



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.
2021; 35 (2): 80 -86
http://www.fusabil.org

Nalan KAYA TEKTEMUR^{1, a}
Ahmet TEKTEMUR^{2, b}
Elif ERDEM GÜZEL^{3, c}

¹ Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³ Mardin Artuklu
Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Ebelik Bölümü,
Mardin, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-8880-4932

^b ORCID: 0000-0002-2476-0413

^c ORCID: 0000-0002-2097-7818

Geliş Tarihi : 10.02.2021
Kabul Tarihi : 20.03.2021

Yazışma Adresi Correspondence

Nalan KAYA TEKTEMUR
Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

nalankaya@firat.edu.tr

Doksorubisin ile İndüklenmiş Karaciğer Hasarında Hesperetin'in Terapötik Etkileri: DRP1 ve MFN2'nin Rolü

Amaç: Kemoterapötikler içerisinde yaygın bir kullanıma sahip olan Doksorubisin (DOX)'in birçok organ üzerine olan toksik etkisinin ana nedeni reaktif oksijen türleri (ROT) ve oksidatif strestir. Bu nedenle çalışmamızda güçlü bir antioksidan olan hesperetin (HST) kullanımının DOX kaynaklı hepatotoksisite üzerindeki terapötik etkilerinde mitokondri ve oksidatif stres ile ilişkili oldukları bilinen Dynamin 1 Like (DRP1) ve Mitofusin 2 (MFN2)'nin olası rollerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada kullanılan 28 adet Sprague-Dawley erkek sıçanlar Kontrol, DOX, DOX+HST ve HST olmak üzere 4 gruba ayrıldı (n=7). DOX uygulaması intraperitoneal olarak 15 mg/kg tek doz yapıldı. HST uygulaması, 28 gün boyunca gün aşırı 50 mg/kg dozda oral gavaj yoluyla gerçekleştirildi. Deney sonunda dekapite edilen sıçanların serum örneklerinde total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS)'leri belirlendi. Karaciğer dokularında histopatolojik değerlendirmeler için hematoksilin-eozin (H&E) boyaması yapıldı. Ayrıca DRP1 ve MFN2 immünreaktivite için avidin-biodinperoksidaz yöntemi uygulandı. DRP1 ve MFN2 mRNA düzeylerinin tespiti için kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu kullanıldı.

Bulgular: Kontrol grubuna kıyasla DOX grubunda TAS'lerinin azaldığı, TOS'lerinin arttığı, histopatolojik bulguların arttığı, DRP1 ekspresyon düzeylerinin arttığı ve MFN2 ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlendi (P<0.05). Buna karşın, DOX grubuna kıyasla DOX+HST grubunda ise TAS'lerinin arttığı, TOS'lerinin azaldığı, histopatolojik bulguların azaldığı, DRP1 ekspresyon düzeylerinin azaldığı ve MFN2 ekspresyon düzeylerinin arttığı saptandı (P<0.05).

Sonuç: Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar, HST'nin DOX ile indüklenen hepatotoksisite üzerindeki terapötik etkilerinde DRP1 ve MFN2'nin rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, hesperetin, karaciğer, DRP1, MFN2

Therapeutic Effects of Hesperetin in Doxorubicin-Induced Liver Injury: The Role of DRP1 and MFN2

Objective: The main reason of the Doxorubicin (DOX) toxicity, which is widely used among chemotherapeutics, on many organs is the increased reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress. Therefore, our study aimed to evaluate the possible roles of Dynamin 1 Like (DRP1) and Mitofusin 2 (MFN2), which are associated with mitochondria and oxidative stress, in the therapeutic effects of hesperetin (HST), a powerful antioxidant, on DOX-induced hepatotoxicity.

Materials and Methods: 28 Sprague-Dawley male rats were divided into 4 groups: Control, DOX, DOX+HST, and HST (n=7). DOX was administered intraperitoneally as a single dose of 15 mg/kg. HST was performed by oral gavage at a dose of 50 mg/kg every other day for 28 days. Total antioxidant level (TAS) and total oxidant level (TOS) were determined in serum samples of decapitated rats. Hematoxylin-eosin staining was performed for histopathological evaluations in liver tissues. The avidin-biotin-peroxidase method was used for DRP1 and MFN2 immunoreactivities. The qPCR was used to determine the DRP1 and MFN2 mRNA levels.

Results: Compared to the control group, it was determined that TAS level decreased, TOS level increased, histopathological findings increased, DRP1 expression level increased and MFN2 expression level decreased in the DOX group (P<0.05). Besides, in the DOX+HST group, it was found that TAS level increased, TOS level decreased, histopathological findings decreased, DRP1 expression level decreased and MFN2 expression level increased compared to the DOX group (P<0.05).

Conclusion: These results suggest that DRP1 and MFN2 may play a role in the therapeutic effects of HST on DOX-induced hepatotoxicity.

