltrasyonudur (Wei vd., 2020). Bunların en belirgin özelliği genellikle mukozal bütünlüğün bozulması ve villus ve kript parametrelerinin değişmesidir (Inomata vd., 2002; Korenaga vd., 2002). Bağırsak yaralanmaları, fırça sınırındaki hidrolaz aktivitesindeki değişiklikleri (Petschow vd., 1993) körelmiş villus yükseklikleri, kript derinlikleri ve azalmış çoğalma ile kript hücrelerinin artan apoptozunu içerebilir (Carneiro-Filho vd., 2004). Demedts ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre (Demedts vd., 2006) bağırsak iltihabının, bir dizi enflamatuar aracıyı içeren düz kas kasılmasında akut ve uzun süreli değişikliklere neden olduğunu gösterdi. Bununla birlikte, enflamasyon ve motilite arasındaki etkileşimi açıkça gösteren birkaç başka deneysel sonuç da vardır. Örneğin sepsis, nitrik oksit üretimini (de Winter vd., 2002) ve bağırsak hipomotilitesini etkileyebilen gastrointestinal motiliteyi inhibe eder. Gecikmiş gastrik boşalmanın, postoperatif ileum fare modelinde de karakteristik olduğu gösterilmiştir (de Jonge vd., 2003) bu, 5-FU tedavisi altındaki hastalarda gözlenen diyare ile ilişkilendirilebilir.

5-FU ile kemoterapi, bazal epitel hücrelerinde doğrudan apoptozu teşvik ederek, NF- κ B aktivasyonuna katkıda bulunur ve ardından pro-enflamatuar sitokinler TNF- α ve IL-1 β üretimi ile sonuçlanır. TNF- α , NF- κ B ile sinerjik olarak etkileşir, aktivasyonunu güçlendirir ve ayrıca doku hasarında etkili olan diğer pro-enflamatuar faktörlerin ekspresyonundaki artışa katkıda bulunur (Basile vd., 2019; Costa vd., 2019).

5-FU, bağırsak epitel hücrelerinin zar akışkanlığını değiştirir (Tomimatsu & Horie, 2005) ve bağırsakta TNF- α ve IL-1 β gibi pro-enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunun artmasına yol açabilir (Huang vd., 2009; Melo vd., 2008; Tomimatsu & Horie, 2005; Wu vd., 2011). Bu çalışmada ALA'nın 5-FU ile indüklenen gastrointestinal mukozit üzerindeki etkilerini rapor ediyoruz; bu, ALA'nın bir antineoplastik ajan olan 5-FU'nun oksidatif hasar, nötrofil alımı, mastositoz, goblet hücresi dahil olmak üzere bağırsaklar üzerindeki zararlı etkilerini tersine çevirebileceğini gösteriyor. Tükenme ve histolojik ve morfometrik değişiklikler, elimizdeki bilgiler, daha önceki çalışmalarda toplanan bilgilerle de tutarlıdır (Fan vd., 2017; Kolgazi vd., 2007; Moura vd., 2015; Trivedi & Jena, 2013). Tedavi protokolümüzde kullandığımız ALA'nın daha önce hem ülser hem de kolit

modellerinde gastrointestinal dokular üzerinde koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (Gomaa vd., 2018; A. Hassan vd., 2010; Kolgazi vd., 2007).

Çalışmamızda ALA ile tedavi edilen gruplarda gastrointestinal mukozal hasarın yapısal olarak düzeldiğini gözlemledik.

Mukozal ülserlerdeki bakteriyel kolonizasyon ayrıca pro-enflamatuar makrofajların infiltrasyonunu ve aktivasyonunu uyararak enflamasyonu indükler ve gastrointestinal kanalda oldukça zor bir enflamasyon döngüsüne yol açar (Sougiannis vd., 2021).

Çalışmamızda, Mukozit grubunda pro-enflamatuar sitokinler IL-1 β ve TNF- α 'nın hem serumda hem de dokularda (mide, ince bağırsak veya kalın bağırsak) arttığını ortaya koyduk. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda serumdaki bulgularımız doğrultusunda 5-FU uygulamasından sonra IL-1 β ve TNF- α düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (Akyuz vd., 2018; Curra vd., 2013). Ancak, bu sitokinlerin mide ve bağırsak dokuları üzerindeki etkilerini inceleyen daha önce yayınlanmış herhangi bir çalışmayı bulamadık. Sonuç olarak bulgularımız, bu sitokinlerin sadece sistemik etkiler yoluyla değil, aynı zamanda yerel etkiler yoluyla da yapısal hasara katkıda bulunduğunu göstermektedir. ALA tedavisinin Mukozit sıçanlarında IL-1 β ve TNF- α düzeylerindeki artışı tersine çevirebildiği tespit edildi. Bununla birlikte, ALA'nın sadece plazma sitokin üretimini baskıladığı çalışmalarda gösterilmiştir (Şehirli, Şener, vd., 2008; Şehirli, Tozan, vd., 2008).

Reaktif oksijen türleri (ROS), çeşitli çevresel streslerde üretilen önemli ve yaygın bir habercidir ve birçok MAPK türünü aktive ettiği bilinmektedir (Jalmi & Sinha, 2015). ALA, bağırsak hasarından sonra üretilen aşırı ROS'u ortadan kaldırarak MAPK sinyalini düzenleyebilir. Çalışmamızda, bağırsak epitel hasarının ALA tarafından onarılmasının PI3K/AKT, JNK ve p38 MAPK sinyal yollarının inaktivasyonu ile ilişkili olabileceğini ancak daha fazla doğrulamaya ihtiyaç olduğunu bulduk. AKT, JNK ve p38'in ALA inhibisyonundaki fark, farklı yollarda anjiyogenez ve enflamasyonu etkilemelerinden kaynaklanıyor olabilir (G. Yu vd., 2022). Oksidatif stresin p38 MAPK sinyal yolunu aktive ettiği ve azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (J. Yu vd., 2013).

Daha önce bildirildiği gibi, 5-FU ile indüklenen böbrek hasarı, artan üre ve serum kreatinin seviyeleri ile belirgindir. Bulgularımız bu çalışmalarla uyumludur ve 5-FU ile tedavi edilen farelerin serum üre ve kreatinin seviyeleri çok yüksektir (Gelen, Şengül, Gedikli, Atila, vd., 2017; Gelen, Şengül, Gedikli, Gür, vd., 2017).

LDH, BUN ve kreatinin, böbrek hasarının analizinde yaygın olarak belirteçler olarak kullanılır (Oršolić, 2010). Yüksek BUN ve serum kreatinin seviyeleri, 5-FU'nun neden olduğu böbrek hasarını gösterir. Mevcut çalışmanın sonuçları, önceki çalışmaların bulgularıyla tutarlıdır (Ali, 2012). ALA uygulanan sıçanlarda 5-FU ile tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında daha düşük LDH, BUN ve kreatinin seviyeleri bulundu. LDH, BUN ve kreatinin seviyelerinde bir azalma, muhtemelen ALA'nın nefroprotektif etkinliğinden kaynaklanmaktadır. 5-FU grubunda diğer gruplara göre LDH'de belirgin bir artış görüldü.

5-FU geleneksel olarak bir anti-metabolik ajan olarak sınıflandırılır. 5-FU, bir pirimidin türevidir ve hem normal hücrelerde hem de tümör hücrelerinde DNA ve RNA sentezine müdahale eder. 5-FU ayrıca protein sentezini de engeller. Esasen, 5-FU bir proteinaz inhibitörü olarak hizmet edebilir ve akut pankreatit sürecinin tamamı boyunca genel etki gösterebilir. 5-FU, pankreas enzimlerinin sentezini ve salgılanmasını azaltır. Böylece, ilk aşamada oto-sindirim yoluyla pankreas dokularındaki hasarı hafifletebilir. Bu işlev daha önce onaylanmıştır (Johnson vd., 1973; Mann & Mann, 1979).

5-FU ile tedavi, şiddetli hepatotoksisite saptanan hayvanlarda serum ALT, AST ve ALP aktivitelerinde önemli bir artışla sonuçlandı. Bu veriler, başka literatürdeki veriler ile tutarlıdır (Dimitriu vd., 2015). Aşırı oksidatif üretim ve karaciğerde oksidasyon ürünlerinin birikmesi, bu çalışmada biyolojik zarlara ve karaciğerin endotel astarına zarar vermiştir. Bu muhtemelen kanda ALT, AST ve ALP konsantrasyonlarının yükselmesine neden olan karaciğer hasarından kaynaklanıyordu. ALT, AST ve ALP, hücrel hasar ve toksisitenin en önemli biyolojik belirteçleri olarak kabul edilir. Serum AST, ALT ve ALP aktivitesinde önemli bir yükselme, diğer çalışmalarda akut karaciğer hasarının bir göstergesi olarak kullanılmıştır (MacNamara & Goldberg, 1985; Zeashan vd., 2009).

ALA, hayvanlar ve insanlar tarafından sentezlenen, doğal olarak oluşan bir bileşiktir. Piruvat, α -ketoglutarat ve dallı zincirli α -keto asitler gibi α -keto asitlerin oksidatif dekarboksilasyonunu katalize ederek birkaç mitokondriyal multienzim kompleksinde bir kofaktör olarak işlev görür (Ma vd., 2020; Zhang & Frei, 2001). ALA tipik bir günlük diyetle tüketilir, kan-beyin bariyerinden emilir ve hücreler ve dokular tarafından alınır ve dihidrolipoik aside dönüştürülür (Cameron vd., 1998).

ALA, moleküler yapısı nedeniyle redoks durumu ile çeşitli biyokimyasal reaksiyonlara katılma kabiliyetine sahiptir. ALA ve indirgenmiş formu dihidrolipoik

asit, kiral bir merkeze sahiptir. ALA, indirgenmiş veya oksitlenmiş formlarda olabilen iki tiyol grubuna sahiptir. ALA moleküler yapısında, halkasında iki kükürt atomu bulunan bir ditiolan halkasına sahiptir ve bu da son derece yüksek elektron yoğunluğuna neden olur. ALA ve indirgenmiş formu dihidrolipoik asit, biyolojik sistemlerdeki NAD (P) H/NAD (P) redoks çiftine benzer ve büyük bir indirgeme potansiyeline sahiptir. Antioksidan etkileri doğrudan oksitlenmiş moleküllere elektron vererek gerçekleşir (Hiller vd., 2016). Bununla birlikte, çalışmalar ALA'nın serbest oksijen ve nitrojen radikallerini temizleyerek kayda değer bir antioksidan etkiye sahip olabileceğini göstermiştir (Packer vd., 2001). Ayrıca, çalışmalar, ALA ve metabolitlerinin antioksidan ve antienflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermiştir.

Bu nedenle, sadece plazma sitokin düzeylerini değil, aynı zamanda doku sitokin düzeylerini de baskılamanın, ALA'nın mukozite karşı koruyucu aktivitesinin altında yatan önemli bir mekanizmayı temsil ettiği düşünülmektedir. Bütün bunlar bağırsak mukozasının zarar görmesine ve şiddetli ishale yol açar. Kemoterapinin neden olduğu bağırsak mukoziti üzerinde birçok strateji kullanılmasına rağmen, standart tedaviler ağrı kesici, ishal önleyici ilaçlar ve enfeksiyon kontrolü ile sınırlıdır ve büyük ölçüde etkisiz olmuştur. Doğal tıbbı artan ilgiyle birlikte, çoklu biyolojik olarak aktif bileşiklerden oluşan antioksidan ilaçların, bağırsak mukoziti için potansiyel bir tedavi olarak benimsendiği bulunmuştur. Bu çalışmada, ALA'nın 5-FU ile indüklenen farelerin bağırsak yaralanmaları üzerindeki koruyucu etkilerini ortaya koyduk.

Bir antioksidan olarak ALA'nın mekanizması, oksidatif stres üzerindeki etkisiyle ilişkilidir. Bir sıçan deneyinde, ALA ön tedavisi bağırsakta oksidatif stresi ve iltihabı önemli ölçüde azalttı (Dadhania vd., 2010). ALA domuz yavrusu bağırsak epitel hücrelerini (IPEC-J2 hücreleri) hidroksil radikalini temizleyerek H₂O₂ kaynaklı hasara karşı korudu. Bağırsak epitel hasarı onarım sürecinde ALA belirsizliğini koruyor (Cai vd., 2013).

MMP'ler ayrıca enflamatuvar süreçleri modüle etme, doğuştan gelen bağışıklığı ve yaralanmayı takiben onarım yetenekleriyle de tanınmaktadır (Parks vd., 2004), enflamatuvar süreci bir dizi hücrel yanıtta oluşan bir süreç olarak tanımlamaktadır. Ayrıca, enflamatuvar tepkiler, aşağıdakilerle bağlantılı bilgilerin bütünleştirilmesine dayanır: 1. bir yaralanmanın ve/veya mikroorganizmaların varlığının tespiti, 2. istilacı mikroorganizmaları ve enfekte olmuş konakçı hücreleri

ortadan kaldıran hücrelerin birikmesi ve müdahalesi ve 3. hasar gören dokuların onarımı. İlk hakaret, travma veya organizmanın tepkisi (Parks vd., 2004). Hasarlı mukozal epitelde, hücre çoğalması, yayılması ve göçü yoluyla yarayı iyileştirmek için hücreler tarafından hızla bir yara onarım programı devreye alınır. MMP'ler, bu yara onarım programının anahtar aşağı akış araçlarıdır. Kemoterapinin neden olduğu mukozit çalışmalarında, gastrointestinal kanalda mukozitin iyileşme evresinde (kemoterapiyi takiben 72 saat ile 144 saat arasında) MMP-1 seviyeleri önemli ölçüde yükselir (Al-Dasooqi vd., 2010; Stringer vd., 2013). MMP'ler, aktive edildiğinde hücre dışı matriksin çeşitli protein bileşenlerini sindirebilen bir metalloenzim ailesidir. Yaşlı insan derisi içinde biriktiği gösterilmiş olan yaşlanmış hücreler, genç, replikasyon yetkin hücrelere kıyasla değişmiş MMP ekspresyonu modeli sergiler (West vd., 1989). Özellikle kollajenaz-1 (MMP-1) ve stromelisin-1 (MMP-3) üretimleri geç geçişli cilt fibroblastlarında önemli ölçüde arttırılır MMP-1'in aktivitesi, diğerlerinin yanı sıra, metalloproteinaz-1'in (TIMP-1) endojen inhibitör doku inhibitörü tarafından düzenlenir. MMP-1'e uygun olarak, TIMP-1 ayrıca keratinositler, monositler ve fibroblastlar tarafından üretilir ve MMP'leri düzenlemenin yanı sıra TIMP-1'in büyümeyi teşvik edici işlevleri de vardır. MMP-1 ve TIMP-1 arasındaki dengenin doku homeostazında önemli olduğuna inanılır ve MMP-1 ve TIMP-1'in MMP-1 lehine bir dengesizliği, hücre dışı matriksin patolojik bozulması ile ilişkilidir (Sternlicht & Werb, 2001). Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), hücre dışı matriksi bozan Zn içeren endopeptidazların bir ailesidir. Hücre dışı matriks döngüsünde merkezi bir rol oynamanın yanı sıra, MMP'ler kemokinler, sitokinler, büyüme faktörleri ve bağlantı proteinleri dahil olmak üzere çeşitli matriks olmayan substratları aktive eder veya bozar (Ravi vd., 2007).

MMP'ler, göç eden keratinositlerin ECM'ye yapışmasını gevşetmede ve ECM'yi yeniden yapılandırmada çok önemli roller oynar (Pilcher vd., 1997). MMP-1, keratinositler ve dermal matriks arasındaki sıkı temasların gevşemesine aracılık eden ve böylece hücrelerin hareket etmesine izin veren bir kolajenazdır. MMP-2, keratinosit göçünü uyarabilen ve anjiyogeneze katkıda bulunabilen jelatinazlardır (Rohani & Parks, 2015). ECM'nin bozulmasına ek olarak, MMP'ler serbest bırakma yoluyla hücre dışı sinyal ağlarının düzenleyicileri olarak önemli işlevler oynarlar. Sitokinler ve büyüme faktörleri ve hücre yüzeyi reseptörlerinin modifikasyonu (Löffek vd., 2011). Bununla birlikte, aşırı yüksek MMP seviyeleri, ECM bileşenlerinin aşırı bozulmasına ve hücre göçünün bozulmasına neden olabilir. Bu

nedenle başarılı bir yara iyileşmesi, yara onarımının belirli aşamalarına ve belirli yerlere göre sıkı bir şekilde kontrol edilen MMP ekspresyonu ve aktivitesi gerektirir (Caley vd., 2015).

Proteolitik bozulma, yeniden düzenleme ve sıkılığın bozulması eklem proteinleri önemli bir düzenleyici özellik oluşturur hem fizyolojik hem de patolojik doku yeniden şekillenmesi (Cummins, 2012) özellikle sıkı bağlantı proteinleri kemoterapiye yanıt olarak yapısal ve moleküler değişikliklere uğrar (Beutheu Youmba vd., 2012; Nakao vd., 2012) ancak sorumlu mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. MMP'ler, özellikle enflamatuar yanıtta, geniş dizi işlevleriyle tanınır. Son araştırmalar, artan matriks metalloproteinaz aktivitesinin hem endotel hem de epitel bariyerlerinin artan geçirgenliği ile ilişkili olduğunu ve güçlü bir şekilde MMP aracılı sıkı bağlantı bozulmasını ima ettiğini göstermiştir (Bauer vd., 2010; Cummins, 2012; Lischper vd., 2010; Vermeer vd., 2009). Bağırsak mukozitinin gelişiminde hem MMP'lerin (Al-Dasooqi vd., 2010) hem de sıkı bağlantıların (Wardill vd., 2012) bütünleyici rolleri göz önüne alındığında; Kemoterapiye bağlı mukozit patofizyolojisinde potansiyel bir yol olarak mevcut MMP-sıkı bağlantı etkileşimleridir.

Kollajenazlar, stromelisinler, jelatinazlar, membran tipi MMP'ler ve diğer endopeptidazlar, MMP kalsiyum bağımlı çinko içeren enzimler ailesinin beş alt grubudur (Pittayapruek vd., 2016). Epitelyal, mezenkimal ve hematopoietik hücreler tarafından eksprese edilirler (Alison vd., 2009). Özellikle MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1'in enflamasyonu etkilediği deneysel ve klinik araştırmalarda kanıtlanmıştır (Q. Chen vd., 2013; Nissinen & Kähäri, 2014; Paiva & Granjeiro, 2014). Bulgularımız, 5-FU ile indüklenen gastrointestinal mukozitin, serum ve dokularda proteolitik enzimler MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1'in aktivitesini arttırdığını göstermektedir. MMP'ler ve TIMP-1, hücre dışı matriks proteinlerini parçalayarak dokular üzerinde açıkça olumsuz bir etkiye sahiptir ve gastrointestinal mukozit patofizyolojisinde önemlidir.

Kontrol ve ALA gruplarıyla karşılaştırıldığında, 5-FU uygulaması Mukozit+ALAgubunda serum ve dokularda MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1 aktivasyonunu arttırdı. ALA'nın MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1 ekspresyon seviyelerini nasıl etkilediğini araştırmak için çeşitli enflamasyon modelleri kullanılmıştır. ALA'nın etkisini araştırmak için, MMP-1, MMP-2, MMP-8 ve TIMP-1'in spesifik ekspresyon seviyeleri ile sonuçlanan çeşitli enflamasyon modelleri

kullanıldı (Cavdar vd., 2014; Kalkan vd., 2020). ALA'nın enflamasyon modellerinde anti-enflamatuar ve antioksidan etkileri, koruyucu etkinin TIMP-1 aktivitesini arttırırken MMP-1, MMP-2 ve MMP-8 ekspresyonunu azaltarak üretildiğini ortaya koymuştur (Sharma vd., 2020; Tsou vd., 2014). 26 tanınmış MMP'den birkaçı, enflamatuar hastalıklar ve kanserde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. MMP-8 ve -9, tümör hücrelerine ek olarak fibroblastlar ve infiltre edici enflamatuar hücreler tarafından eksprese edilen kollajenaz MMP'leridir (Herszényi vd., 2012).

Bazı çalışmalar TIMP-1 aktivasyonunun MMP aktivasyonuna karşı koruduğunu gösterse de diğerleri artan TIMP-1 aktivasyonunun pro-enflamatuar sitokin ekspresyonunu artırarak enflamatuar bir yanıtı neden olduğunu göstermektedir (Knight vd., 2019; L. Song vd., 2016). Çalışmamızda, gelişmiş TIMP-1 aktivasyonu ve yüksek pro-enflamatuar sitokin üretimi, bu fenomenin doğrulandığını düşündürmektedir (Bugno vd., 1999).

Mukozitinin ciddi sonuçları, yeni terapötik hedeflere yönelik yeni araştırmaları gerektirir. Biyopatolojisinin anlaşılması ve serbest radikallerin oluşumundan başlaması, mukozitin önlenmesinde çok çeşitli antioksidan ajan türlerinin rolü ile ilgili çalışmalara artan bir ilgiyi teşvik etmiştir. Birkaç çalışmadaki umut verici sonuçlar göz önüne alındığında, ALA'nın bu süreçteki uygulamaları, bu maddenin çeşitli sağlık koşullarında sahip olduğu potansiyel yenilikçi etkiler göz önüne alındığında, ortaya çıkan bir araştırma uygun olarak vurgulanmalıdır.

BÖLÜM VI

Sonuç ve Öneriler

Bu bölümde araştırmanın amaç ve alt amaçları doğrultusunda ulaşılan sonuçlara ve bu sonuçlardan yola çıkarak geliştirilen önerilere yer verilmiştir.

Sonuçlar

5-FU tarafından indüklenen malondialdehit (MDA), interlökin-1 beta (IL-1 β) ve tümör nekroz faktörü -alfa (TNF- α) konsantrasyonlarının mide, ince ve kalın bağırsak dokularında ve serumda anlamlı düzeyde artışı tespit edildi. 5-FU tarafından indüklenen sıçanlarda ALA tedavisinden sonra gastrointestinal mukozitin, sıçanlardan alınan hem serum hem de mide, ince ve kalın bağırsak dokularında MDA, IL-1 β ve TNF- α konsantrasyonları dokularda ve serumda anlamlı ölçüde azaldı.

5-FU tarafından indüklenen Glutasyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri mide, ince ve kalın bağırsak dokularında ölçülmüştür bununla beraber anlamlı bir azalış tespit edilmiştir. Buna karşın 5-FU tarafından indüklenen sıçanlara ALA tedavisinden sonra Glutasyon peroksidaz (GPx) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri mide, ince ve kalın bağırsak dokularında ölçülmüştür bununla beraber anlamlı bir artış tespit edilmiştir

5-FU uygulanan sıçanlarda karaciğer ve pankreas enzimlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş ölçülmüştür. 5-FU ile indüklenen sıçanlarda ALA uygulamasından sonra karaciğer enzimlerinde anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

Araştırmamızın bir sonucu olarak, ALA ve 5-FU kombinasyonunun, bir oksidan-antioksidan denge ile birlikte enflamasyonun kontrolünde yer alan parametrelerde olumlu değişikliklere neden olduğunu keşfettik.

Araştırmamızda ALA kullanarak, bu alandaki bilgi birikimine katkıda bulunduğumuzu düşünüyoruz

Öneriler

Bulgularımız, ALA'nın 5-FU tedavisine dahil edilmesinin gastroenteriti olan kanser hastaları için potansiyel bir seçenek olduğunu göstermektedir.

5-FU ile indüklenmiş mukozitte serbest radikal üretiminde artış ve antioksidan savunmada yetersizlik bulunmaktadır. Bununla birlikte, yaptığımız modellemede oksidatif stresi azaltmak için ALA'nın eklenmesi tedavide olumlu ve faydalı olacaktır. Bizim çalışmamızda mukozitdeki patolojik süreçlerin oluşmasında önemli etkisi olan oksidatif stresin ve endotel disfonksiyonun engellenmesinde ALA eklenmesinin daha sonraki süreçlerde olumlu olduğunu tespit ettik. Mukozit tedavisinde ALA etkinliğine dair ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynakça

- Akyuz, C., Yasar, N. F., Uzun, O., Peker, K. D., Sunamak, O., Duman, M., Sehirli, A. O., & Yol, S. (2018). Effects of melatonin on colonic anastomosis healing following chemotherapy in rats. *Singapore Medical Journal*, 59(10), 545-549. <https://doi.org/10.11622/smedj.2018035>
- al Abdan, M. (2012). Alfa-lipoic acid controls tumor growth and modulates hepatic redox state in Ehrlich-ascites-carcinoma-bearing mice. *The Scientific World Journal*, 2012, 509838. <https://doi.org/10.1100/2012/509838>
- Ala-Aho, R., & Kähäri, V. M. (2005). Collagenases in cancer. *Biochimie*, 87(3-4), 273-286. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2004.12.009>
- Al-Dasooqi, N., Gibson, R. J., Bowen, J. M., Logan, R. M., Stringer, A. M., & Keefe, D. M. (2010). Matrix metalloproteinases are possible mediators for the development of alimentary tract mucositis in the dark agouti rat. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 235(10), 1244-1256. <https://doi.org/10.1258/EBM.2010.010082>
- Al-Dasooqi, N., Sonis, S. T., Bowen, J. M., Bateman, E., Blijlevens, N., Gibson, R. J., Logan, R. M., Nair, R. G., Stringer, A. M., Yazbeck, R., Elad, S., & Lalla, R. v. (2013). Emerging evidence on the pathobiology of mucositis. *Supportive Care in Cancer : Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 21(11), 3233-3241. <https://doi.org/10.1007/S00520-013-1900-X>
- Al-Henhena, N., Khalifa, S. A. M., Ying, R. P. Y., Hassandarvish, P., Rouhollahi, E., Al-Wajeeh, N. S., Ali, H. M., Abdulla, M. A., & El-Seedi, H. R. (2015). Chemopreventive effects of *Strobilanthes crispus* leaf extract on azoxymethane-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Scientific Reports*, 5, 13312. <https://doi.org/10.1038/srep13312>
- Ali, N. E. M. (2012). Protective Effect of Captopril against 5- Fluorouracil-Induced Hepato and Nephrotoxicity in Male Albino Rats. *Journal of American Science*, 8(2), 680-685.

- Alison, M. R., Lim, S., & Houghton, J. M. (2009). Bone marrow-derived cells and epithelial tumours: More than just an inflammatory relationship. *Current Opinion in Oncology*, 21(1), 77-82.
<https://doi.org/10.1097/CCO.0B013E32831DE4CF>
- Allen, C. L., & Bayraktutan, U. (2009). Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. *International Journal of Stroke*, 4(6), 461-470. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2009.00387.x>
- Anastasiou, D., Pouligiannis, G., Asara, J. M., Boxer, M. B., Jiang, J. K., Shen, M., Bellinger, G., Sasaki, A. T., Locasale, J. W., Auld, D. S., Thomas, C. J., vander Heiden, M. G., & Cantley, L. C. (2011). Inhibition of pyruvate kinase M2 by reactive oxygen species contributes to cellular antioxidant responses. *Science*, 334(6060), 1278-1283.
https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1211485/SUPPL_FILE/1211485-ANASTASIOU-SOM.PDF
- Anrather, J., Racchumi, G., & Iadecola, C. (2006). NF- κ B regulates phagocytic NADPH oxidase by inducing the expression of gp91phox. *Journal of Biological Chemistry*, 281(9), 5657-5667. <https://doi.org/10.1074/jbc.M506172200>
- Arkan, M. C., Hevener, A. L., Greten, F. R., Maeda, S., Li, Z. W., Long, J. M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., & Karin, M. (2005). IKK- β links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nature Medicine*, 11(2), 191-198. <https://doi.org/10.1038/nm1185>
- Atiq, A., Shal, B., Naveed, M., Khan, A., Ali, J., Zeeshan, S., Al-Sharari, S. D., Kim, Y. S., & Khan, S. (2019). Diadzein ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppressing oxidative stress and inflammatory mediators in rodents. *European Journal of Pharmacology*, 843, 292-306.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2018.12.014>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438.
<https://doi.org/10.1155/2014/360438>

- Baerg, J., Murphy, J. J., Anderson, R., & Magee, J. F. (1999). Neutropenic enteropathy: a 10-year review. *Journal of Pediatric Surgery*, 34(7), 1068-1071. [https://doi.org/10.1016/S0022-3468\(99\)90566-3](https://doi.org/10.1016/S0022-3468(99)90566-3)
- Baker, R. G., Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2011). NF- κ B, Inflammation, and Metabolic Disease. *Cell Metabolism*, 13(1), 11-22. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2010.12.008>
- Bannikov, G. A., Karelina, T. v., Collier, I. E., Marmer, B. L., & Goldberg, G. I. (2002). Substrate binding of gelatinase B induces its enzymatic activity in the presence of intact propeptide. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(18), 16022-16027. <https://doi.org/10.1074/JBC.M110931200>
- Barnum, K. J., & O'Connell, M. J. (2014). Cell cycle regulation by checkpoints. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1170, 29-40. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0888-2_2
- Barrera, G., Pizzimenti, S., Daga, M., Dianzani, C., Arcaro, A., Cetrangolo, G. P., Giordano, G., Cucci, M. A., Graf, M., & Gentile, F. (2018). Lipid peroxidation-derived aldehydes, 4-hydroxynonenal and malondialdehyde in aging-related disorders. *Antioxidants*, 7(8), 102-119. <https://doi.org/10.3390/antiox7080102>
- Basile, D., di Nardo, P., Corvaja, C., Garattini, S. K., Pelizzari, G., Lisanti, C., Bortot, L., da Ros, L., Bartoletti, M., Borghi, M., Gerratana, L., Lombardi, D., & Puglisi, F. (2019). Mucosal Injury during Anti-Cancer Treatment: From Pathobiology to Bedside. *Cancers 2019, Vol. 11, Page 857*, 11(6), 857. <https://doi.org/10.3390/CANCERS11060857>
- Bassiouni, W., Ali, M. A. M., & Schulz, R. (2021). Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease. *The FEBS Journal*, 288(24), 7162-7182. <https://doi.org/10.1111/FEBS.15701>
- Bauer, A. T., Bürgers, H. F., Rabie, T., & Marti, H. H. (2010). Matrix metalloproteinase-9 mediates hypoxia-induced vascular leakage in the brain via tight junction rearrangement. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 30(4), 837-848. <https://doi.org/10.1038/JCBFM.2009.248>

- Baylin, S. B., & Ohm, J. E. (2006). Epigenetic gene silencing in cancer - A mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nature Reviews Cancer*, 6(2), 107-116. <https://doi.org/10.1038/nrc1799>
- Benbow, U., & Brinckerhoff, C. E. (1997). The AP-1 site and MMP gene regulation: What is all the fuss about? *Matrix Biology*, 15(8-9), 519-526. [https://doi.org/10.1016/S0945-053X\(97\)90026-3](https://doi.org/10.1016/S0945-053X(97)90026-3)
- Ben-Sasson, S. Z., Hu-Li, J., Quiel, J., Cauchetaux, S., Ratner, M., Shapira, I., Dinarello, C. A., & Paul, W. E. (2009). IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(17), 7119-7124. https://doi.org/10.1073/PNAS.0902745106/SUPPL_FILE/0902745106SI.PDF
- Bertheloot, D., & Latz, E. (2017). HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. *Cellular & Molecular Immunology*, 14(1), 43-64. <https://doi.org/10.1038/cmi.2016.34>
- Beutheu Youmba, S., Belmonte, L., Galas, L., Boukhattala, N., Bôle-Feysot, C., Déchelotte, P., & Coëffier, M. (2012). Methotrexate modulates tight junctions through NF- κ B, MEK, and JNK Pathways. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54(4), 463-470. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318247240d>
- Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., & Crowe, S. E. (2014). Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological Reviews*, 94(2), 329-354. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00040.2012>
- Biewenga, G. P., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (1997). The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29(3), 315-331. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623\(96\)00474-0](https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00474-0)
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9-19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0B013E3182439613>

- Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L. L., Simonetti, R. G., & Gluud, C. (2007). Mortality in Randomized Trials of Antioxidant Supplements for Primary and Secondary Prevention: Systematic Review and Meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 297(8), 842-857. <https://doi.org/10.1001/JAMA.297.8.842>
- Black, R. A., Rauch, C. T., Kozlosky, C. J., Peschon, J. J., Slack, J. L., Wolfson, M. F., Castner, B. J., Stocking, K. L., Reddy, P., Srinivasan, S., Nelson, N., Boiani, N., Schooley, K. A., Gerhart, M., Davis, R., Fitzner, J. N., Johnson, R. S., Paxton, R. J., March, C. J., & Cerretti, D. P. (1997). A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*, 385(6618), 729-733. <https://doi.org/10.1038/385729A0>
- Bleier, L., & Dröse, S. (2013). Superoxide generation by complex III: From mechanistic rationales to functional consequences. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1827(11-12), 1320-1331. <https://doi.org/10.1016/J.BBABIO.2012.12.002>
- Blijlevens, N. M. A., Donnelly, J. P., & de Pauw, B. E. (2000). Mucosal barrier injury: Biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: An overview. *Bone Marrow Transplantation*, 25(12), 1269-1278. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1702447>
- Bö, L., Dawson, T. M., Wesselingh, S., Möurk, S., Choi, S., Kong, P. A., Hanley, D., & Trapp, B. D. (1994). Induction of nitric oxide synthase in demyelinating regions of multiple sclerosis brains. *Annals of Neurology*, 36(5), 778-786. <https://doi.org/10.1002/ANA.410360515>
- Böttcher, M., Baur, R., Stoll, A., Mackensen, A., & Mougiakakos, D. (2020). Linking Immuno-evasion and Metabolic Reprogramming in B-Cell-Derived Lymphomas. *Frontiers in Oncology*, 10, 594782. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.594782>
- Bouwmeester, T., Bauch, A., Ruffner, H., Angrand, P. O., Bergamini, G., Croughton, K., Cruciat, C., Eberhard, D., Gagneur, J., Ghidelli, S., Hopf, C., Huhse, B., Mangano, R., Michon, A. M., Schirle, M., Schlegl, J., Schwab, M., Stein, M. A., Bauer, A., ... Superti-Furga, G. (2004). A physical and functional map of the

human TNF-alpha/NF-kappa B signal transduction pathway. *Nature Cell Biology*, 6(2), 97-105. <https://doi.org/10.1038/NCB1086>

Bowen, J. M., Gibson, R. J., Cummins, A. G., & Keefe, D. M. K. (2006). Intestinal mucositis: The role of the Bcl-2 family, p53 and caspases in chemotherapy-induced damage. *Supportive Care in Cancer*, 14(7), 713-731. <https://doi.org/10.1007/S00520-005-0004-7/FIGURES/4>

Bowler, C., Camp, W. van, Montagu, M. van, & Inzé, D. (1994). Superoxide Dismutase in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(3), 199-218. <https://doi.org/10.1080/07352689409701914>

Bowler, C., van Montagu, M., & Inzé, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43(1), 83-116. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>

Braakhuis, B. J. M., Tabor, M. P., Kummer, J. A., Leemans, C. R., & Brakenhoff, R. H. (2003). A genetic explanation of slaughter's concept of field cancerization: Evidence and clinical implications. *Cancer Research*, 63(8), 1727-1730.