Key Words: Doxorubicin, hesperetin, liver, DRP1, MFN2

Giriş

Doksorubisin (DOX) farklı kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır (1). Ancak pek çok organ üzerindeki doz-bağımlı toksisite riski ilacın klinik kullanımını sınırlandırmaktadır (2). İlaç detoksifikasyonundan esas sorumlu organ olan karaciğer, DOX kullanımına oldukça duyarlıdır. DOX kaynaklı toksisite olgularının yaklaşık yarısında hepatotoksisite bildirilmektedir (3, 4). DOX kaynaklı toksisitenin altında yatan başlıca sebep serbest radikal birikimi ve buna bağlı ortaya çıkan oksidatif stres olduğu düşünülmektedir (5).

Son yıllarda kanser vakalarındaki önlemez artışa bağlı olarak DOX gibi güçlü kemoterapötik ilaçların toksik etkilerini önleyebilecek bileşiklerin keşfedilmesine yönelik çalışmalar artmıştır (6). Yüksek oranda oksidatif stres ile ilişkilendirilen DOX kaynaklı hepatoksisiteye karşı anti-oksidanlarla müdahale, DOX'un neden olduğu hasarın azaltılmasına yardımcı olabilir (7). Flavonoidlerin bir türü olan hesperetin (HST) (5,7,3'-trihidroksi-4-metoksil flavanon), güçlü bir radikal temizleyicidir (8). Çeşitli kemoterapötiklerin neden olduğu toksisitelere karşı HST'nin önleyici ve/veya iyileştirici etkileri bildirilmiştir (9). Ayrıca, HST'nin sıçanlarda DOX kullanımı nedeniyle bozulan oksidatif stres parametrelerini ve karaciğer enzim düzeylerini iyileştirdiği ortaya konulmuştur (10).

Mitokondriler enerji üretimi için kritik hücrel organeller olmanın yanı sıra hücrel sinyalizasyonda önemli roller oynarlar. Ayrıca, hepatositlerde yüksek oranda bulunmaları, onları ilaca bağlı hepatotoksisite için önemli hedefler haline getirir (11). DOX aracılı artan ROT seviyeleri, mitokondriyal dinamiklerde değişikliklere yol açar (12). Dahası, yapılan çalışmalar DOX'un mitokondriyal fonksiyon için hayati öneme sahip olan mitokondriyal füzyon ve fisyon arasındaki dinamik dengeyi bozduğunu göstermektedir (13). Mitokondriler için bir içsel kalite kontrol sistemi olan bu füzyon-fisyon dengesinin düzenlenmesinde Dynamine 1 Like (DRP1) ve Mitofusin 2 (MFN2) gibi mitokondri ile ilişkili genlerin rol aldığı bilinmektedir. Bunun yanı sıra, ROT üretimindeki artışın mitokondriyal gen ifadelerine zarar vererek mitokondriyal disfonksiyonu tetiklediği ve apoptoz ve/veya nekroz gibi ciddi olumsuz süreçlere neden olabileceği bildirilmiştir (14).

DOX kaynaklı hepatotoksisitede terapötik amaçlı hesperetin kullanımının DRP1 ve MFN2 gen ifadelerini nasıl etkilediği bilinmemektedir. Çalışmamızda, hesperetin sıçan karaciğerinde doksorubisin ile indüklenen toksik etkilere karşı iyileştirici etkilerinin DRP1 ve MFN2 ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmış (31.01.2018-2018/02-23) olan bu çalışmanın araştırma bütçesi Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından karşılanmıştır (Proje no: MAU.BAP.18.SYO.010).

Çalışmada 8-10 haftalık toplam 28 adet Sprague-Dawley erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinde suya ve standart kemirgen yemine serbest erişim olacak şekilde 22-25 °C'de 12 saat/12 saat karanlık/ışık rejimi altında tutuldu. Tüm sıçanlar aşağıdaki gibi rastgele 4 gruba ayrıldı (n=7): Grup 1: Kontrol; Grup 2: DOX; Grup 3: DOX+HST; Grup 4: HST. DOX uygulaması intraperitoneal olarak 15 mg/kg tek doz yapıldı. HST uygulaması, 28 gün boyunca gün aşırı 50 mg/kg'lık bir dozda (serum fizyolojikte çözdürülmüş) oral gavaj yoluyla gerçekleştirildi. Tüm uygulamalar deneyin ilk gününde başlatıldı. DOX ve HST uygulamalarının dozajı ve süresi önceki araştırmalara dayanmaktadır (15, 16).

Deneyin sonunda, tüm sıçanlar ksilazin/ketamin anestezisi altında dekapite edildi. Öte yandan, her bir hayvana ait karaciğer doku örneklerinden bir kısmı histopatolojik değerlendirmeler için %10 formalin içinde fikse edilirken, bir diğer kısmı sıvı nitrojen içinde dondurularak moleküler analizler için -80 °C'de saklandı. Kan örneklerinden elde edilen serumlar biyokimyasal analizler için -20°C'de muhafaza edildi.

Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Total Oksidan Seviye (TOS) Ölçümleri: Sıçan serum örneklerinde total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS)'lerinin belirlenmesi için enzim bağımlı immünosorbent testi (ELISA) uygulandı. Sıçanlara özgü TAS (YLA1389RA, YL Biont, Çin) ve TOS (YLA1372RA, YL Biont, China) ELISA kitleri kullanıldı. Analizler, kit içerisinde yer alan protokole uyularak gerçekleştirildi ve ölçümler spektrofotometre cihazı (Multiskan FC, Thermo Scientific) kullanılarak yapıldı.

Histolojik Analizler: 72 saat süreyle %10 formalin içinde fikse edilmiş sıçan karaciğer dokuları dehidre edildi, şeffaflaştırıldı ve parafine gömüldü. Daha sonra doku kesitleri rodajlı ve polilizinli lamlara alındı ve rodajlı lamlara alınan kesitler hematoksilin ve eozin (H&E) ile boyandı. Boyanmış karaciğer kesitlerini incelemek için ışık mikroskobu kullanıldı. Farklı grupların karaciğer kesitlerinde histopatolojik farklılıklar değerlendirildi. Öte yandan, DRP1 ve MFN2 immünoreaktiviteyi tespit etmek için immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanıldı (17). Bu analiz için DRP1 (Kat. No. ab184247, abcam) ve MFN2 (Kat. No. Y1D-3452 YLBiont, Shangai, China) primer antikoları kullanıldı.

Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR): DRP1 ve MFN2 mRNA düzeylerindeki değişiklikleri değerlendirmek için öncelikle Trizol reaktifi (MG-TRZ-01, Hibrigen, TÜRKİYE) kullanılarak sıçan karaciğer örneklerinden total RNA izole edildi ve elde edilen RNA örnekleri spektrofotometre ile miktar ve saflık açısından analiz edildi (BioSpec-nano, Shimadzu). Elde edilen RNA örnekleri OneScript cDNA sentez kiti (abm, Kanada) kullanılarak önerilen protokole göre komplementer DNA'ya (cDNA) dönüştürüldü. Son olarak, Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qPCR) ABI 7500 Real-Time PCR cihazında (Applied Biosystems, Singapur) 2X Magic SYBR Mix (Procomcure, Avusturya) kullanılarak gerçekleştirildi. DRP1 ve MFN2 mRNA ekspresyon seviyelerini analiz etmek için referans gen olarak Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) kullanıldı (Tablo 1). mRNA ifadeleri arasındaki farklılıkların hesaplanması $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi ile gerçekleştirildi. qRT-PZR verilerinin analizi için "çevrimiçi Qiagen Gene Globe PCR veri analizi" yöntemi kullanıldı.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen veriler ortalaması±standart sapma olarak sunuldu. Diğer verilerin analizinde ise IBM SPSS 22.0 paket programında "One-way ANOVA ve post hoc Tukey" testi kullanıldı. P<0.05 değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. Kantitatif gerçek zamanlı PZR analizinde kullanılan primer dizileri

Gen Adı	Sembol		Primer Dizisi (5'-3')
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*	GAPDH	F	GACCCCTTCATTGACCTCAAC
		R	CGCTCCTGGAAGATGGTGATGGG
dynamin 1-like	DRP1 (DNM1L)	F	TGGAAAGAGCTCAGTGCTGG
		R	ACTCCATTTTCTTCTCCTGTTGT
Mitofusin 2	MFN2	F	TCAAGCGCCAGTTTGTGGAG
		R	CACAGATGAGCAAATGTCCCAGA

*mRNA ifade düzeylerinin tespiti için referans gen olarak kullanıldı.

F: Forward (İleri) primer

R: Reverse (Geri) primer

Bulgular

Serum TAS ve TOS Düzeyleri: DOX uygulamasının kontrole kıyasla serum TAS düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü ($P<0.001$), buna karşın TOS düzeylerini arttırdığı ($P<0.001$) belirlendi. DOX uygulaması sonrası HST ile tedavi yapılan grupta ise yalnızca DOX uygulanan grup ile karşılaştırıldığında serum TOS düzeylerinin azaldığı ($P<0.001$) (Şekil 1A), serum TAS düzeylerinin ise arttığı ($P<0.001$) (Şekil 1B) tespit edildi.

Histopatolojik Değişiklikler: Kontrol ve HST gruplarındaki sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer kesitlerinde v.sentralis, portal alanlar, hepatositler, sinüzoidler ve Kupffer hücreleri normal histolojik görünümdeydi (Şekil 2 A,D). DOX grubuna ait karaciğer dokuları incelendiğinde; sinüzoidlerde dilatasyon ve konjesyon, hepatositlerde dejeneratif değişiklikler ve özellikle portal alanlarda daha yaygın olan inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 2B). DOX+HST grubuna ait karaciğer dokularında ise sinusoidal dilatasyonun devam ettiği ancak konjesyonun önemli ölçüde azaldığı, hepatositlerin normale yakın görünümü sergilediği, hücre infiltrasyonunun belirgin bir şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 2C).