Bradford, M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

Bradley, J. R. (2008). TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology*, 214(2), 149-160. <https://doi.org/10.1002/PATH.2287>

Bray, F., Jemal, A., Grey, N., Ferlay, J., & Forman, D. (2012). Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study. *The Lancet Oncology*, 13(8), 790-801. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70211-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70211-5)

Bray, F., Laversanne, M., Weiderpass, E., & Soerjomataram, I. (2021). The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide. *Cancer*, 127(16), 3029-3030. <https://doi.org/10.1002/cncr.33587>

- Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2020). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants and Redox Signaling*, *33*(7), 498-516. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7905>
- Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1830*(5), 3289-3303. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2012.11.020>
- Brookes, M. H., Golding, B. T., Howes, D. A., & Hudson, A. T. (1983). Proof that the absolute configuration of natural α -lipoic acid is R by the synthesis of its enantiomer [(S)-(-)- α -lipoic acid] from (S)-malic acid. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, *19*, 1049-1116. <https://doi.org/10.1039/C39830001051>
- Bugno, M., Witek, B., Bereta, J., Bereta, M., Edwards, D. R., & Kordula, T. (1999). Reprogramming of TIMP-1 and TIMP-3 expression profiles in brain microvascular endothelial cells and astrocytes in response to proinflammatory cytokines. *FEBS Letters*, *448*(1), 9-14. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00323-3](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00323-3)
- Bulua, A. C., Simon, A., Maddipati, R., Pelletier, M., Park, H., Kim, K. Y., Sack, M. N., Kastner, D. L., & Siegel, R. M. (2011). Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *Journal of Experimental Medicine*, *208*(3), 519-533. <https://doi.org/10.1084/jem.20102049>
- Burrage, P. S., Mix, K. S., & Brinckerhoff, C. E. (2006). Matrix metalloproteinases: Role in arthritis. *Frontiers in Bioscience*, *11*(1), 529-543. <https://doi.org/10.2741/1817>
- Cai, X., Chen, X., Wang, X., Xu, C., Guo, Q., Zhu, L., Zhu, S., & Xu, J. (2013). Pre-protective effect of lipoic acid on injury induced by H₂O₂ in IPEC-J2 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *378*(1-2), 73-81. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1595-9>

- Cairns, R., Harris, I., & Mak, T. (2017). Re: Regulation of Cancer Cell Metabolism. *Journal of Urological Surgery*, 4(4), 85-95.
<https://doi.org/10.4274/jus.2017.04.030>
- Caley, M. P., Martins, V. L. C., & O'Toole, E. A. (2015). Metalloproteinases and Wound Healing. *Https://Home.Liebertpub.Com/Wound*, 4(4), 225-234.
<https://doi.org/10.1089/WOUND.2014.0581>
- Cameron, N. E., Cotter, M. A., Horrobin, D. H., & Tritschler, H. J. (1998). Effects of α -lipoic acid on neurovascular function in diabetic rats: Interaction with essential fatty acids. *Diabetologia*, 41(4), 390-399.
<https://doi.org/10.1007/s001250050921>
- Camilleri, M., Lasch, K., & Zhou, W. (2012). Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(7), G775-785.
<https://doi.org/10.1152/AJPGI.00155.2012>
- Campian, J. L., Qian, M., Gao, X., & Eaton, J. W. (2004). Oxygen tolerance and coupling of mitochondrial electron transport. *Journal of Biological Chemistry*, 279(45), 46580-46587. <https://doi.org/10.1074/jbc.M406685200>
- Canty, T. G., Boyle, E. M., Farr, A., Morgan, E. N., Verrier, E. D., & Pohlman, T. H. (1999). Oxidative stress induces NF- κ B nuclear translocation without degradation of I κ B α . *Circulation*, 100(19 SUPPL.), 361-364.
https://doi.org/10.1161/circ.100.suppl_2.ii-361
- Cao, S. S., & Kaufman, R. J. (2014). *Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in Cell Fate Decision and Human Disease*. 21(3), 396-413.
<https://doi.org/10.1089/ARS.2014.5851>
- Carneiro-Filho, B. A., Oriá, R. B., Wood Rea, K., Brito, G. A. C., Fujii, J., Obrig, T., Lima, A. A. M., & Guerrant, R. L. (2004). Alanyl-glutamine hastens morphologic recovery from 5-fluorouracil-induced mucositis in mice. *Nutrition*, 20(10), 934-941. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.06.016>

- Cavdar, Z., Ozbal, S., Celik, A., Ergur, B. U., Guneli, E., Ural, C., Camsari, T., & Guner, G. A. (2014). The effects of alpha-lipoic acid on MMP-2 and MMP-9 activities in a rat renal ischemia and re-perfusion model. *Biotechnic and Histochemistry*, 89(4), 304-314. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.847498>
- Cave, A. C., Brewer, A. C., Narayanapanicker, A., Ray, R., Grieve, D. J., Walker, S., & Shah, A. M. (2006). NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 8(5-6), 691-728. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.691>
- Ceilley, R. I. (2012). Mechanisms of action of topical 5-fluorouracil: Review and implications for the treatment of dermatological disorders. *The Journal of Dermatological Treatment*, 23(2), 83-89. <https://doi.org/10.3109/09546634.2010.507704>
- Chalabi-Dchar, M., Fenouil, T., Machon, C., Vincent, A., Catez, F., Marcel, V., Mertani, H. C., Saurin, J.-C., Bouvet, P., Guitton, J., Venezia, N. D., & Diaz, J.-J. (2021). A novel view on an old drug, 5-fluorouracil: an unexpected RNA modifier with intriguing impact on cancer cell fate. *NAR Cancer*, 3(3), zcab032. <https://doi.org/10.1093/NARCAN/ZCAB032>
- Chang, C. T., Ho, T. Y., Lin, H., Liang, J. A., Huang, H. C., Li, C. C., Lo, H. Y., Wu, S. L., Huang, Y. F., & Hsiang, C. Y. (2012). 5-Fluorouracil Induced Intestinal Mucositis via Nuclear Factor- κ B Activation by Transcriptomic Analysis and In Vivo Bioluminescence Imaging. *PLOS ONE*, 7(3), e31808. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0031808>
- Chang, M. Y., Gwon, T. M., Lee, H. S., Lee, J. H., Oh, S. H., Kim, S. J., & Park, M. H. (2017). The effect of systemic lipoic acid on hearing preservation after cochlear implantation via the round window approach: A guinea pig model. *European Journal of Pharmacology*, 799, 67-72. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2017.01.042>
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.BMB.A072625>

- Chen, C. J., Fu, Y. C., Yu, W., & Wang, W. (2013). SIRT3 protects cardiomyocytes from oxidative stress-mediated cell death by activating NF- κ B. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 430(2), 798-803.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.11.066>
- Chen, C. J., Kono, H., Golenbock, D., Reed, G., Akira, S., & Rock, K. L. (2007). Identification of a key pathway required for the sterile inflammatory response triggered by dying cells. *Nature Medicine*, 13(7), 851-856.
<https://doi.org/10.1038/nm1603>
- Chen, Q., Jin, M., Yang, F., Zhu, J., Xiao, Q., & Zhang, L. (2013). Matrix metalloproteinases: Inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators of Inflammation*, 2013, 928315.
<https://doi.org/10.1155/2013/928315>
- Chen, Y., Zheng, H., Zhang, J., Wang, L., Jin, Z., & Gao, W. (2016). Reparative activity of costunolide and dehydrocostus in a mouse model of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis. *RSC Advances*, 6(7), 5249-5258.
<https://doi.org/10.1039/c5ra22371g>
- Cinausero, M., Aprile, G., Ermacora, P., Basile, D., Vitale, M. G., Fanotto, V., Parisi, G., Calvetti, L., & Sonis, S. T. (2017). New frontiers in the pathobiology and treatment of cancer regimen-related mucosal injury. *Frontiers in Pharmacology*, 8(JUN), 354. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00354/BIBTEX>
- Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2011). Redox biology of the intestine. *Free Radical Research*, 45(11-12), 1245-1266.
<https://doi.org/10.3109/10715762.2011.611509>
- Collins, T., Read, M. A., Neish, A. S., Whitley, M. Z., Thanos, D., & Maniatis, T. (1995). Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF- κ B and cytokine-inducible enhancers. *The FASEB Journal*, 9(10), 899-909.
<https://doi.org/10.1096/FASEBJ.9.10.7542214>
- Conklin, K. A. (2004). Free Radicals : The Pros and Cons of Antioxidants Cancer Chemotherapy and Antioxidants. *The Journal of Nutrition*, 134(11), 3201S—3204S.

- Cook, R., Sarker, H., & Fernandez-Patron, C. (2019). Pathologies of matrix metalloproteinase-2 underactivity: a perspective on a neglected condition 1. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *97*(6), 486-492. <https://doi.org/10.1139/CJPP-2018-0525>
- Cool, J. C., Dyer, J. L., Xian, C. J., Butler, R. N., Geier, M. S., & Howarth, G. S. (2005). Pre-treatment with insulin-like growth factor-I partially ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats. *Growth Hormone & IGF Research*, *15*(1), 72-82. <https://doi.org/10.1016/J.GHIR.2004.12.002>
- Costa, D. V. S., Bon-Frauches, A. C., Silva, A. M. H. P., Lima-Júnior, R. C. P., Martins, C. S., Leitão, R. F. C., Freitas, G. B., Castelucci, P., Bolick, D. T., Guerrant, R. L., Warren, C. A., Moura-Neto, V., & Brito, G. A. C. (2019). 5-Fluorouracil Induces Enteric Neuron Death and Glial Activation During Intestinal Mucositis via a S100B-RAGE-NFκB-Dependent Pathway. *Scientific Reports*, *9*(1), 665. <https://doi.org/10.1038/S41598-018-36878-Z>
- Croce, C. M. (2008). Oncogenes and cancer. supplementary appendix. *The New England Journal of Medicine*, *358*(5), 502-511. <https://doi.org/10.1056/NEJMra072367>
- Cuba, L. de F., Salum, F. G., Guimarães, F. S., Cherubini, K., Borghetti, R. L., & de Figueiredo, M. A. Z. (2020). Cannabidiol on 5-FU-induced oral mucositis in mice. *Oral Diseases*, *26*(7), 1483-1493. <https://doi.org/10.1111/ODI.13413>
- Cummins, P. M. (2012). Occludin: One Protein, Many Forms. *Molecular and Cellular Biology*, *32*(2), 242-250. <https://doi.org/10.1128/mcb.06029-11>
- Curra, M., Martins, M. A. T., Lauxen, I. S., Pellicioli, A. C. A., Sant'Ana Filho, M., Pavesi, V. C. S., Carrard, V. C., & Martins, M. D. (2013). Effect of topical chamomile on immunohistochemical levels of IL-1 β and TNF- α in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *71*(2), 293-299. <https://doi.org/10.1007/s00280-012-2013-9>
- Dadhania, V. P., Tripathi, D. N., Vikram, A., Ramarao, P., & Jena, G. B. (2010). Intervention of α -lipoic acid ameliorates methotrexate-induced oxidative stress

- and genotoxicity: A study in rat intestine. *Chemico-Biological Interactions*, 183(1), 85-97. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2009.10.020>
- Das, A., Monteiro, M., Barai, A., Kumar, S., & Sen, S. (2017). MMP proteolytic activity regulates cancer invasiveness by modulating integrins. *Scientific Reports*, 7(1), 14219. <https://doi.org/10.1038/S41598-017-14340-W>
- Das, N., Benko, C., Gill, S. E., & Dufour, A. (2020). The Pharmacological TAILS of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors. *Pharmaceuticals*, 14(1), 1-17. <https://doi.org/10.3390/PH14010031>
- de Jonge, W. J., van den Wijngaard, R. M., The, F. O., ter Beek, M. L., Bennink, R. J., Tytgat, G. N. J., Buijs, R. M., Reitsma, P. H., van Deventer, S. J., & Boeckxstaens, G. E. (2003). Postoperative ileus is maintained by intestinal immune infiltrates that activate inhibitory neural pathways in mice. *Gastroenterology*, 125(4), 1137-1147. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01197-1](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01197-1)
- de Koning, B. A. E., van Dieren, J. M., Lindenbergh-Kortleve, D. J., van der Sluis, M., Matsumoto, T., Yamaguchi, K., Einerhand, A. W., Samsom, J. N., Pieters, R., & Nieuwenhuis, E. E. S. (2006). Contributions of mucosal immune cells to methotrexate-induced mucositis. *International Immunology*, 18(6), 941-949. <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXL030>
- de Winter, B. Y., Bredenoord, A. J., de Man, J. G., Moreels, T. G., Herman, A. G., & Pelckmans, P. A. (2002). Effect of inhibition of inducible nitric oxide synthase and guanylyl cyclase on endotoxin-induced delay in gastric emptying and intestinal transit in mice. *Shock*, 18(2), 125-131. <https://doi.org/10.1097/00024382-200208000-00006>
- Demedts, I., Geboes, K., Kindt, S., vanden Berghe, P., Andrioli, A., Janssens, J., & Tack, J. (2006). Neural mechanisms of early postinflammatory dysmotility in rat small intestine. *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 18(12), 1102-1111. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2982.2006.00857.X>

- Diasio, R. B., & Harris, B. E. (1989). Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clinical Pharmacokinetics*, *16*(4), 215-237. <https://doi.org/10.2165/00003088-198916040-00002>
- Dimitriu, D. C., Lupusoru, C. E., Cojocaru, I., Gafitanu, C., Palade, L., & Lupusoru, R. V. (2015). Assessing biochemical and oxidative stress parameters after vaginal and oral administration of 5-fluorouracil in laboratory animals. *Farmacia*, *63*(2), 230-233.
- Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory Cytokines. *Chest*, *118*(2), 503-508. <https://doi.org/10.1378/CHEST.118.2.503>
- Dinarello, C. A. (2009). Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annual Review of Immunology*, *27*, 519-550. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132612>
- Dinarello, C. A. (2019). The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, *15*(10), 612-632. <https://doi.org/10.1038/s41584-019-0277-8>
- Dinarello, C. A., Goldin, N. P., & Wolff, S. M. (1974). Demonstration and Characterization of Two Distinct Human Leukocytic Pyrogens. *Journal of Experimental Medicine*, *139*(6), 1369-1381. <https://doi.org/10.1084/JEM.139.6.1369>
- Ding, X. L., Man, Y. N., Hao, J., Zhu, C. H., Liu, C., Yang, X., & Wu, X. Z. (2016). The antitumor effect of Gekko sulfated glycopeptide by inhibiting bFGF-induced lymphangiogenesis. *BioMed Research International*, *2016*, 7396392. <https://doi.org/10.1155/2016/7396392>
- Dörsam, B., & Fahrner, J. (2016). The disulfide compound α -lipoic acid and its derivatives: A novel class of anticancer agents targeting mitochondria. *Cancer Letters*, *371*(1), 12-19. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2015.11.019>
- Duggett, N. A., Griffiths, L. A., McKenna, O. E., de Santis, V., Yongsanguanchai, N., Mokori, E. B., & Flatters, S. J. L. (2016). Oxidative stress in the development, maintenance and resolution of paclitaxel-induced painful

neuropathy. *Neuroscience*, 333, 13-26.

<https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2016.06.050>

Durán, J. D. G., Arias, J. L., Gallardo, V., & Delgado, A. v. (2008). Magnetic colloids as drug vehicles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2948-2983. <https://doi.org/10.1002/jps.21249>

Durand, M., & Mach, N. (2013). Alpha lipoic acid and its antioxidant against cancer and diseases of central sensitization. *Nutricion Hospitalaria*, 28(4), 1031-1038. <https://doi.org/10.3305/NH.2013.28.4.6589>

el Barky, A., Hussein, S., & Mohamed, T. (2017). The Potent Antioxidant Alpha Lipoic Acid. *Journal of Plant Chemistry and Ecophysiology*, 2(1), 1016.

Elledge, S. J. (1996). Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science*, 274(5293), 1664-1672. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.274.5293.1664>

Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514-525. <https://doi.org/10.1038/SJ.JID.5700701>

Epstein, J. B., Thariat, J., Bensadoun, R.-J., Barasch, A., Murphy, B. A., Kolnick, L., Popplewell, L., & Maghami, E. (2012). Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to survivorship. *CA: Cancer Journal for Clinicians*, 62(6), 400-422. <https://doi.org/10.3322/CAAC.21157>

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biology*, 6, 183-197. <https://doi.org/10.1016/J.REDOX.2015.07.008>

Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81-128. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90192-6)

Fan, P., Tan, Y., Jin, K., Lin, C., Xia, S., Han, B., Zhang, F., Wu, L., & Ma, X. (2017). Supplemental lipoic acid relieves post-weaning diarrhoea by decreasing

intestinal permeability in rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(1), 136-146. <https://doi.org/10.1111/JPN.12427>

Fauci, A. S., Kasper, D. L., Longo, D. L., Braunwald, E., Hauser, S. L., & Jameson, J. L. (2008). Harrison's Internal Medicine, 17th edition. - by A. S. Fauci, D. L. Kasper, D. L. Longo, E. Braunwald, S. L. Hauser, J. L. Jameson and J. Loscalzo. *Internal Medicine Journal*, 38(12), 932-932. <https://doi.org/10.1111/J.1445-5994.2008.01837.X>

Feuerecker, B., Pirsig, S., Seidl, C., Aichler, M., Feuchtinger, A., Bruchelt, G., & Senekowitsch-Schmidtke, R. (2012). Lipoic acid inhibits cell proliferation of tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Biology & Therapy*, 13(14), 1425-1435. <https://doi.org/10.4161/CBT.22003>

Filipović, M. R., Stanić, D., Raičević, S., Spasić, M., & Niketić, V. (2009). Consequences of MnSOD interactions with nitric oxide: Nitric oxide dismutation and the generation of peroxynitrite and hydrogen peroxide. *Free Radical Research*, 41(1), 62-72. <https://doi.org/10.1080/10715760600944296>

Flohé, L. (2009). The labour pains of biochemical selenology: the history of selenoprotein biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1790(11), 1389-1403. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2009.03.031>

Flohé, L. (2015). The impact of thiol peroxidases on redox regulation. *Free Radical Research*, 50(2), 126-142. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1046858>

Focaccetti, C., Bruno, A., Magnani, E., Bartolini, D., Principi, E., Dallaglio, K., Bucci, E. O., Finzi, G., Sessa, F., Noonan, D. M., & Albin, A. (2015). Effects of 5-Fluorouracil on Morphology, Cell Cycle, Proliferation, Apoptosis, Autophagy and ROS Production in Endothelial Cells and Cardiomyocytes. *PLOS ONE*, 10(2), e0115686. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0115686>

Fre, S., Huyghe, M., Mourikis, P., Robine, S., Louvard, D., & Artavanis-Tsakonas, S. (2005). Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine. *Nature*, 435(7044), 964-968. <https://doi.org/10.1038/NATURE03589>

- Fridavich, I. (1995). Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64(11), 97-112.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.64.070195.000525>
- Fu, X., Kao, J. L. F., Bergt, C., Kassim, S. Y., Huq, N. P., D'Avignon, A., Parks, W. C., Mecham, R. P., & Heinecke, J. W. (2004). Oxidative cross-linking of tryptophan to glycine restrains matrix metalloproteinase activity: specific structural motifs control protein oxidation. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(8), 6209-6212. <https://doi.org/10.1074/JBC.C300506200>
- Fu, X., Kassim, S. Y., Parks, W. C., & Heinecke, J. W. (2001). Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7). A mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(44), 41279-41287. <https://doi.org/10.1074/JBC.M106958200>
- Garlanda, C., Dinarello, C. A., & Mantovani, A. (2013). The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity*, 39(6), 1003-1018.
<https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2013.11.010>
- Gathwala, G., & Aggarwal, R. (2016). Selenium supplementation for the preterm Indian neonate. *Indian Journal of Public Health*, 60(2), 142.
<https://doi.org/10.4103/0019-557X.184571>
- Gauss, K. A., Nelson-Overton, L. K., Siemsen, D. W., Gao, Y., DeLeo, F. R., & Quinn, M. T. (2007). Role of NF- κ B in transcriptional regulation of the phagocyte NADPH oxidase by tumor necrosis factor- α . *Journal of Leukocyte Biology*, 82(3), 729-741. <https://doi.org/10.1189/JLB.1206735>
- Geeraerts, B., van Oudenhove, L., Fischler, B., Vandenberghe, J., Caenepeel, P., Janssens, J., & Tack, J. (2009). Influence of abuse history on gastric sensorimotor function in functional dyspepsia. *Neurogastroenterology and Motility*, 21(1), 33-41. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2982.2008.01178.X>
- Gelen, V., Şengül, E., Gedikli, S., Atila, G., Uslu, H., & Makav, M. (2017). The protective effect of rutin and quercetin on 5-FU-induced hepatotoxicity in rats.

Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 7(7), 647-653.

<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.013>

Gelen, V., Şengül, E., Gedikli, S., Gür, C., & Özkanlar, S. (2017). Therapeutic effect of quercetin on renal function and tissue damage in the obesity induced rats.

Biomedicine & Pharmacotherapy, 89, 524-528.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.02.057>

Gersten, O., & Wilmoth, J. R. (2002). The cancer transition in Japan since 1951.

Demographic Research, 7, 271-306. <https://doi.org/10.4054/DemRes.2002.7.5>

Ghibu, S., Richard, C., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y., & Rochette, L. (2009).

Antioxidant properties of an endogenous thiol: Alpha-lipoic acid, useful in the prevention of cardiovascular diseases. *Journal of Cardiovascular*

Pharmacology, 54(5), 391-398.

<https://doi.org/10.1097/FJC.0B013E3181BE7554>

Gibson, R. J., & Keefe, D. M. K. (2006). Cancer chemotherapy-induced diarrhoea

and constipation: Mechanisms of damage and prevention strategies. *Supportive*

Care in Cancer, 14(9), 890-900. [https://doi.org/10.1007/S00520-006-0040-](https://doi.org/10.1007/S00520-006-0040-Y/FIGURES/4)

[Y/FIGURES/4](https://doi.org/10.1007/S00520-006-0040-Y/FIGURES/4)

Gilman, A. (1963). The initial clinical trial of nitrogen mustard. *The American*

Journal of Surgery, 105(5), 574-578. [https://doi.org/10.1016/0002-](https://doi.org/10.1016/0002-9610(63)90232-0)

[9610\(63\)90232-0](https://doi.org/10.1016/0002-9610(63)90232-0)

Giovino, G. A., Mirza, S. A., Samet, J. M., Gupta, P. C., Jarvis, M. J., Bhala, N.,

Peto, R., Zatonski, W., Hsia, J., Morton, J., Palipudi, K. M., & Asma, S. (2012).

Tobacco use in 3 billion individuals from 16 countries: an analysis of nationally representative cross-sectional household surveys. *The Lancet*, 380(9842), 668-

679. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61085-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61085-X)

Gloire, G., Legrand-Poels, S., & Piette, J. (2006). NF- κ B activation by reactive

oxygen species: Fifteen years later. *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1493-

1505. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2006.04.011>

Gogoi, P., Dutta, A., Ramteke, A., & Maji, T. K. (2020). Preparation,

characterization and cytotoxic applications of curcumin-(\pm) α -lipoic acid

coloaded phosphorylated chitosan nanoparticles in MDA MB 231 breast cancer cell line. *Polymers for Advanced Technologies*, 31(11), 2827-2841.

<https://doi.org/10.1002/pat.5009>

Goldar, S., Khaniani, M. S., Derakhshan, S. M., & Baradaran, B. (2015). Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(6), 2129-2144.

<https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.6.2129>

Gomaa, A. M. S., Abd El-Mottaleb, N. A., & Aamer, H. A. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory activities of alpha lipoic acid protect against indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 188-194.

<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.02.070>

Gomes, M. B., & Negrato, C. A. (2014). Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic diseases.

Diabetology and Metabolic Syndrome, 6(1), 80. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-6-80>

Gomis-Rüth, F. X. (2003). Structural aspects of the metzincin clan of metalloendopeptidases. *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology*, 24(2), 157-202. <https://doi.org/10.1385/MB:24:2:157>

Gou, H., Gu, L. Y., Shang, B. Z., Xiong, Y., & Wang, C. (2016). Protective effect of Bu-Zhong-Yi-Qi decoction, the water extract of Chinese traditional herbal medicine, on 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Human and Experimental Toxicology*, 35(12), 1243-1251.

<https://doi.org/10.1177/0960327115627686>

Grem, J. L. (2000). 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development. *Investigational New Drugs*, 18(4), 299-313. <https://doi.org/10.1023/A:1006416410198>

Griffin, G. K., Newton, G., Tarrio, M. L., Bu, D., Maganto-Garcia, E., Azcutia, V., Alcaide, P., Grabie, N., Luscinskas, F. W., Croce, K. J., & Lichtman, A. H. (2012). IL-17 and TNF α Sustain Neutrophil Recruitment During Inflammation

- Through Synergistic Effects on Endothelial Activation. *Journal of Immunology*, 188(12), 6287-6299. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1200385>
- Groschwitz, K. R., & Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1), 3-20. <https://doi.org/10.1016/J.JACI.2009.05.038>
- Guma, M., Ronacher, L., Liu-Bryan, R., Takai, S., Karin, M., & Corr, M. (2009). Caspase 1-independent activation of interleukin-1 β in neutrophil-predominant inflammation. *Arthritis and Rheumatism*, 60(12), 3642-3650. <https://doi.org/10.1002/art.24959>
- Guo, Y., Qiu, W., Roche, T. E., & Hackert, M. L. (2020). Crystal structure of the catalytic subunit of bovine pyruvate dehydrogenase phosphatase. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications*, 76(7), 292-301. <https://doi.org/10.1107/S2053230X20007943/NJ5289SUP1.PDF>
- Gupta, A. K., Weiss, J. S., & Jorizzo, J. L. (2001). 5-fluorouracil 0.5% cream for multiple actinic or solar keratoses of the face and anterior scalp. *Skin Therapy Letter*, 6(9), 1-4.
- Gutiérrez-Fernández, A., Inada, M., Balbín, M., Fueyo, A., Pitiot, A. S., Astudillo, A., Hirose, K., Hirata, M., Shapiro, S. D., Noël, A., Werb, Z., Krane, S. M., López-Otín, C., & Puente, X. S. (2007). Increased inflammation delays wound healing in mice deficient in collagenase-2 (MMP-8). *Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(10), 2580-2591. <https://doi.org/10.1096/FJ.06-7860COM>
- Hamouda, N., Sano, T., Oikawa, Y., Ozaki, T., Shimakawa, M., Matsumoto, K., Amagase, K., Higuchi, K., & Kato, S. (2017). Apoptosis, Dysbiosis and Expression of Inflammatory Cytokines are Sequential Events in the Development of 5-Fluorouracil-Induced Intestinal Mucositis in Mice. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 121(3), 159-168. <https://doi.org/10.1111/BCPT.12793>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

- Hassan, A., Ibrahim, A., Mbodji, K., Coëffier, M., Ziegler, F., Bounoure, F., Chardigny, J. M., Skiba, M., Savoye, G., Déchelotte, P., & Marion-Letellier, R. (2010). An α -Linolenic Acid-Rich Formula Reduces Oxidative Stress and Inflammation by Regulating NF- κ B in Rats with TNBS-Induced Colitis. *The Journal of Nutrition*, *140*(10), 1714-1721.
<https://doi.org/10.3945/JN.109.119768>
- Hassan, B. H., & Cronan, J. E. (2011). Protein-protein interactions in assembly of lipoic acid on the 2-oxoacid dehydrogenases of aerobic metabolism. *The Journal of Biological Chemistry*, *286*(10), 8263-8276.
<https://doi.org/10.1074/JBC.M110.194191>
- Hasty, K. A., Pourmotabbed, T. F., Goldberg, G. I., Thompson, J. P., Spinella, D. G., Stevens, R. M., & Mainardi, C. L. (1990). Human neutrophil collagenase. A distinct gene product with homology to other matrix metalloproteinases. *Journal of Biological Chemistry*, *265*(20), 11421-11424.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)38413-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)38413-3)
- Herszényi, L., Hritz, I., Lakatos, G., Varga, M. Z., & Tulassay, Z. (2012). The Behavior of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(10), 13240-13263.
<https://doi.org/10.3390/IJMS131013240>
- Hess, J. A., & Khasawneh, M. K. (2015). Cancer metabolism and oxidative stress: Insights into carcinogenesis and chemotherapy via the non-dihydrofolate reductase effects of methotrexate. *BBA Clinical*, *3*, 152-161.
<https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2015.01.006>
- Hiiemae, K. (2004). Mechanisms of Food Reduction, Transport and Deglutition: How the Texture of Food Affects Feeding Behavior. *Journal of Texture Studies*, *35*(2), 171-200. <https://doi.org/10.1111/J.1745-4603.2004.TB00832.X>
- Hiller, S., DeKroon, R., Hamlett, E. D., Xu, L., Osorio, C., Robinette, J., Winnik, W., Simington, S., Maeda, N., Alzate, O., & Yi, X. (2016). Alpha-lipoic acid supplementation protects enzymes from damage by nitrosative and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1860*(1), 36-45.
<https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2015.09.001>

- Hong, S. N. (2018). Genetic and Epigenetic Alterations of Colorectal Cancer. *Intestinal Research*, 16(3), 327-337. <https://doi.org/10.5217/ir.2018.16.3.327>
- Horiuchi, T., Mitoma, H., Harashima, S. I., Tsukamoto, H., & Shimoda, T. (2010). Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology*, 49(7), 1215-1228. <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/KEQ031>
- Hotamisligil, G. S. (2010). Endoplasmic Reticulum Stress and the Inflammatory Basis of Metabolic Disease. *Cell*, 140(6), 900-917. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.034>
- Huang, T. Y., Chu, H. C., Lin, Y. L., Ho, W. H., Hou, H. S., Chao, Y. C., & Liao, C. L. (2009). Minocycline attenuates 5-fluorouracil-induced small intestinal mucositis in mouse model. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 389(4), 634-639. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2009.09.041>
- Hulme, A. T., & Tocher, D. A. (2006). The discovery of new crystal forms of 5-fluorocytosine consistent with the results of computational crystal structure prediction. *Crystal Growth and Design*, 6(2), 481-487. <https://doi.org/10.1021/cg050398g>
- Imlay, J. A. (2013). The molecular mechanisms and physiological consequences of oxidative stress: Lessons from a model bacterium. *Nature Reviews Microbiology*, 11(7), 443-454. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3032>
- Inomata, A., Horii, I., & Suzuki, K. (2002). 5-Fluorouracil-induced intestinal toxicity: what determines the severity of damage to murine intestinal crypt epithelia? *Toxicology Letters*, 133(2-3), 231-240. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(02\)00204-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00204-7)
- Iranzo, J., Martincorena, I., & Koonin, E. v. (2018). Cancer-mutation network and the number and specificity of driver mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(26), E6010-6019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803155115>

- Ito, A., Mukaiyama, A., Itoh, Y., Nagase, H., Thøgersen, I. B., Enghild, J. J., Sasaguri, Y., & Mori, Y. (1996). Degradation of interleukin 1beta by matrix metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry*, *271*(25), 14657-14660. <https://doi.org/10.1074/JBC.271.25.14657>
- Jain, M. v., Paczulla, A. M., Klonisch, T., Dimgba, F. N., Rao, S. B., Roberg, K., Schweizer, F., Lengerke, C., Davoodpour, P., Palicharla, V. R., Maddika, S., & Los, M. (2013). Interconnections between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: Implications for cancer therapy development. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *17*(1), 12-29. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12001>
- Jalmi, S. K., & Sinha, A. K. (2015). ROS mediated MAPK signaling in abiotic and biotic stress- striking similarities and differences. *Frontiers in Plant Science*, *6*(September), 769. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2015.00769/BIBTEX>
- Jiang, Y., Yu, M., Hu, X., Han, L., Yang, K., Ba, H., Zhang, Z., Yin, B., Yang, X. P., Li, Z., & Wang, J. (2017). STAT1 mediates transmembrane TNF-alpha-induced formation of death-inducing signaling complex and apoptotic signaling via TNFR1. *Cell Death & Differentiation* *2017 24:4*, *24*(4), 660-671. <https://doi.org/10.1038/cdd.2016.162>
- Johar, S., Cave, A. C., Narayanapanicker, A., Grieve, D. J., Shah, A. M., Johar, S., Cave, A. C., Narayanapanicker, A., Grieve, D. J., & Shah, A. M. (2006). Aldosterone mediates angiotensin II-induced interstitial cardiac fibrosis via a Nox2-containing NADPH oxidase. *The FASEB Journal*, *20*(9), 1546-1548. <https://doi.org/10.1096/fj.05-4642fje>
- Johnson, R. M., Barone, R. M., Newson, B. L., das Gupta, T. K., & M. Nyhus, L. (1973). Treatment of experimental acute pancreatitis with 5-Fluorouracil (5-FU). *The American Journal of Surgery*, *125*(2), 211-222. [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(73\)90030-5](https://doi.org/10.1016/0002-9610(73)90030-5)
- Jones, P. A., & Baylin, S. B. (2002). The Fundamental Role of Epigenetic Events in Cancer. *Nature Reviews Genetics*, *3*(6), 415-428. <https://doi.org/10.1038/nrg816>
- Jones, P. A., & Laird, P. W. (1999). Cancer epigenetics comes of age. *Nature Genetics*, *21*(2), 163-167. <https://doi.org/10.1038/5947>