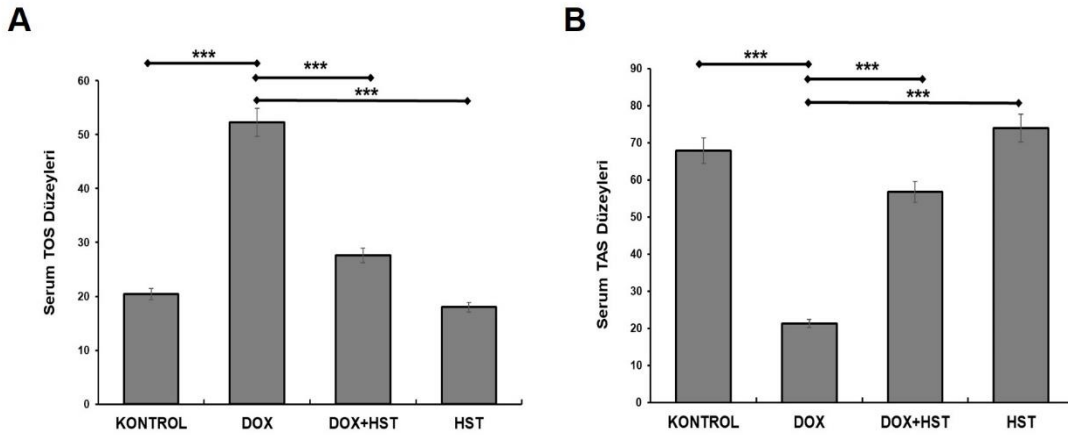
Karaciğer DRP1 ve MFN2 İmmünreaktiviteleri:

Polilizinli lamlara alınan karaciğer kesitlerine yapılan immünohistokimyasal boyanmanın sonucunda hepatositlerde hem DRP1 hem de MFN2 immünreaktiviteleri tespit edildi. Karaciğer dokusunda DRP1 immünreaktivitesi; Kontrol grubuyla kıyaslandığında, DOX+HST ve HST gruplarında benzerdi (sırasıyla $P=0.334$ ve $P=0.947$). Ancak DOX grubunda Kontrol grubuna kıyasla DRP1 immünreaktivitesinin istatistiksel olarak önemli düzeyde artmış olduğu tespit edildi ($P=0.006$).

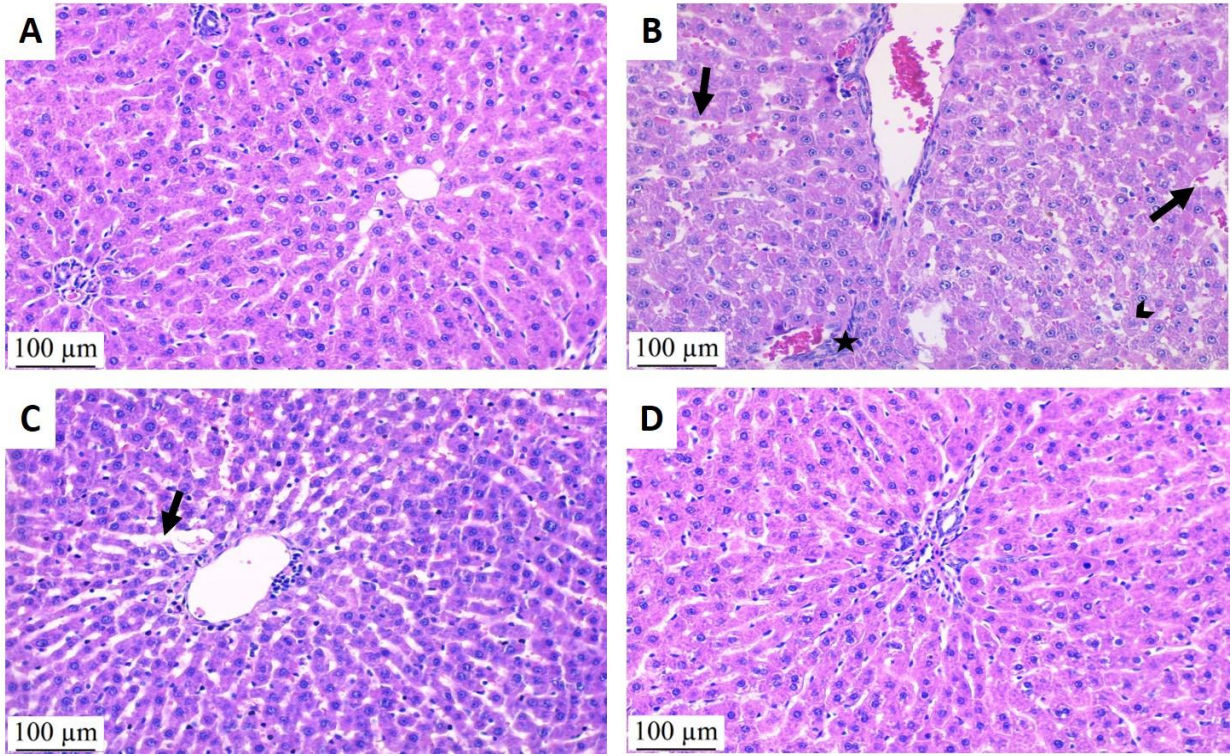
MFN2 immünreaktivitesi açısından kontrol ve HST grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmezken ($P=0.502$); DOX grubunda azalmış MFN2 immünreaktivitesi dikkat çekmekteydi ($P=0.004$). DOX+HST grubunda ise DOX grubuna kıyasla artmış ($P=0.015$), ancak kontrole kıyasla azalmış MFN2 immünreaktivitesi izlendi ($P=0.034$) (Şekil 3, 4).

Karaciğer DRP1 ve MFN2 mRNA Düzeyleri:

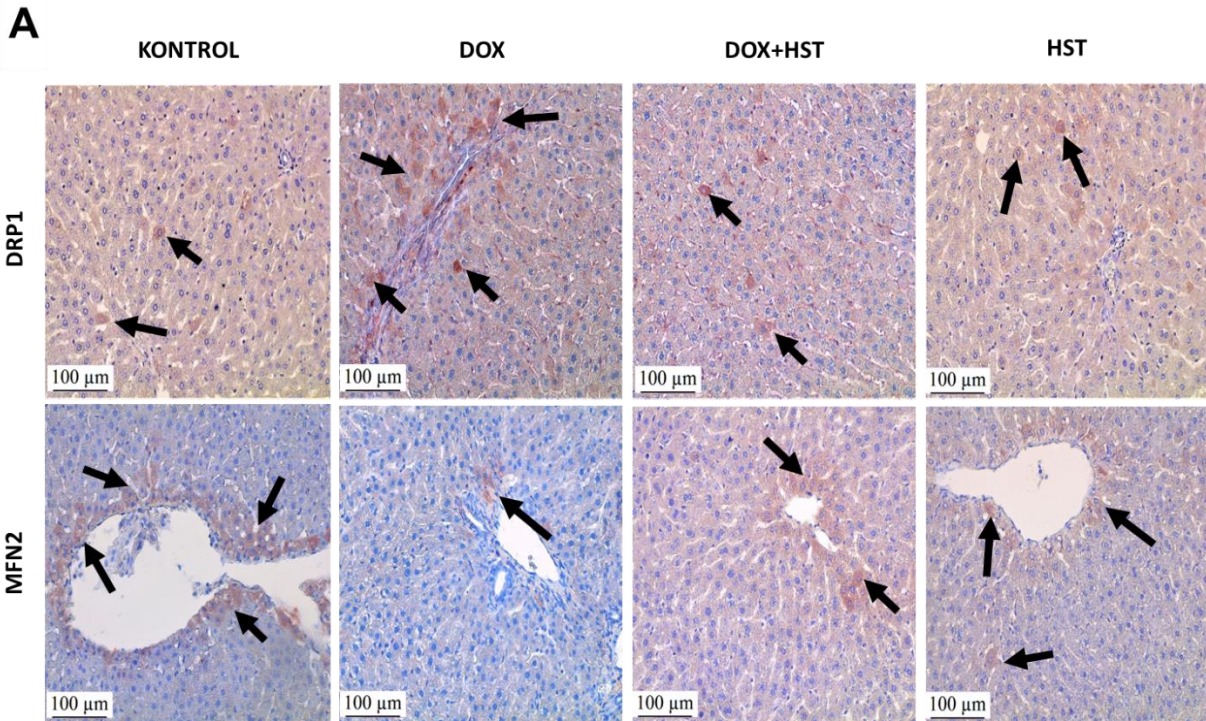
DRP1 ve MFN2 mRNA düzeylerindeki değişiklikleri değerlendirmek için yapılan qRT-PZR analizi sonucunda kontrol ile karşılaştırıldığında DOX uygulamasının DRP1 mRNA ekspresyon düzeylerini kontrole kıyasla arttırdığı ($P<0.001$) ve MFN2 mRNA ekspresyon düzeylerini azalttığı tespit edildi ($P<0.001$). Buna karşı DOX+HST grubunda DOX grubuna kıyasla DRP1 mRNA ekspresyon düzeylerinin azaldığı ($P<0.001$), MFN2 mRNA ekspresyon düzeylerinin ise arttığı belirlendi ($P<0.001$) (Şekil 5).