- Kabe, Y., Ando, K., Hirao, S., Yoshida, M., & Handa, H. (2005). Redox regulation of NF- κ B activation: Distinct redox regulation between the cytoplasm and the nucleus. *Antioxidants and Redox Signaling*, 7(3-4), 395-405.
<https://doi.org/10.1089/ars.2005.7.395>
- Kalkan, T., Bintepe, C., Yurekli, I., Ersoy, N., Bagriyanik, H. A., & Reel, B. (2020). Alpha lipoic acid inhibits oxidative stress and up-regulation of MMPS in human saphenous vein grafts. *Atherosclerosis*, 315, 249-250.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.10.786>
- Kaneto, H., Katakami, N., Matsuhisa, M., & Matsuoka, T. A. (2010). Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*, 2010, 453892.
<https://doi.org/10.1155/2010/453892>
- Kaplan, K. A., Odabasoglu, F., Halici, Z., Halici, M., Cadirci, E., Atalay, F., Aydin, O., & Cakir, A. (2012). Alpha-lipoic acid protects against indomethacin-induced gastric oxidative toxicity by modulating antioxidant system. *Journal of Food Science*, 77(11), 224-230. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2012.02920.X>
- Kastan, M. B., & Bartek, J. (2004). Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature*, 432(7015), 316-323. <https://doi.org/10.1038/NATURE03097>
- Kendler, B. S. (2002). Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives. *Nutrition*, 18(7-8), 700-701. [https://doi.org/10.1016/s0899-9007\(02\)00790-6](https://doi.org/10.1016/s0899-9007(02)00790-6)
- Kermeoğlu, F., Sayiner, S., Şehirli, A. Ö., Savtekin, G., & Aksoy, U. (2022). Does α -lipoic acid therapeutically effective against experimentally induced-acute pulpitis in rats? *Australian Endodontic Journal*.
<https://doi.org/10.1111/aej.12618>
- Kessenbrock, K., Plaks, V., & Werb, Z. (2010). Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *Cell*, 141(1), 52-67.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.03.015>

- Khan, H., Gupta, A., Singh, T. G., & Kaur, A. (2021). Mechanistic insight on the role of leukotriene receptors in ischemic–reperfusion injury. *Pharmacological Reports 2021* 73:5, 73(5), 1240-1254. <https://doi.org/10.1007/S43440-021-00258-8>
- Khan, H., Sharma, K., Kumar, A., Kaur, A., & Singh, T. G. (2022). Therapeutic implications of cyclooxygenase (COX) inhibitors in ischemic injury. *Inflammation Research 2022* 71:3, 71(3), 277-292. <https://doi.org/10.1007/S00011-022-01546-6>
- Kim, J. I., Cho, S. R., Lee, C. M., Park, E. S., Kim, K. N., Kim, H. C., & Lee, H. Y. (2012). Induction of ER Stress-Mediated Apoptosis by α -Lipoic Acid in A549 Cell Lines. *The Korean Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 45(1), 1-10. <https://doi.org/10.5090/KJTCS.2012.45.1.1>
- Kim, S. H., Chun, H. J., Choi, H. S., Kim, E. S., Keum, B., Seo, Y. S., Jeon, Y. T., Lee, H. S., Um, S. H., & Kim, C. D. (2018). Ursodeoxycholic acid attenuates 5-fluorouracil-induced mucositis in a rat model. *Oncology Letters*, 16(2), 2585-2590. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8893>
- Kim, S. J., Kim, H. S., & Seo, Y. R. (2019). Understanding of ROS-Inducing Strategy in Anticancer Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/5381692>
- Kirtonia, A., Sethi, G., & Garg, M. (2020). The multifaceted role of reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(22), 4459-4483. <https://doi.org/10.1007/S00018-020-03536-5/FIGURES/9>
- Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 16(10), 626-638. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.90>
- Klein, T., & Bischoff, R. (2011). Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids*, 41(2), 271-290. <https://doi.org/10.1007/S00726-010-0689-X/FIGURES/1>
- Kleiner, D. E., & Stetler-Stevenson, W. G. (1999). Matrix metalloproteinases and metastasis. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 43 Suppl, 42-51. <https://doi.org/10.1007/S002800051097>

- Knight, B. E., Kozlowski, N., Havelin, J., King, T., Crocker, S. J., Young, E. E., & Baumbauer, K. M. (2019). TIMP-1 Attenuates the Development of Inflammatory Pain Through MMP-Dependent and Receptor-Mediated Cell Signaling Mechanisms. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 12*, 220. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2019.00220>
- Kolgazi, M., Jahovic, N., Yüksel, M., Ercan, F., & Alican, I. (2007). Alpha-lipoic acid modulates gut inflammation induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology, 22*(11), 1859-1865. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1746.2006.04504.X>
- Kong, F., & Singh, R. P. (2008). Disintegration of Solid Foods in Human Stomach. *Journal of Food Science, 73*(5), R67-R80. <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2008.00766.X>
- Koprowski, H., Zheng, Y. M., Heber-Katz, E., Fraser, N., Rorke, L., Fu, Z. F., Hanlon, C., & Dietzschold, B. (1993). In vivo expression of inducible nitric oxide synthase in experimentally induced neurologic diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90*(7), 3024-3027. <https://doi.org/10.1073/PNAS.90.7.3024>
- Korenaga, D., Honda, M., Yasuda, M., Inutsuka, S., Nozoe, T., & Tashiro, H. (2002). Increased Intestinal Permeability Correlates with Gastrointestinal Toxicity among Formulations of the Fluorouracil Analogue Tegafur in Rats. *European Surgical Research, 34*(5), 351-356. <https://doi.org/10.1159/000064001>
- Kumar, S., Pandey, A. K., & Liu, C.-M. (2015). Free Radicals: Health Implications and their Mitigation by Herbals. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research, 7*(6), 438-457. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2015/16284>
- Kussmaul, L., & Hirst, J. (2006). The mechanism of superoxide production by NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) from bovine heart mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103*(20), 7607-7612. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510977103>
- Kütük, S. G., & Nazıroğlu, M. (2020). Selenium Diminishes Docetaxel-Induced Cell Death, Oxidative Stress, and Inflammation in the Laryngotracheal Epithelium of

the Mouse. *Biological Trace Element Research*, 196(1), 184-194.

<https://doi.org/10.1007/s12011-019-01914-0>

Lalla, R. v., Bowen, J., Barasch, A., Elting, L., Epstein, J., Keefe, D. M., McGuire, D. B., Migliorati, C., Nicolatou-Galitis, O., Peterson, D. E., Raber-Durlacher, J. E., Sonis, S. T., Elad, S., Al-Dasooqi, N., Brennan, M., Gibson, R., Fulton, J., Hewson, I., Jensen, S. B., ... Zadik, Y. (2014). MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy.

Cancer, 120(10), 1453-1461. <https://doi.org/10.1002/CNCR.28592>

Lan, C. C. E., Wu, C. S., Kuo, H. Y., Huang, S. M., & Chen, G. S. (2009).

Hyperglycaemic conditions hamper keratinocyte locomotion via sequential inhibition of distinct pathways: new insights on poor wound closure in patients with diabetes. *British Journal of Dermatology*, 160(6), 1206-1214.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09089.x>

Lang, R., Braun, M., Sounni, N. E., Noel, A., Frankenne, F., Foidart, J. M., Bode, W., & Maskos, K. (2004). Crystal Structure of the Catalytic Domain of MMP-16/MT3-MMP: Characterization of MT-MMP Specific Features. *Journal of Molecular Biology*, 336(1), 213-225.

<https://doi.org/10.1016/J.JMB.2003.12.022>

Li, H. L., Lu, L., Wang, X. S., Qin, L. Y., Wang, P., Qiu, S. P., Wu, H., Huang, F., Zhang, B. B., Shi, H. L., & Wu, X. J. (2017). Alteration of gut microbiota and inflammatory cytokine/chemokine profiles in 5-fluorouracil induced intestinal mucositis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(OCT), 455.

<https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00455/BIBTEX>

Li, Q., Harraz, M. M., Zhou, W., Zhang, L. N., Ding, W., Zhang, Y., Eggleston, T., Yeaman, C., Banfi, B., & Engelhardt, J. F. (2006). Nox2 and Rac1 Regulate H₂O₂-Dependent Recruitment of TRAF6 to Endosomal Interleukin-1 Receptor Complexes. *Molecular and Cellular Biology*, 26(1), 140-154.

[https://doi.org/10.1128/MCB.26.1.140-](https://doi.org/10.1128/MCB.26.1.140-154.2006/SUPPL_FILE/SUPPLEMENTAL_DATA.PDF)

[154.2006/SUPPL_FILE/SUPPLEMENTAL_DATA.PDF](https://doi.org/10.1128/MCB.26.1.140-154.2006/SUPPL_FILE/SUPPLEMENTAL_DATA.PDF)

Liao, J. C., Lee, K. T., You, B. J., Lee, C. L., Chang, W. te, Wu, Y. C., & Lee, H. Z. (2015). Raf/ERK/Nrf2 signaling pathway and MMP-7 expression involvement

in the trigonelline-mediated inhibition of hepatocarcinoma cell migration. *Food & Nutrition Research*, 59, 29884. <https://doi.org/10.3402/FNR.V59.29884>

Linton, M. F., Moslehi, J. J., & Babaev, V. R. (2019). Akt Signaling in Macrophage Polarization, Survival, and Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2703. <https://doi.org/10.3390/IJMS20112703>

Lischper, M., Beuck, S., Thanabalasundaram, G., Pieper, C., & Galla, H. J. (2010). Metalloproteinase mediated occludin cleavage in the cerebral microcapillary endothelium under pathological conditions. *Brain Research*, 1326, 114-127. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2010.02.054>

Liu, J. (2008). The effects and mechanisms of mitochondrial nutrient α -lipoic acid on improving age-associated mitochondrial and cognitive dysfunction: An overview. *Neurochemical Research*, 33(1), 194-203. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9403-0>

Löffek, S., Schilling, O., & Franzke, C.-W. (2011). Series “matrix metalloproteinases in lung health and disease”: Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *The European Respiratory Journal*, 38(1), 191-208. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146510>

Logan, R. M., Gibson, R. J., Sonis, S. T., & Keefe, D. M. K. (2007). Nuclear factor- κ B (NF- κ B) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy. *Oral Oncology*, 43(4), 395-401. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2006.04.011>

Logan, R. M., Stringer, A. M., Bowen, J. M., Yeoh, A. S. J., Gibson, R. J., Sonis, S. T., & Keefe, D. M. K. (2007). The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5), 448-460. <https://doi.org/10.1016/J.CTRV.2007.03.001>

Longley, D. B., Harkin, D. P., & Johnston, P. G. (2003). 5-Fluorouracil: Mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), 330-338. <https://doi.org/10.1038/nrc1074>

- Lucchesi, P. A., Belmadani, S., & Matrougui, K. (2005). Hydrogen peroxide acts as both vasodilator and vasoconstrictor in the control of perfused mouse mesenteric resistance arteries. *Journal of Hypertension*, 23(3), 571-579. <https://doi.org/10.1097/01.HJH.0000160214.40855.79>
- Lukas, J., Lukas, C., & Bartek, J. (2004). Mammalian cell cycle checkpoints: Signalling pathways and their organization in space and time. *DNA Repair*, 3(8-9), 997-1007. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.006>
- Ma, Z., Xu, L., Liu, D., Zhang, X., Di, S., Li, W., Zhang, J., Reiter, R. J., Han, J., Li, X., & Yan, X. (2020). Utilizing Melatonin to Alleviate Side Effects of Chemotherapy: A Potentially Good Partner for Treating Cancer with Ageing. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6841581>
- MacNamara, E., & Goldberg, D. M. (1985). Serum Enzymes and Enzyme Profiles in the Diagnosis of Liver and Biliary Tract Disease. *Digestive Diseases*, 3(3), 165-186. <https://doi.org/10.1159/000171123>
- Mäkelä, M., Larjava, H., Pirilä, E., Maisi, P., Salo, T., Sorsa, T., & Uitto, V. J. (1999). Matrix Metalloproteinase 2 (Gelatinase A) Is Related to Migration of Keratinocytes. *Experimental Cell Research*, 251(1), 67-78. <https://doi.org/10.1006/EXCR.1999.4564>
- Malemud, C. J. (2019). Inhibition of MMPs and ADAM/ADAMTS. *Biochemical Pharmacology*, 165, 33-40. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2019.02.033>
- Mann, S. K., & Mann, N. S. (1979). Effect of chlorophyll-a, fluorouracil, and pituitrin on experimental acute pancreatitis. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 103(2), 79-81.
- Mantovani, A., Dinarello, C. A., Molgora, M., & Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity*, 50(4), 778-795. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2019.03.012>
- Mantovani, G., Macciò, A., Madeddu, C., Mura, L., Gramignano, G., Lusso, M. R., Murgia, V., Camboni, P., Ferreli, L., Mocci, M., & Massa, E. (2003). The impact of different antioxidant agents alone or in combination on reactive

oxygen species, antioxidant enzymes and cytokines in a series of advanced cancer patients at different sites: correlation with disease progression. *Free Radical Research*, 37(2), 213-223. <https://doi.org/10.1080/10715760303849>

Marchenko, N. D., Marchenko, G. N., & Strongin, A. Y. (2002). Unconventional activation mechanisms of MMP-26, a human matrix metalloproteinase with a unique PHCGXXD cysteine-switch motif. *Journal of Biological Chemistry*, 277(21), 18967-18972. <https://doi.org/10.1074/jbc.M201197200>

Marui, N., Offermann, M. K., Swerlick, R., Kunsch, C., Rosen, C. A., Ahmad, M., Wayne Alexander, R., & Medford, R. M. (1993). Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 92(4), 1866-1874. <https://doi.org/10.1172/JCI116778>

Mauro, C., Leow, S. C., Anso, E., Rocha, S., Thotakura, A. K., Tornatore, L., Moretti, M., de Smaele, E., Beg, A. A., Tergaonkar, V., Chandel, N. S., & Franzoso, G. (2011). NF- κ B controls energy homeostasis and metabolic adaptation by upregulating mitochondrial respiration. *Nature Cell Biology*, 13(10), 1272-1279. <https://doi.org/10.1038/ncb2324>

McLain, A. L., Cormier, P. J., Kinter, M., & Szweda, L. I. (2013). Glutathionylation of α -ketoglutarate dehydrogenase: The chemical nature and relative susceptibility of the cofactor lipoic acid to modification. *Free Radical Biology and Medicine*, 61, 161-169. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2013.03.020>

McQuibban, G. A., Butler, G. S., Gong, J. H., Bendall, L., Power, C., Clark-Lewis, I., & Overall, C. M. (2001). Matrix Metalloproteinase Activity Inactivates the CXC Chemokine Stromal Cell-derived Factor-1. *Journal of Biological Chemistry*, 276(47), 43503-43508. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107736200>

McQuibban, G. A., Gong, J. H., Tam, E. M., McCulloch, C. A. G., Clark-Lewis, I., & Overall, C. M. (2000). Inflammation Dampened by Gelatinase A Cleavage of Monocyte Chemoattractant Protein-3. *Science*, 289(5482), 1202-1206. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.289.5482.1202>

- Melo, M. L. P., Brito, G. A. C., Soares, R. C., Carvalho, S. B. L. M., Silva, J. v., Soares, P. M. G., Vale, M. L., Souza, M. H. L. P., Cunha, F. Q., & Ribeiro, R. A. (2008). Role of cytokines (TNF-alpha, IL-1beta and KC) in the pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *61*(5), 775-784. <https://doi.org/10.1007/S00280-007-0534-4>
- Michikoshi, H., Nakamura, T., Sakai, K., Suzuki, Y., Adachi, E., Matsugo, S., & Matsumoto, K. (2013). α -Lipoic acid-induced inhibition of proliferation and met phosphorylation in human non-small cell lung cancer cells. *Cancer Letters*, *335*(2), 472-478. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2013.03.008>
- Mihaylova, M. M., & Shaw, R. J. (2011). The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nature Cell Biology*, *13*(9), 1016-1023. <https://doi.org/10.1038/ncb2329>
- Mills, G. (1957). Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *The Journal of Biological Chemistry*, *229*(1), 189-197.
- Minamino, T., Komuro, I., & Kitakaze, M. (2010). Endoplasmic Reticulum Stress As a Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, *107*(9), 1071-1082. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.227819>
- Miriyala, S., Spasojevic, I., Tovmasyan, A., Salvemini, D., Vujaskovic, Z., st. Clair, D., & Batinic-Haberle, I. (2012). Manganese superoxide dismutase, MnSOD and its mimics. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1822*(5), 794-814. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2011.12.002>
- Mohan, M. J., Seaton, T., Mitchell, J., Howe, A., Blackburn, K., Burkhart, W., Moyer, M., Patel, I., Waitt, G. M., Becherer, J. D., Moss, M. L., & Milla, M. E. (2002). The tumor necrosis factor-alpha converting enzyme (TACE): a unique metalloproteinase with highly defined substrate selectivity. *Biochemistry*, *41*(30), 9462-9469. <https://doi.org/10.1021/BI0260132>

- Molz, P., & Schröder, N. (2017). Potential Therapeutic Effects of Lipoic Acid on Memory Deficits Related to Aging and Neurodegeneration. *Frontiers in Pharmacology*, *12*(8), 849. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00849>
- Moses, C., Garcia-Bloj, B., Harvey, A. R., & Blancafort, P. (2018). Hallmarks of cancer: The CRISPR generation. *European Journal of Cancer*, *93*, 10-18. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2018.01.002>
- Mott, J. D., & Werb, Z. (2004). Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Current Opinion in Cell Biology*, *16*(5), 558-564. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.07.010>
- Moura, F., de Andrade, K., Farias dos Santos, J., & Fonseca Goulart, M. (2015). Lipoic Acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *15*(5), 458-483. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150114161358>
- Mowat, A. M., & Agace, W. W. (2014). Regional specialization within the intestinal immune system. *Nature Reviews. Immunology*, *14*(10), 667-685. <https://doi.org/10.1038/NRI3738>
- Nadhanan, R. R., Abimosleh, S. M., Su, Y. W., Scherer, M. A., Howarth, G. S., & Xian, C. J. (2012). Dietary emu oil supplementation suppresses 5-fluorouracil chemotherapy-induced inflammation, osteoclast formation, and bone loss. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, *302*(11), 1440-1449. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00587.2011>
- Naidu, M. U. R., Ramana, G. V., Rani, P. U., Mohan, I. K., Suman, A., & Roy, P. (2004). Chemotherapy-Induced and/or Radiation Therapy-Induced Oral Mucositis-Complicating the Treatment of Cancer. *Neoplasia*, *6*(5), 423-431. <https://doi.org/10.1593/NEO.04169>
- Nakao, T., Kurita, N., Komatsu, M., Yoshikawa, K., Iwata, T., Utusnomiya, T., & Shimada, M. (2012). Irinotecan injures tight junction and causes bacterial translocation in rat. *The Journal of Surgical Research*, *173*(2), 341-347. <https://doi.org/10.1016/J.JSS.2010.10.003>

- Newsholme, P., Rebelato, E., Abdulkader, F., Krause, M., Carpinelli, A., & Curi, R. (2012). Reactive oxygen and nitrogen species generation, antioxidant defenses, and β -cell function: a critical role for amino acids. *The Journal of Endocrinology*, 214(1), 11-20. <https://doi.org/10.1530/JOE-12-0072>
- Nies, A. T., Magdy, T., Schwab, M., & Zanger, U. M. (2015). Role of ABC Transporters in Fluoropyrimidine-Based Chemotherapy Response. *Advances in Cancer Research*, 125, 217-243. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2014.10.007>
- Nishikawa, T., & Araki, E. (2006). Impact of Mitochondrial ROS Production in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(3), 343-353. <https://doi.org/10.1089/ars.2007.9.ft-19>
- Nissinen, L., & Kähäri, V. M. (2014). Matrix metalloproteinases in inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1840(8), 2571-2580. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2014.03.007>
- Noack, M., & Miossec, P. (2017). Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, 39(4), 365-383. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0619-z>
- Noordhuis, P., Holwerda, U., van der Wilt, C. L., van Groeningen, C. J., Smid, K., Meijer, S., Pinedo, H. M., & Peters, G. J. (2004). 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers. *Annals of Oncology*, 15(7), 1025-1032. <https://doi.org/10.1093/ANNONC/MDH264>
- Nürnberg, W., Platonov, A., Stannigel, H., Beloborodov, V. B., Michelmann, I., v. Kries, R., Burdach, S., & Göbel, U. (1995). Definition of a new score for severity of generalized Neisseria meningitidis infection. *European Journal of Pediatrics*, 154(11), 896-900. <https://doi.org/10.1007/BF01957501>
- Olczyk, P., Mencner, Ł., & Komosinska-Vassev, K. (2014). The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/747584>

- Omran, A. R. (2005). The epidemiologic transition: A theory of the epidemiology of population change. *Milbank Quarterly*, 83(4), 731-757.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-0009.2005.00398.x>
- Oršolić, N. (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(1), 0-20.
<https://doi.org/10.3896/ibra.4.02.1.01>
- Packer, L. (1998). alpha-Lipoic acid: a metabolic antioxidant which regulates NF-kappa B signal transduction and protects against oxidative injury. *Drug Metabolism Reviews*, 30(2), 245-275.
<https://doi.org/10.3109/03602539808996311>
- Packer, L., Kraemer, K., & Rimbach, G. (2001). Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition*, 17(10), 888-895.
[https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00658-X](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00658-X)
- Packer, L., Roy, S., & Sen, C. K. (1996). α -Lipoic Acid: A Metabolic Antioxidant and Potential Redox Modulator of Transcription. *Advances in Pharmacology*, 38(C), 79-101. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(08\)60980-1](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60980-1)
- Packer, L., Witt, E. H., & Tritschler, H. J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(2), 227-250.
[https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00017-R](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00017-R)
- Padmalayam, I., Hasham, S., Saxena, U., & Pillarisetti, S. (2009). Lipoic acid synthase (LASY): a novel role in inflammation, mitochondrial function, and insulin resistance. *Diabetes*, 58(3), 600-608. <https://doi.org/10.2337/DB08-0473>
- Page-McCaw, A., Ewald, A. J., & Werb, Z. (2007). Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(3), 221-233. <https://doi.org/10.1038/nrm2125>
- Paik, J. Y., Jung, K. H., Lee, J. H., Park, J. W., & Lee, K. H. (2017). Reactive oxygen species-driven HIF1 α triggers accelerated glycolysis in endothelial cells exposed to low oxygen tension. *Nuclear Medicine and Biology*, 45, 8-14.
<https://doi.org/10.1016/J.NUCMEDBIO.2016.10.006>

- Paiva, K. B. S., & Granjeiro, J. M. (2014). Bone tissue remodeling and development: focus on matrix metalloproteinase functions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *561*, 74-87. <https://doi.org/10.1016/J.ABB.2014.07.034>
- Panis, C., Herrera, A. C. S. A., Victorino, V. J., Campos, F. C., Freitas, L. F., de Rossi, T., Colado Simão, A. N., Cecchini, A. L., & Cecchini, R. (2012). Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast cancer patients subjected to paclitaxel or doxorubicin chemotherapy. *Breast Cancer Research and Treatment*, *133*(1), 89-97. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1693-x>
- Park, C. H., Youn, H. R., Lee, J., Lee, K. U., Park, J. Y., Koh, E. H., & Kim, H. S. (2009). Improved efficacy of appetite suppression by lipoic acid particles prepared by nanocomminution. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *35*(11), 1305-1311. <https://doi.org/10.3109/03639040902902385>
- Park, S., Choi, S. K., Choi, Y., & Moon, H. S. (2015). AMPK/p53 Axis Is Essential for α -Lipoic Acid-Regulated Metastasis in Human and Mouse Colon Cancer Cells. *Journal of Investigative Medicine*, *63*(7), 882-885. <https://doi.org/10.1097/JIM.0000000000000233>
- Parks, W. C., Wilson, C. L., & López-Boado, Y. S. (2004). Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, *4*(8), 617-629. <https://doi.org/10.1038/nri1418>
- Pastar, I., Stojadinovic, O., Yin, N. C., Ramirez, H., Nusbaum, A. G., Sawaya, A., Patel, S. B., Khalid, L., Isseroff, R. R., & Tomic-Canic, M. (2014). Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Advances in Wound Care*, *3*(7), 445-464. <https://doi.org/10.1089/WOUND.2013.0473>
- Peterson, D. E., Bensadoun, R. J., & Roila, F. (2011). Management of oral and gastrointestinal mucositis: ESMO clinical practice guidelines. *Annals of Oncology*, *22*(SUPPL. 6), vi78-vi84. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr391>
- Petschow, B. W., Carter, D. L., & Hutton, G. D. (1993). Influence of orally administered epidermal growth factor on normal and damaged intestinal mucosa in rats. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *17*(1), 49-58. <https://doi.org/10.1097/00005176-199307000-00007>

- Phiboonchaiyanan, P. P., & Chanvorachote, P. (2017). Suppression of a cancer stem-like phenotype mediated by alpha-lipoic acid in human lung cancer cells through down-regulation of β -catenin and Oct-4. *Cellular Oncology*, 40(5). <https://doi.org/10.1007/s13402-017-0339-3>
- Piche, T. (2014). Tight junctions and IBS--the link between epithelial permeability, low-grade inflammation, and symptom generation? *Neurogastroenterology and Motility : The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 26(3), 296-302. <https://doi.org/10.1111/NMO.12315>
- Piechota-Polanczyk, A., Zielińska, M., Piekielny, D., & Fichna, J. (2016). The influence of lipoic acid on caveolin-1-regulated antioxidative enzymes in the mouse model of acute ulcerative colitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 470-475. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2016.09.066>
- Pilcher, B. K., Dumin, J. A., Sudbeck, B. D., Krane, S. M., Welgus, H. G., & Parks, W. C. (1997). The Activity of Collagenase-1 Is Required for Keratinocyte Migration on a Type I Collagen Matrix. *The Journal of Cell Biology*, 137(6), 1445. <https://doi.org/10.1083/JCB.137.6.1445>
- Pinto, D., & Clevers, H. (2005). Wnt control of stem cells and differentiation in the intestinal epithelium. *Experimental Cell Research*, 306(2), 357-363. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2005.02.022>
- Pittayapruerk, P., Meephansan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2016). Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 868. <https://doi.org/10.3390/IJMS17060868>
- Pobezinskaya, Y. L., & Liu, Z. (2012). The role of TRADD in death receptor signaling. *Cell Cycle*, 11(5), 871-876. <https://doi.org/10.4161/CC.11.5.19300>
- Prince, G. T., Cameron, M. C., Fathi, R., & Alkousakis, T. (2018a). Intralesional and Laser-Assisted 5-Fluorouracil in Dermatologic Disease: A Systematic Review. *Journal of Drugs in Dermatology*, 17(3), 274-280.

- Prince, G. T., Cameron, M. C., Fathi, R., & Alkousakis, T. (2018b). Topical 5-fluorouracil in dermatologic disease. *International Journal of Dermatology*, 57(10), 1259-1264. <https://doi.org/10.1111/ijd.14106>
- Prisciandaro, L. D., Geier, M. S., Butler, R. N., Cummins, A. G., & Howarth, G. S. (2011). Probiotic factors partially improve parameters of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats. 11(7), 671-677. <https://doi.org/10.4161/CBT.11.7.14896>
- Pruchniak, M. P., Arażna, M., & Demkc, U. (2016). Biochemistry of oxidative stress. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 878, 9-19. https://doi.org/10.1007/5584_2015_161/COVER
- Puneet, Kazmi, H. R., Kumari, S., Tiwari, S., Khanna, A., & Narayan, G. (2018). Epigenetic Mechanisms and Events in Gastric Cancer-Emerging Novel Biomarkers. *Pathology and Oncology Research*, 24(4), 757-770. <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0410-z>
- Radi, R., Peluffo, G., Alvarez, M. N., Naviliat, M., & Cayota, A. (2001). Unraveling peroxy nitrite formation in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(5), 463-488. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(00\)00373-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(00)00373-7)
- Rageh, M. M., & El-Gebaly, R. H. (2019). Antioxidant activities of α -lipoic acid free and nano-capsule inhibit the growth of Ehrlich carcinoma. *Molecular Biology Reports*, 46(3), 3141-3148. <https://doi.org/10.1007/S11033-019-04769-9>
- Ramamurthy, S., & Ronnett, G. (2012). AMP-Activated Protein Kinase (AMPK) and Energy-Sensing in the Brain. *Experimental Neurobiology*, 21(2), 52-60. <https://doi.org/10.5607/EN.2012.21.2.52>
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., & Yadav, U. C. S. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183-193. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2016.02.002>
- Rapa, S. F., Magliocca, G., Pepe, G., Amodio, G., Autore, G., Campiglia, P., & Marzocco, S. (2021). Protective Effect of Pomegranate on Oxidative Stress and Inflammatory Response Induced by 5-Fluorouracil in Human Keratinocytes. *Antioxidants*, 10(2), 203-218. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX10020203>

- Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2014). Mitigation of 5-Fluorouracil induced renal toxicity by chrysin via targeting oxidative stress and apoptosis in wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, *66*, 185-193. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2014.01.026>
- Ravi, A., Garg, P., & Sitaraman, S. v. (2007). Matrix metalloproteinases in inflammatory bowel disease: Boon or a bane? *Inflammatory Bowel Diseases*, *13*(1), 97-107. <https://doi.org/10.1002/ibd.20011>
- Reijerkerk, A., Kooij, G., A. van der Pol, S. M., Khazen, S., Dijkstra, C. D., Vries, H. E., Reijerkerk, A., Kooij, G., A. van der Pol, S. M., Khazen, S., Dijkstra, C. D., & Vries, H. E. (2006). Diapedesis of monocytes is associated with MMP-mediated occludin disappearance in brain endothelial cells. *The FASEB Journal*, *20*(14), 2550-2552. <https://doi.org/10.1096/fj.06-6099fje>
- Revilla, G., Darwin, E., Yanwirasti, & Rantam, F. A. (2016). Effect of Allogeneic Bone Marrow-mesenchymal Stem Cells (BM-MSCs) to Accelerate Burn Healing of Rat on the Expression of Collagen Type I and Integrin $\alpha 2\beta 1$. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *19*(8-9), 345-351. <https://doi.org/10.3923/PJBS.2016.345.351>
- Ribeiro, R. A., Wanderley, C. W. S., Wong, D. V. T., Mota, J. M. S. C., Leite, C. A. V. G., Souza, M. H. L. P., Cunha, F. Q., & Lima-Júnior, R. C. P. (2016). Irinotecan- and 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: insights into pathogenesis and therapeutic perspectives. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *78*(5), 881-893. <https://doi.org/10.1007/S00280-016-3139-Y>
- Rider, P., Carmi, Y., Guttman, O., Braiman, A., Cohen, I., Voronov, E., White, M. R., Dinarello, C. A., & Apte, R. N. (2011). IL-1 α and IL-1 β Recruit Different Myeloid Cells and Promote Different Stages of Sterile Inflammation. *The Journal of Immunology*, *187*(9), 4835-4843. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102048>
- Rohani, M. G., & Parks, W. C. (2015). Matrix remodeling by MMPs during wound repair. *Matrix Biology*, *44-46*, 113-121. <https://doi.org/10.1016/J.MATBIO.2015.03.002>

- Román-Pintos, L. M., Villegas-Rivera, G., Rodríguez-Carrizalez, A. D., Miranda-Díaz, A. G., & Cardona-Muñoz, E. G. (2016). Diabetic Polyneuropathy in Type 2 Diabetes Mellitus: Inflammation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Function. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 3425617. <https://doi.org/10.1155/2016/3425617>
- Rotruck, J. T., Pope, A. L., & Ganther, H. E. (1980). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Nutrition Reviews*, 38(8), 280-283. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1980.tb05961.x>
- Rtibi, K., Selmi, S., Grami, D., Amri, M., Sebai, H., & Marzouki, L. (2017). Contribution of oxidative stress in acute intestinal mucositis induced by 5 fluorouracil (5-FU) and its pro-drug capecitabine in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(4), 262-267. <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1402976>
- Rutman, R. J., Cantarow, A., & Paschkis, K. E. (1954). Studies in 2-Acetylaminofluorene Carcinogenesis: II. The in Vitro Uptake of Alanine-1-C14 by Preneoplastic Liver and Hepatoma Mitochondrial Protein. *Cancer Research*, 14(2), 115-118.
- Salinthon, S., Yadav, V., Schillace, R. v., Bourdette, D. N., & Carr, D. W. (2010). Lipoic Acid Attenuates Inflammation via cAMP and Protein Kinase A Signaling. *PLOS ONE*, 5(9), e13058. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0013058>
- Santos-Martínez, M. J., Medina, C., Jurasz, P., & Radomski, M. W. (2008). Role of metalloproteinases in platelet function. *Thrombosis Research*, 121(4), 535-542. <https://doi.org/10.1016/J.THROMRES.2007.06.002>
- Sayiner, S., Şehirli, A. Ö., & Serakıncı, N. (2020). Alpha Lipoic Acid as a Potential Treatment for COVID-19 - A Hypothesis. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 19(2), 172-175. <https://doi.org/10.37290/ctnr2641-452X.19:172-175>
- Schönbeck, U., Mach, F., & Libby, P. (1998). Generation of Biologically Active IL-1 β by Matrix Metalloproteinases: A Novel Caspase-1-Independent Pathway of

IL-1 β Processing. *The Journal of Immunology*, *161*(7), 3340-3346.

<https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.161.7.3340>

Schoonbroodt, S., Ferreira, V., Best-Belpomme, M., Boelaert, J. R., Legrand-Poels, S., Korner, M., & Piette, J. (2000). Crucial Role of the Amino-Terminal Tyrosine Residue 42 and the Carboxyl-Terminal PEST Domain of I κ B α in NF- κ B Activation by an Oxidative Stress. *The Journal of Immunology*, *164*(8), 4292-4300. <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.164.8.4292>

Schubert, M. L., & Peura, D. A. (2008). Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. *Gastroenterology*, *134*(7), 1842-1860.