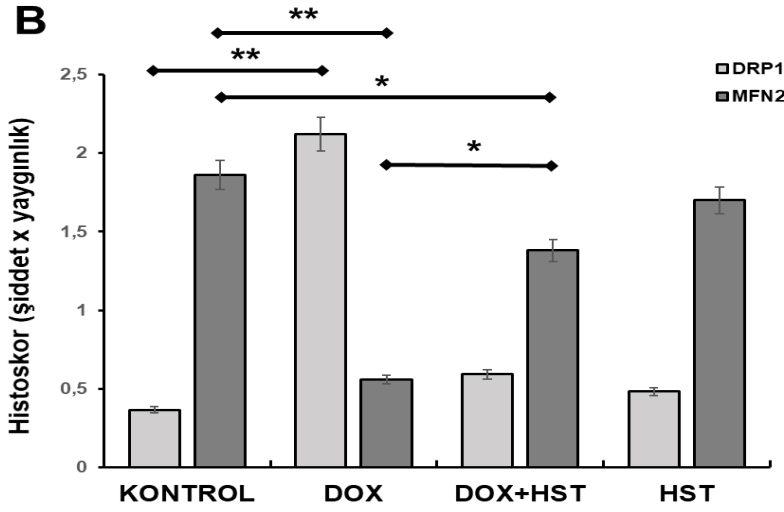
Şekil 1. DOX ve/veya HST tedavisinin serum TOS ve TAS düzeylerine etkisi. **A.** Serum TOS seviyeleri, **B.** Serum TAS seviyeleri. * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.



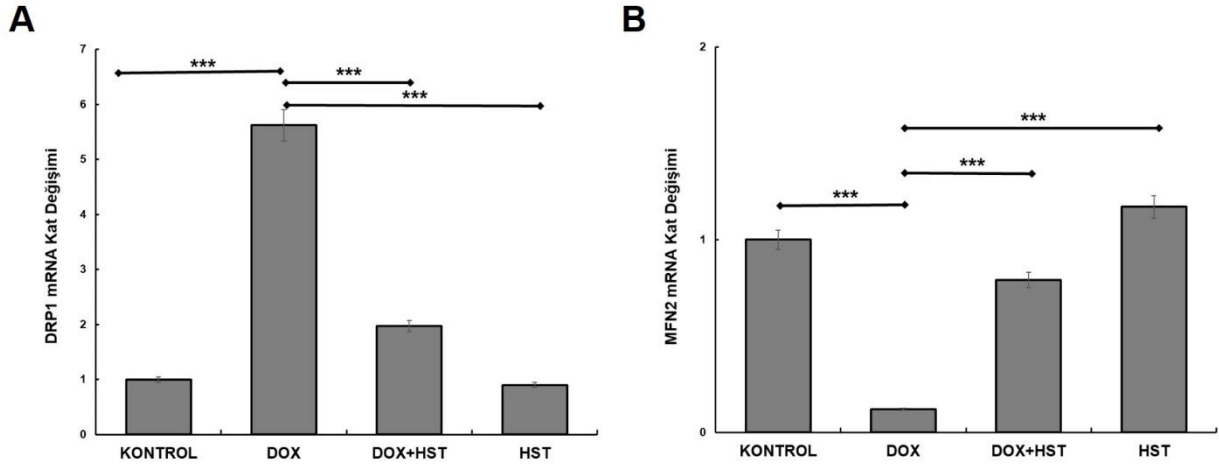
Şekil 2. Karaciğer histopatolojisi (H&E). **A.** Kontrol (x20). **B.** DOX (x20). **C.** DOX+HST (x20). **D.** HST (x20). Sinuzoidlerde dilatasyon ve konjesyon (siyah ok), hepatositlerde dejeneratif değişiklikler (ok başı) ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız) gibi histopatolojik değişiklikler işaretlenmiştir.



Şekil 3. Karaciğer dokusunda DRP1 ve MFN2 immünreaktivitesi. DRP1 ve MFN2'e ait immünohistokimyasal boyamalar. Kırmızı/kahverengi sitoplazmik boyanma immünpozitif hücreleri göstermektedir. Preparatlara Harris hematoksilen ile zıt boyama yapılmıştır (x20).



Şekil 4. Karaciğer dokusunda DRP1 ve MFN2 immünreaktivitesine ait histoskor. * P≤0.05, ** P≤0.01, *** P≤0.001.



Şekil 5. Karaciğer dokusunda DRP1 ve MFN2 mRNA düzeylerindeki değişiklikler. **A.** DRP1 mRNA seviyeleri, **B.** MFN2 mRNA seviyeleri. * P≤0.05, ** P≤0.01, *** P≤0.001.

Tartışma

Karaciğer ilaç toksisitesine karşı oldukça duyarlı bir organ olup, DOX kaynaklı hepatotoksisite hakkında literatürde çok sayıda rapor mevcuttur (7, 18). Hepatositlerin hücre zarları, DOX kaynaklı serbest radikal hasarına karşı savunmasızdır. DOX kaynaklı oksidatif stres DNA, RNA ve protein sentezini bozar. Bu durum, hepatik enzim düzeylerini etkiler ve hepatositlerin nekrozuna veya apoptozuna yol açar (19).

Ayrıca DOX aracılı artan ROT seviyeleri, mitokondriyal disfonksiyona neden olur. Son yıllarda, DOX kaynaklı hepatotoksisitede önemli rol oynayabilecek alternatif mekanizmaları tespit etmek için yapılan araştırmalar daha çok mitokondriyal füzyon ve fisyon proteinlerine odaklanmıştır. Bunun yanı sıra antioksidan takviyelerinin, klinik çalışmalarda, DOX

kaynaklı toksisiteye karşı koruma gösterdiği bildirilmiştir (20).

Antrasiklinlerin, hücre hasarına yol açacak şekilde hücrelerin makromolekülleri ile etkileşime giren reaktif oksijen türleri oluşturmak için moleküler oksijen ile reaksiyona giren semikinin radikal ara ürünü oluşturduğu bilinmektedir (21). DOX uygulanan sıçanların karaciğerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler; doksorubisinden oluşan reaktif ara ürünün (doksorubisin semikinin) neden olduğu artan oksidatif strese bağlı olabilir. DOX ile birlikte HST uygulanmasının bu histopatolojik değişiklikleri azaltmasının ve karaciğerdeki hasarı büyük oranda iyileştirmesinin, HST'nin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmada DOX tedavisinin serum TAS düzeylerinde belirgin bir azalmaya, TOS düzeylerinde

ise artışa neden olduğu belirlendi. DOX ile birlikte HST uygulanmış sıçanlar ise TAS düzeylerinde artış, TOS düzeylerinde ise azalma gösterdi. Bu durum DOX ile karaciğer dokusunda oksidatif hasarın oluştuğunu göstermekte ve karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikleri de desteklemektedir.

Mitokondrinin işlev bozukluğunun ATP üretiminde azalmaya, hücrel işlevlerde ve yapıda değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (22). DOX'un genel toksisitesi, ROT'un aşırı üretimi ve oksidatif stresle sıkı bir şekilde ilişkili olan mitokondrinin işlevselliğindeki bozukluklarla (23) ilişkili görünmektedir (24). Bu nedenle, mitokondriyal disfonksiyonun ortadan kaldırılması, DOX uygulanan sıçan modellerinde karaciğer hasarını iyileştirme potansiyeline sahiptir. Bhargava ve ark. (22) DRP1 inhibisyonunun mitokondriyal fisyonu bloke ederek iskemik böbrek hasarını iyileştirebileceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada DRP1 aracılı mitokondriyal fisyonun, DOX kardiyotoksitesinin başlatılmasında rol oynadığı gösterilmiştir (25). Ayrıca Dai ve ark. (26), DRP1 aşırı ekspresyonunun ROT oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmada da yukarıdaki verilerle uyumlu şekilde DOX uygulamasıyla aşırı artan, HST tedavisi ile

normal seviyelere düşen DRP1'in DOX'un neden olduğu karaciğer hasarında rol oynadığı düşünülebilir. Buna karşın MFN2, mitokondri füzyonunda önemli bir rol oynar ve mitokondriyal fonksiyon için kritiktir. Artan kanıtlar, MFN2 ekspresyonundaki artışa bağlı mitokondriyal füzyonun mitokondriyal işlevi optimize etmeye hizmet ettiğini göstermektedir. Örneğin, MFN2 baskılanması mitokondrinin parçalanmasına yol açarken, MFN2'nin indüksiyonu ROT seviyelerini düşürür ve ATP seviyelerini düzenler (27). DOX kaynaklı hepatoksisitede artan DRP1 ve azalan MFN2 düzeyleri bu hasarın mekanizmasında mitokondriyal fisyon-füzyon dengesinin bozulmasının gerçekleştiğini kanıtlar niteliktedir.

Literatürde DOX ile indüklenmiş karaciğer hasarına karşı güçlü bir antioksidan olan HST'nin etkilerinin ve bu etkide mitokondriyal füzyon-fisyon dengesinin düzenlenmesinde oldukça önemli olan DRP1 ve MFN2'nin rolünün araştırıldığı çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın ana sonucu, HST'nin DOX kaynaklı oksidatif stresi inhibe edebildiğidir. Ayrıca HST, karaciğerde DOX ile indüklenen histopatolojik değişiklikleri iyileştirir. Öte yandan, DRP1 ve MFN2'nin bu etkilere aracılık ettiği düşünülebilir.