<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.05.021>

Scott, B. C., Aruoma, O. I., Evans, P. J., O'neill, C., van der Vliet, A., Cross, C. E., Tritschler, H., & Halliwell, B. (1994). Lipoic and dihydrolipoic acids as antioxidants. A critical evaluation. *Free Radical Research*, *20*(2), 119-133.

<https://doi.org/10.3109/10715769409147509>

Şehirli, A., Aksoy, U., Kermeoglu, F., Kalender, A., Savtekin, G., Ozkayalar, H., & Sayiner, S. (2019). Protective effect of alpha-lipoic acid against apical periodontitis-induced cardiac injury in rats. *European Journal of Oral Sciences*, *127*(4). <https://doi.org/10.1111/eos.12618>

Şehirli, Ö., Şener, E., Çetinel, Ş., Yüksel, M., Gedik, N., & Şener, G. (2008). Alpha-lipoic acid protects against renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, *35*(3), 249-255.

<https://doi.org/10.1111/J.1440-1681.2007.04810.X>

Şehirli, Ö., Tozan, A., Omurtag, G. Z., Cetinel, S., Contuk, G., Gedik, N., & Şener, G. (2008). Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *71*(1), 301-308.

<https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2007.08.023>

Sharma, A., Kumar, D., Moore, R. M., Deshmukh, A., Mercer, B. M., Mansour, J. M., & Moore, J. J. (2020). Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), the critical intermediate of inflammation-induced fetal membrane weakening, primarily exerts its weakening effect on the choriodecidua rather

than the amnion. *Placenta*, 89, 1-7.

<https://doi.org/10.1016/J.PLACENTA.2019.10.003>

- Singh, K., Bhorl, M., Kasu, Y. A., Bhat, G., & Marar, T. (2018). Antioxidants as precision weapons in war against cancer chemotherapy induced toxicity - Exploring the armoury of obscurity. *Saudi Pharmaceutical Journal* , 26(2), 177-190. <https://doi.org/10.1016/J.JSPS.2017.12.013>
- Siu, G. M., & Draper, H. H. (1982). Metabolism of malonaldehyde in vivo and in vitro. *Lipids*, 17(5), 349-355. <https://doi.org/10.1007/BF02535193>
- Soares, P. M. G., Mota, J. M. S. C., Gomes, A. S., Oliveira, R. B., Assreuy, A. M. S., Brito, G. A. C., Santos, A. A., Ribeiro, R. A., & Souza, M. H. L. P. (2008). Gastrointestinal dysmotility in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis outlasts inflammatory process resolution. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 63(1), 91-98. <https://doi.org/10.1007/S00280-008-0715-9/FIGURES/6>
- Sohail, A., Sun, Q., Zhao, H., Bernardo, M. M., Cho, J. A., & Fridman, R. (2008). MT4-(MMP17) and MT6-MMP (MMP25), a unique set of membrane-anchored matrix metalloproteinases: Properties and expression in cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 27(2), 289-302. <https://doi.org/10.1007/s10555-008-9129-8>
- Song, L., Zhou, X., Jia, H. J., Du, M., Zhang, J. L., & Li, L. (2016). Effect of hGC-MSCs from human gastric cancer tissue on cell proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition in tumor tissue of gastric cancer tumor-bearing mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(8), 796-800. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.06.004>
- Song, M.-K., Park, M.-Y., & Sung, M.-K. (2013). 5-Fluorouracil-induced changes of intestinal integrity biomarkers in BALB/c mice. *Journal of Cancer Prevention*, 18(4), 322-329. <https://doi.org/10.15430/JCP.2013.18.4.322>
- Sonis, S. T. (2004a). A biological approach to mucositis. *Journal of Supportive Oncology*, 2(1), 21-32.
- Sonis, S. T. (2004b). The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer*, 4(4), 277-284. <https://doi.org/10.1038/nrc1318>

- Sonis, S. T. (2007). Pathobiology of oral mucositis: Novel insights and opportunities. *Journal of Supportive Oncology*, 5(9 SUPPL. 4), 3-11.
- Sonis, S. T. (2010a). Regimen-related gastrointestinal toxicities in cancer patients. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 4(1), 26-30.
<https://doi.org/10.1097/SPC.0B013E328335FB76>
- Sonis, S. T. (2010b). New thoughts on the initiation of mucositis. *Oral Diseases*, 16(7), 597-600. <https://doi.org/10.1111/J.1601-0825.2010.01681.X>
- Sonis, S. T. (2011). Oral mucositis. *Anti-Cancer Drugs*, 22(7), 607-612.
<https://doi.org/10.1097/CAD.0B013E3283462086>
- Sonis, S. T., & Villa, A. (2018). Phase II investigational oral drugs for the treatment of radio/chemotherapy induced oral mucositis. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 27(2), 147-154.
<https://doi.org/10.1080/13543784.2018.1427732>
- Sougiannis, A. T., VanderVeen, B. N., Davis, J. M., Fan, D., & Murphy, E. A. (2021). Understanding chemotherapy-induced intestinal mucositis and strategies to improve gut resilience. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 320(5), G712-G719.
<https://doi.org/10.1152/AJPGI.00380.2020>
- Steinberg, G. R., & Kemp, B. E. (2009). AMPK in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 89(3), 1025-1078.
<https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00011.2008>
- Steinhubl, S. R. (2008). Why Have Antioxidants Failed in Clinical Trials? *The American Journal of Cardiology*, 101(10), S14-S19.
<https://doi.org/10.1016/J.AMJCARD.2008.02.003>
- Sternlicht, M. D., & Werb, Z. (2001). How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 17, 463-516.
<https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.463>
- Stringer, A. M., Al-Dasooqi, N., Bowen, J. M., Tan, T. H., Radzuan, M., Logan, R. M., Mayo, B., Keefe, D. M. K., & Gibson, R. J. (2013). Biomarkers of

chemotherapy-induced diarrhoea: A clinical study of intestinal microbiome alterations, inflammation and circulating matrix metalloproteinases. *Supportive Care in Cancer*, 21(7), 1843-1852. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1741-7>

Stringer, A. M., Gibson, R. J., Bowen, J. M., Logan, R. M., Ashton, K., Yeoh, A. S. J., Al-Dasooqi, N., & Keefe, D. M. K. (2009). Irinotecan-induced mucositis manifesting as diarrhoea corresponds with an amended intestinal flora and mucin profile. *International Journal of Experimental Pathology*, 90(5), 489-499. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2613.2009.00671.X>

Sultani, M., Stringer, A. M., Bowen, J. M., & Gibson, R. J. (2012). Anti-Inflammatory Cytokines: Important Immunoregulatory Factors Contributing to Chemotherapy-Induced Gastrointestinal Mucositis. *Chemotherapy Research and Practice*, 2012, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2012/490804>

Szeląg, M., Mikulski, D., & Molski, M. (2012). Quantum-chemical investigation of the structure and the antioxidant properties of α -lipoic acid and its metabolites. *Journal of Molecular Modeling*, 18(7), 2907-2916. <https://doi.org/10.1007/S00894-011-1306-Y>

Takada, Y., Mukhopadhyay, A., Kundu, G. C., Mahabeleshwar, G. H., Singh, S., & Aggarwal, B. B. (2003). Hydrogen Peroxide Activates NF- κ B through Tyrosine Phosphorylation of I κ B α and Serine Phosphorylation of p65. *Journal of Biological Chemistry*, 278(26), 24233-24241. <https://doi.org/10.1074/jbc.m212389200>

Tanaka, F., Fukuse, T., Wada, H., & Fukushima, M. (2005). The History, Mechanism and Clinical Use of Oral 5-Fluorouracil Derivative Chemotherapeutic Agents. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 1(2), 137-164. <https://doi.org/10.2174/1389201003378979>

Tarhan, Ö. R. (2023). *Mide Anatomisi*. <https://www.turkcerrahi.com/makaleler/mide/mide-anatomisi/>

Tavender, T. J., Springate, J. J., & Bulleid, N. J. (2010). Recycling of peroxiredoxin IV provides a novel pathway for disulphide formation in the endoplasmic

reticulum. *The EMBO Journal*, 29(24), 4185-4197.

<https://doi.org/10.1038/EMBOJ.2010.273>

ter Horst, R., Jaeger, M., Smeekens, S. P., Oosting, M., Swertz, M. A., Li, Y., Kumar, V., Diavatopoulos, D. A., Jansen, A. F. M., Lemmers, H., Toenhake-Dijkstra, H., van Herwaarden, A. E., Janssen, M., van der Molen, R. G., Joosten, I., Sweep, F. C. G. J., Smit, J. W., Netea-Maier, R. T., Koenders, M. M. J. F., ... Netea, M. G. (2016). Host and Environmental Factors Influencing Individual Human Cytokine Responses. *Cell*, 167(4), 1111-1124.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.018>

The Editors of Encyclopaedia Britannica. (2022). *Small intestine | anatomy | Britannica*. <https://www.britannica.com/science/small-intestine>

Thomas, D. M., & Zalcborg, J. R. (1998). 5-fluorouracil: a pharmacological paradigm in the use of cytotoxics. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 25(11), 887-895. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1681.1998.TB02339.X>

Tomimatsu, T., & Horie, T. (2005). Enhanced glucose absorption in the rat small intestine following repeated doses of 5-fluorouracil. *Chemico-Biological Interactions*, 155(3), 129-139. <https://doi.org/10.1016/J.CBI.2005.04.001>

Torgovnick, A., & Schumacher, B. (2015). DNA repair mechanisms in cancer development and therapy. *Frontiers in Genetics*, 6, 156.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00157>

Toriseva, M., & Kähäri, V. M. (2009). Proteinases in cutaneous wound healing. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(2), 203-224.
<https://doi.org/10.1007/s00018-008-8388-4>

Trivedi, P. P., & Jena, G. B. (2013). Role of α -lipoic acid in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice: studies on inflammation, oxidative stress, DNA damage and fibrosis. *Food and Chemical Toxicology*, 59, 339-355.
<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2013.06.019>

Tsou, P. S., Balogh, B., Pinney, A. J., Zakhem, G., Lozier, A., Amin, M. A., Stinson, W. A., Schiopu, E., Khanna, D., Fox, D. A., & Koch, A. E. (2014). Lipoic acid

plays a role in scleroderma: insights obtained from scleroderma dermal fibroblasts. *Arthritis Research & Therapy*, 16(4), 411.

<https://doi.org/10.1186/S13075-014-0411-6>

- Uttra, A. M., Alamgeer, Shahzad, M., Shabbir, A., & Jahan, S. (2018). Ephedra gerardiana aqueous ethanolic extract and fractions attenuate Freund Complete Adjuvant induced arthritis in Sprague Dawley rats by downregulating PGE2, COX2, IL-1 β , IL-6, TNF- α , NF-kB and upregulating IL-4 and IL-10. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 482-496. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2018.06.018>
- v. Goncharov, N., v. Avdonin, P., D. Nadeev, A., L. Zharkikh, I., & O. Jenkins, R. (2015). Reactive Oxygen Species in Pathogenesis of Atherosclerosis. *Current Pharmaceutical Design*, 21(9), 1134-1146. <https://doi.org/10.2174/1381612820666141014142557>
- van de Mark, K., Chen, J. S., Steliou, K., Perrine, S. P., & Faller, D. v. (2003). Alpha-lipoic acid induces p27Kip-dependent cell cycle arrest in non-transformed cell lines and apoptosis in tumor cell lines. *Journal of Cellular Physiology*, 194(3), 325-340. <https://doi.org/10.1002/JCP.10205>
- van den Steen, P. E., Wuyts, A., Husson, S. J., Proost, P., van Damme, J., & Opdenakker, G. (2003). Gelatinase B/MMP-9 and neutrophil collagenase/MMP-8 process the chemokines human GCP-2/CXCL6, ENA-78/CXCL5 and mouse GCP-2/LIX and modulate their physiological activities. *European Journal of Biochemistry*, 270(18), 3739-3749. <https://doi.org/10.1046/J.1432-1033.2003.03760.X>
- van der Goes, A., Brouwer, J., Hoekstra, K., Roos, D., van den Berg, T. K., & Dijkstra, C. D. (1998). Reactive oxygen species are required for the phagocytosis of myelin by macrophages. *Journal of Neuroimmunology*, 92(1-2), 67-75. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(98\)00175-1](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(98)00175-1)
- Vandenbroucke, R. E., Dejonckheere, E., van Hauwermeiren, F., Lodens, S., de Rycke, R., van Wonterghem, E., Staes, A., Gevaert, K., López-Otin, C., & Libert, C. (2013). Matrix metalloproteinase 13 modulates intestinal epithelial barrier integrity in inflammatory diseases by activating TNF. *EMBO Molecular Medicine*, 5(7), 1000-1016. <https://doi.org/10.1002/EMMM.201202100/FULL>

- Vanhoecke, B., de Ryck, T., Stringer, A., van de Wiele, T., & Keefe, D. (2015). Microbiota and their role in the pathogenesis of oral mucositis. *Oral Diseases*, 21(1), 17-30. <https://doi.org/10.1111/odi.12224>
- Vásquez-Vivar, J., Kalyanaraman, B., Martásek, P., Hogg, N., Masters, B. S. S., Karoui, H., Tordo, P., & Pritchard, K. A. (1998). Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: The influence of cofactors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(16), 9220-9225. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.16.9220>
- Vermeer, P. D., Denker, J., Estin, M., Moninger, T. O., Keshavjee, S., Karp, P., Kline, J. N., & Zabner, J. (2009). MMP9 modulates tight junction integrity and cell viability in human airway epithelia. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 296(5), 751-762. <https://doi.org/10.1152/ajplung.90578.2008>
- Villa, A., & Sonis, S. T. (2015). Mucositis: Pathobiology and management. *Current Opinion in Oncology*, 27(3), 159-164. <https://doi.org/10.1097/CCO.0000000000000180>
- Villa, A., & Sonis, S. T. (2016). Pharmacotherapy for the management of cancer regimen-related oral mucositis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(13), 1801-1807. <https://doi.org/10.1080/14656566.2016.1217993>
- Vincenti, M. P., & Brinckerhoff, C. E. (2002). Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Research*, 4(3), 157-164. <https://doi.org/10.1186/AR401>
- Visse, R., & Nagase, H. (2003). Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Research*, 92(8), 827-839. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D>
- Vogelstein, B., Papadopoulos, N., Velculescu, V. E., Zhou, S., Diaz, L. A., & Kinzler, K. W. (2013). Cancer genome landscapes. *Science*, 340(6127), 1546-1558. <https://doi.org/10.1126/science.1235122>

- Vu, T. H., & Werb, Z. (2000). Matrix metalloproteinases: Effectors of development and normal physiology. *Genes and Development*, *14*(17), 2123-2133. <https://doi.org/10.1101/gad.815400>
- Waage, A., Halstensen, A., & Espevik, T. (1987). Association between tumour necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet*, *1*(8529), 355-357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(87\)91728-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(87)91728-4)
- Wagner, K. H., & Brath, H. (2012). A global view on the development of non communicable diseases. *Preventive Medicine*, *54*(SUPPL.), S38-S41. <https://doi.org/10.1016/J.YPMED.2011.11.012>
- Wang, J., Al-Lamki, R. S., Zhang, H., Kirkiles-Smith, N., Gaeta, M. lou, Thiru, S., Pober, J. S., & Bradley, J. R. (2003). Histamine antagonizes tumor necrosis factor (TNF) signaling by stimulating TNF receptor shedding from the cell surface and Golgi storage pool. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*(24), 21751-21760. <https://doi.org/10.1074/JBC.M212662200>
- Wang, S., Song, P., & Zou, M. H. (2012). AMP-activated protein kinase, stress responses and cardiovascular diseases. *Clinical Science*, *122*(12), 555-573. <https://doi.org/10.1042/CS20110625>
- Ward, E. M., Sherman, R. L., Henley, S. J., Jemal, A., Siegel, D. A., Feuer, E. J., Firth, A. U., Kohler, B. A., Scott, S., Ma, J., Anderson, R. N., Benard, V., & Cronin, K. A. (2019). Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, Featuring Cancer in Men and Women Age 20-49 Years. *Journal of the National Cancer Institute*, *111*(12), 1279-1297. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJZ106>
- Wardill, H. R., Bowen, J. M., & Gibson, R. J. (2012). Chemotherapy-induced gut toxicity: Are alterations to intestinal tight junctions pivotal. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *70*(5), 627-635. <https://doi.org/10.1007/s00280-012-1989-5>
- Wei, L., Wang, J., Yan, L., Shui, S., Wang, L., Zheng, W., Liu, S., Liu, C., & Zheng, L. (2020). Sulforaphane attenuates 5-fluorouracil induced intestinal injury in

mice. *Journal of Functional Foods*, 69, 103965.

<https://doi.org/10.1016/J.JFF.2020.103965>

- Weinstock, M. A., Thwin, S. S., Siegel, J. A., Marcolivio, K., Means, A. D., Leader, N. F., Shaw, F. M., Hogan, D., Eilers, D., Swetter, S. M., Chen, S. C., Jacob, S. E., Warshaw, E. M., Stricklin, G. P., Dellavalle, R. P., Sidhu-Malik, N., Konnikov, N., Werth, V. P., Keri, J. E., ... Huang, G. D. (2018). Chemoprevention of basal and squamous cell carcinoma with a single course of fluorouracil, 5%, cream: A randomized clinical trial. *JAMA Dermatology*, 154(2), 167-174. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2017.3631>
- West, M. D., Pereira-Smith, O. M., & Smith, J. R. (1989). Replicative senescence of human skin fibroblasts correlates with a loss of regulation and overexpression of collagenase activity. *Experimental Cell Research*, 184(1), 138-147. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(89\)90372-8](https://doi.org/10.1016/0014-4827(89)90372-8)
- White, S. W., Zheng, J., Zhang, Y. M., & Rock, C. O. (2005). The structural biology of type II fatty acid biosynthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 74, 791-831. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BIOCHEM.74.082803.133524>
- Wilking, M., Ndiaye, M., Mukhtar, H., & Ahmad, N. (2013). Circadian rhythm connections to oxidative stress: implications for human health. *Antioxidants & Redox Signaling*, 19(2), 192-208. <https://doi.org/10.1089/ARS.2012.4889>
- Williams, L. A., Richardson, M., Marcotte, E. L., Poynter, J. N., & Spector, L. G. (2019). Sex ratio among childhood cancers by single year of age. *Pediatric Blood & Cancer*, 66(6). <https://doi.org/10.1002/PBC.27620>
- Wirén, S., Häggström, C., Ulmer, H., Manjer, J., Bjørge, T., Nagel, G., Johansen, D., Hallmans, G., Engeland, A., Concin, H., Jonsson, H., Selmer, R., Tretli, S., Stocks, T., & Stattin, P. (2014). Pooled cohort study on height and risk of cancer and cancer death. *Cancer Causes and Control*, 25(2), 151-159. <https://doi.org/10.1007/s10552-013-0317-7>
- Wittkopf, N., Neurath, M. F., & Becker, C. (2014). Immune-epithelial crosstalk at the intestinal surface. *Journal of Gastroenterology*, 49(3), 375-387. <https://doi.org/10.1007/S00535-013-0929-4>

- Wong, H. L., Bendayan, R., Rauth, A. M., Li, Y., & Wu, X. Y. (2007).
Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles.
Advanced Drug Delivery Reviews, 59(6), 491-504.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.008>
- Wouters, M. M., Vicario, M., & Santos, J. (2016). The role of mast cells in
functional GI disorders. *Gut*, 65(1), 155-168. <https://doi.org/10.1136/GUTJNL-2015-309151>
- Wright, T. H., Yazbeck, R., Lymn, K. A., Whitford, E. J., Cheah, K. Y., Butler, R.
N., Feinle-Bisset, C., Pilichiewicz, A. N., Mashtoub, S., & Howarth, G. S.
(2009). The herbal extract Iberogast improves jejunal integrity in rats with 5-
Fluorouracil (5-FU)-induced mucositis. *Cancer Biology & Therapy*, 8(10), 923-
929. <https://doi.org/10.4161/CBT.8.10.8146>
- Wu, Z., Han, X., Qin, S., Zheng, Q., Wang, Z., Xiang, D., Zhang, J., Lu, H., Wu, M.,
Zhu, S., Yu, Y., Wang, Y., & Han, W. (2011). Interleukin 1 receptor antagonist
reduces lethality and intestinal toxicity of 5-Fluorouracil in a mouse mucositis
model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 65(5), 339-344.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2011.04.013>
- Wyatt, M. D., & Wilson, D. M. (2009). Participation of DNA repair in the response
to 5-fluorouracil. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(5), 788-799.
<https://doi.org/10.1007/s00018-008-8557-5>
- Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., Sole, J., Nichols, A.,
Ross, J. S., Tartaglia, L. A., & Chen, H. (2003). Chronic inflammation in fat
plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The
Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1821-1830.
<https://doi.org/10.1172/JCI19451>
- Xue, D., Zhou, X., & Qiu, J. (2020). Emerging role of NRF2 in ROS-mediated tumor
chemoresistance. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 131, 110676.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2020.110676>

- Yamamoto, Y., & Gaynor, R. B. (2001). Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, *107*(2), 135-142. <https://doi.org/10.1172/JCI11914>
- Yan, X. xia, Li, H. long, Zhang, Y. ting, Wu, S. yan, Lu, H. lei, Yu, X. lu, Meng, F. guo, Sun, J. hua, & Gong, L. kun. (2020). A new recombinant MS-superoxide dismutase alleviates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, *41*(3), 348-357. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0295-8>
- Yasuda, M., Kato, S., Yamanaka, N., Iimori, M., Utsumi, D., Kitahara, Y., Iwata, K., Matsuno, K., Amagase, K., Yabe-Nishimura, C., & Takeuchi, K. (2012). Potential role of the NADPH oxidase NOX1 in the pathogenesis of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, *302*(10), G1133-1144. <https://doi.org/10.1152/AJPGI.00535.2011>
- Yaworsky, K., Somwar, R., Ramlal, T., Tritschler, H. J., & Klip, A. (2000). Engagement of the insulin-sensitive pathway in the stimulation of glucose transport by alpha-lipoic acid in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia*, *43*(3), 294-303. <https://doi.org/10.1007/S001250050047>
- Yin, J., Ren, W., Huang, X., Deng, J., Li, T., & Yin, Y. (2018). Potential Mechanisms Connecting Purine Metabolism and Cancer Therapy. *Frontiers in Immunology*, *9*, 1697. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01697>
- Ying, Z., Kampfrath, T., Sun, Q., Parthasarathy, S., & Rajagopalan, S. (2011). Evidence that α -lipoic acid inhibits NF- κ B activation independent of its antioxidant function. *Inflammation Research*, *60*(3), 219-225. <https://doi.org/10.1007/S00011-010-0256-7>
- Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2006). Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mechanisms of Ageing and Development*, *127*(5), 436-443. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.01.023>
- Yu, G., Yu, H., Yang, Q., Wang, J., Fan, H., Liu, G., Wang, L., Bello, B. K., Zhao, P., Zhang, H., & Dong, J. (2022). *Vibrio harveyi* infections induce production

of proinflammatory cytokines in murine peritoneal macrophages via activation of p38 MAPK and NF- κ B pathways, but reversed by PI3K/AKT pathways.

Developmental & Comparative Immunology, 127, 104292.

<https://doi.org/10.1016/J.DCI.2021.104292>

Yu, J., Liu, F., Yin, P., Zhao, H., Luan, W., Hou, X., Zhong, Y., Jia, D., Zan, J., Ma, W., Shu, B., & Xu, J. (2013). Involvement of oxidative stress and mitogen-activated protein kinase signaling pathways in heat stress-induced injury in the rat small intestine. *Stress*, 16(1), 99-113.

<https://doi.org/10.3109/10253890.2012.680526>

Yuan, A., & Sonis, S. (2014). Emerging therapies for the prevention and treatment of oral mucositis. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 19(3), 343-351.

<https://doi.org/10.1517/14728214.2014.946403>

Zeashan, H., Amresh, G., Singh, S., & Rao, C. V. (2009). Hepatoprotective and antioxidant activity of *Amaranthus spinosus* against CCl₄ induced toxicity.

Journal of Ethnopharmacology, 125(2), 364-366.

<https://doi.org/10.1016/J.JEP.2009.05.010>

Zhang, M., & Zhang, X. (2019). The role of PI3K/AKT/FOXO signaling in psoriasis. *Archives of Dermatological Research*, 311(2), 83-91.

<https://doi.org/10.1007/s00403-018-1879-8>

Zhang, T., Lu, S. H., Bi, Q., Liang, L., Wang, Y. F., Yang, X. X., Gu, W., & Yu, J. (2017). Volatile oil from *Amomi Fructus* attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis. *Frontiers in Pharmacology*, 8(NOV), 786.

<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2017.00786/BIBTEX>

Zhang, W.-J., & Frei, B. (2001). α -Lipoic acid inhibits TNF- α -induced NF- κ B activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells.

The FASEB Journal, 15(13), 2423-2432. [https://doi.org/10.1096/FJ.01-](https://doi.org/10.1096/FJ.01-0260COM)

0260COM

Zhao, M., Sun, J., & Zhao, Z. (2012). Distinct and Competitive Regulatory Patterns of Tumor Suppressor Genes and Oncogenes in Ovarian Cancer. *PLoS ONE*,

7(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044175>

- Zheng, L., Amano, K., Iohara, K., Ito, M., Imabayashi, K., Into, T., Matsushita, K., Nakamura, H., & Nakashima, M. (2009). Matrix metalloproteinase-3 accelerates wound healing following dental pulp injury. *The American Journal of Pathology*, *175*(5), 1905-1914.
<https://doi.org/10.2353/AJPATH.2009.080705>
- Zhou, G., Myers, R., Li, Y., Chen, Y., Shen, X., Fenyk-Melody, J., Wu, M., Ventre, J., Doebber, T., Fujii, N., Musi, N., Hirshman, M. F., Goodyear, L. J., & Moller, D. E. (2001). Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *The Journal of Clinical Investigation*, *108*(8), 1167-1174.
<https://doi.org/10.1172/JCI13505>
- Zhu, K., Liu, Q., Zhou, Y., Tao, C., Zhao, Z., Sun, J., & Xu, H. (2015). Oncogenes and tumor suppressor genes: Comparative genomics and network perspectives. *BMC Genomics*, *16*(7). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S7-S8>
- Zitka, O., Skalickova, S., Gumulec, J., Masarik, M., Adam, V., Hubalek, J., Trnkova, L., Kruseova, J., Eckschlager, T., & Kizek, R. (2012). Redox status expressed as GSH:GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncology Letters*, *4*(6), 1247-1253.
<https://doi.org/10.3892/OL.2012.931/HTML>

Ekler

Ek 1. Etik Kurul Raporu



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 17/01/2019
Toplantı No : 2019/01
Proje Başvuru No : 55

Yakın Doğu Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi'nden, Sorumlu Araştırmacı Yrd. Doç. Dr. Serkan SAYINER tarafından hazırlanan "Sıçanlarda 5-florourasil ile deneysel olarak geliştirilen gastrointestinal mukozit modelinde alfa lipoik asidin koruyucu etkisi" başlıklı araştırma önerisi Kurulumuzca etik olarak uygun bulunmuştur.







Prof. Dr. Emine KOÇ	(BAŞKAN)	
1. Prof. Dr. Tamer YILMAZ	(ÜYE)	
2. Prof. Dr. Vedat SAĞMANLIGİL	(ÜYE)	
3. Doç. Dr. Dilek ARSOY	(ÜYE)	
4. Doç. Dr. Bilgen BAŞGUT	(ÜYE)	
5. Doç. Dr. Serdar SUSEVER	(ÜYE)	
6. Yrd. Doç. Dr. Savaş Volkan GENÇ	(ÜYE)	
7. Vet. Hek. Umut SAYILI	(ÜYE)	
8. Avukat Burak NOLAN	(ÜYE)	
9. Vet. Hek. Meliha TEMİZEL	(ÜYE)	



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi :27/11 /2020
Toplantı No : 2020/11

Kurulumuz tarafından 17.01.2019 tarihli toplantıda değerlendirilip onay verilen Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nden, sorumlu araştırmacı Yard. Doç. Dr SERKAN SAYINER tarafından hazırlanan Sıçanlarda 5-florourasil ile deneysel olarak geliştirilen gastrointestinal mukozit modelinde alfa lipoik asidin koruyucu etkisi" başlıklı projelerin çalışma ekibine laboratuvar çalışmalarına iştirak etmek üzere Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Deniz CEYLANLI ve Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı Araştırma Görevlisi Hüseyin ŞAH'ın "araştırmada görev alacak personel" olarak eklenmesi kurulumuzca uygun bulunmuştur.

- | | | |
|--------------------------------|----------|--|
| 1. Prof. Dr. Emine KOÇ | (BAŞKAN) |  |
| 2. Prof. Dr. Tamer YILMAZ | (ÜYE) |  |
| 3. Prof. Dr. Vedat SAĞMANLIGİL | (ÜYE) |  |
| 4. Prof. Dr. Aysel KÜKNER | (ÜYE) |  |
| 5. Prof. Dr. Bilgen BAŞGUT | (ÜYE) | |
| 6. Doç. Dr. Dilek ARSOY | (ÜYE) | |
| 7. Dr. Gizem MORRİS | (ÜYE) |  |
| 8. Vet. Hek. Umut SAYILI | (ÜYE) | |
| 9. Avukat Burak NOLAN | (ÜYE) |  |
| 10. Vet. Hek. Meliha TEMİZEL | (ÜYE) |  |

Ek 2. İntihal Raporu

TEZ

ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

11%

INTERNET SOURCES

10%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	2%
2	www.mdpi.com Internet Source	1%
3	docs.neu.edu.tr Internet Source	1%
4	sbk2019.org Internet Source	1%
5	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Publication	1%
6	Letícia de Freitas Cuba, Fernanda Gonçalves Salum, Francisco Silveira Guimarães, Karen Cherubini et al. "Cannabidiol on 5 - FU - induced oral mucositis in mice", Oral Diseases, 2020 Publication	1%
7	hdl.handle.net Internet Source	<1%

Ek 3. Özgeçmiş

1. **Adı Soyadı** : Deniz CEYLANLI
2. **Doğum Tarihi** : 24.01.1992
3. **Ünvanı** : Araştırma Görevlisi
4. **Öğrenim Durumu** : Lisans Üstü (Doktora devam)
5. **Çalıştığı Kurum** : Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Veteriner Fakültesi	Yakın Doğu Üniversitesi	2010-2016
Doktora	Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (Şu an devam etmekte)	Yakın Doğu Üniversitesi	2016- Halen

6. Akademik Ünvanlar

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı- Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi	2016- Halen

7. Yönetilen Yüksek Lisans ve Doktora Tezleri

8. Yayınlar

8.1. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

- 1) Farraj, T., Ajam, M., Gençosman, S., Ceylanli, D., Şehirli, A.Ö., Sayiner, S. (2021). Biochemical Significance of Biomaterials Based on the Chitin-Chitosan Axis. *Acta Scientific Gastrointestinal Disorders*, 4(7): 07-14
- 2) Bilgili, G., Alpay, M., Ceylanli, D., Gençosman, S., Gültekin, Ç., Özer Şehirli, A., & Sayiner, S. (2022). Current Knowledge on Tumour Markers in Veterinary Oncology. *Acta Scientific Veterinary Sciences*, 4(2).
<https://doi.org/10.31080/asvs.2022.04.0306>
- 3) Chukwunyere, U., Şehirli, A.Ö., Sayiner, S., Ceylanlı, D., Mercan, M., Çetinel, Ş., Çalış, İ., Abacıoğlu, N. (2022). Dose-dependent effect of

Oxytocin on 5-Fluorouracil-induced Intestinal Mucositis in Rats. *Latin American Journal of Pharmacy*, 41(12): 2476-2486

- 4) Ceylanlı, D., Şehirli, A. Ö., Gençosman, S., Teralı, K., Şah, H., Gülmez, N., & Sayiner, S. (2022). Protective Effects of Alpha-Lipoic Acid against 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Mucositis in Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(10), 1930. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11101930>
- 5) Gençosman, S., Ceylanlı, D., Şehirli, A. Ö., Teralı, K., Bölükbaşı, F., Çetinel, Ş., & Sayiner, S. (2022). Investigation of the Possible Protective Effect of N-Acetylcysteine (NAC) against Irinotecan (CPT-11)-Induced Toxicity in Rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(11), 2219. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11112219>

8.2. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1. Sayiner, S., Ergene, O., Darbaz, İ., Ceylanlı, D., Gençosman, S., Aslan, S. Monitoring of changes in serum antioxidative system parameters in different gestation periods of cows. 43rd FEBS Congress, 7-12 Temmuz 2018, Prag-Çekya (FEBS Open Bio Vol. 8 (Suppl. S1) (2018) 107–496 (288) DOI: 10.1002/2211-5463.12453) (Poster Bildiri).
2. Sayiner, S., Gülmez, N., Arsoy, D., Fındık, A., Gülmez, N., Ceylanlı, D. The consequences of deep-frying palm oil consumption on blood lipids, lipidperoxidation and spermatological parameters in mice: Could kefir be protective against possible adverse effects? 2nd International Conference on "Veterinary Biochemistry and Clinical Biochemistry: Advances and Challenges and Understanding The Mechanisms of Diseases" October 24-26, 2019 Ankara / Turkey (Sözlü Bildiri).

8.3. Yazılan ulusal kitaplar veya kitaplardaki bölümler

-

8.4. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- Ender, F., Sayiner, S., Gençosman, S., Ceylanlı, D., Özkurt, G., Abacıoğlu, N., Şehirli, A.O. (2022 Accepted). Casirivimab/Imdevimab: Possible Candidate for COVID-19 Treatment in Pets: Traditional Review. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi. <http://dx.doi.org/10.5336/vetsci.2022-92555>

8.5. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

-

8.6. Diğer yayınlar

9. Projeler

10. İdari Görevler

11. Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

1. Türk Biyokimya Derneği

12. Ödüller