Kaynaklar

1. Sonmez MF, Cilenk KT, Karabulut D, et al. Protective effects of propolis on methotrexate-induced testis injury in rat. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2016; 79: 44-51.
2. Ayla S, Seckin I, Tanriverdi G, et al. Doxorubicin induced nephrotoxicity: Protective effect of nicotinamide. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 1-9.
3. Damodar G, Smitha T, Gopinath S, Vijayakumar S, Rao YA. An evaluation of hepatotoxicity in breast cancer patients receiving injection doxorubicin. *Ann Med Health Sci Res* 2014; 4: 74-79.
4. Ibrahim HG, Attia N, Hashem FZA, Heneidy MAR. Cerium oxide nanoparticles: In pursuit of liver protection against doxorubicin-induced injury in rats. *Biomed Pharm* 2018; 103: 773-781.
5. Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, et al. Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2007; 38: 380-385.
6. Ludke AR, Al-Shudiefat AA, Dhingra S, Jassal DS, Singal PK. A concise description of cardioprotective strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87: 756-763.
7. Wali AF, Rashid S, Rashid SM, et al. Naringenin regulates DOXorubicin-induced liver dysfunction: impact on oxidative stress and inflammation. *Plants* 2020; 9: 550.
8. Pollard SE, Whiteman M, Spencer JP. Modulation of peroxynitrite-induced fibroblast injury by hesperetin: A role for intracellular scavenging and modulation of ERK signalling. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 347: 916-923.
9. Iranshahi M, Rezaee R, Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F. Protective effects of flavonoids against microbes and toxins: The cases of hesperidin and hesperetin. *Life Sci* 2015; 137: 125-132.
10. Hozayen WG, Abou Seif HS, Amin S. Protective effects of ruitn and/or hesperidin against DOXorubicin-induced hepatotoxicity. *Int J Clin Nutr* 2014; 2: 11-17.
11. Ramachandran A, Visschers RG, Duan L, Akakpo JY, Jaeschke H. Mitochondrial dysfunction as a mechanism of drug-induced hepatotoxicity: Current understanding and future perspectives. *J Clin Transl Res* 2018; 4: 75.
12. Yeh Y, Liu TJ, Wang LC, et al. A standardized extract of Ginkgo biloba suppresses DOXorubicin-induced oxidative stress and p53-mediated mitochondrial apoptosis in rat testes. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 48-61.
13. Marechal X, Montaigne, Marciniak C, et al. Doxorubicin-induced cardiac dysfunction is attenuated by ciclosporin treatment in mice through improvements in mitochondrial bioenergetics. *Clin Sci* 2011; 121: 405-413.
14. Ikeda Y, Shirakabe A, Maejima Y, et al. Endogenous DRP1 mediates mitochondrial autophagy and protects the heart against energy stress. *Circ Res* 2015; 116: 264-278.
15. Lee KM, Lee IC, Kim SH, et al. Melatonin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. *Andrologia* 2012; 44: 796-803.
16. Trivedi PP, Tripathi DN, Jena GB. Hesperetin protects testicular toxicity of DOXorubicin in rat: role of NFκB, p38 and caspase-3. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 838-847.
17. Tektemur A, Ozaydin S, Onalan EE, et al. TRPM2 mediates disruption of autophagy machinery and correlates with the grade level in prostate cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019; 145: 1297-1311.
18. Kuzu M, Yıldırım S, Kandemir FM, et al. Protective effect of morin on doxorubicin-induced hepatorenal toxicity in rats. *Chem Biol Interact* 2019; 308: 89-100.
19. Hajra S, Patra AR, Basu A, Bhattacharya S. Prevention of doxorubicin (DOX)-induced genotoxicity and cardiotoxicity: Effect of plant derived small molecule indole-3-carbinol

- (I3C) on oxidative stress and inflammation. *Biomed Pharm* 2018; 101: 228-243.
20. Dirks-Naylor AJ, Kouzi S, Bero JD, et al. Doxorubicin alters the mitochondrial dynamics machinery and mitophagy in the liver of treated animals. *Fundam Clin Pharmacol* 2014; 28: 633-642.
 21. De Beer EL, Bottone AE, Voest EE. Doxorubicin and mechanical performance of cardiac trabeculae after acute and chronic treatment: A review. *Eur J Pharmacol* 2001; 415: 1–11.
 22. Bhargava P, Schnellmann RG. Mitochondrial energetics in the kidney. *Nat Rev Nephrol* 2017; 13: 629.
 23. Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Oliveira PJ, et al. The beneficial role of exercise in mitigating doxorubicin-induced mitochondrionopathy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2018; 1869: 189-199.
 24. Rato L, Alves MG, Cavaco JE, Oliveira PF. High-energy diets: a threat for male fertility? *Obes Rev* 2014; 15: 996-1007.
 25. Wang JX, Zhang XJ, Feng CSTK, et al. MicroRNA-532-3p regulates mitochondrial fission through targeting apoptosis repressor with caspase recruitment domain in DOXorubicin cardiotoxicity. *Cell Death Dis* 2015; 6: 1677.
 26. Dai CQ, Guo Y, Chu XY. Neuropathic Pain: The Dysfunction of DRP1, Mitochondria, and ROS Homeostasis. *Neurotox Res* 2020; 1-11.
 27. Chen Y, Lv L, Jiang Z, Yang H, Li S, Jiang Y. Mitofusin 2 protects hepatocyte mitochondrial function from damage induced by GCDCA. *PLoS One* 2013; 8: 654-655.