



Araştırma Makalesi / Research Article

Journal of Medical Topics & Updates (Journal of MTU)

Doi: 10.58651/jomtu.1347208

Ratlarda siklofosfamid kaynaklı kardiyotoksosite üzerine timokinonun etkileri

Effects of thymoquinone on cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats

Elif Merve Betül YANILMAZ¹ Gülsün MEMİ² Ebru ANNAÇ³ Mehmet Salih KAYA⁴

¹ Adıyaman Üniversitesi, Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi, Adıyaman, Türkiye.

² Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye.

³ Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye.

⁴ Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

ÖZET

Amaç: Antineoplastik kemoterapide kullanılan bir ajan olan siklofosfamidin (CP) birçok doku üzerinde toksik etkisi bulunmaktadır. Bu çalışmada siklofosfamidin oluşturduğu kardiyotoksositeye karşı çörek otu uçucu yağının baskın bileşeni olan Timokinonun (TQ) koruyucu etkileri araştırıldı.

Materyal ve Metot: Bu amaçla 32 adet 8 haftalık erkek Sprague Dawley sıçan 4 eşit gruba ayrıldı (n=8). Kontrol, TQ (10 mg/kg/gün, oral gavaj), CP (50 mg/kg, i.p., 1, 8, 15 ve 22. günlerde) ve TQ+CP (TQ 10 mg/kg/gün, oral gavaj ve CP 50 mg/kg, i.p., 1, 8, 15 ve 22. günlerde). Dört haftalık uygulamaların ardından kalp dokusunda histopatolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Bulgular: Kalp dokusunda CP'nin malondialdehit (MDA) seviyelerinde belirgin artışlara sebep olduğu (p<0.001), TQ ilavesinin siklofosfamidin sebep olduğu MDA seviyesindeki artışı azaltarak normal seviyelere getirdiği görüldü. Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson trikrom boyama ve Toluidin Blue boyama yöntemi ile boyanan histolojik preparatlarda kalp dokusunda gruplar arasında histopatolojik değişiklikler tespit edildi. TQ takviyesinin, CP'nin sebep olduğu biyokimyasal ve histolojik değişiklikleri olumlu yönde etkilediği saptandı.

Sonuç: Bu çalışmada TQ'nun CP kaynaklı oksidatif hasarı azaltarak kardiyotoksositeye karşı koruyucu bir etki gösterdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Siklofosfamid, Timokinon, Malondialdehid, Kardiyotoksosite

ABSTRACT

Background: Cyclophosphamide (CP), an agent used in antineoplastic chemotherapy, has toxic effects on many tissues. In this study, the protective effects of thymoquinone (TQ), the dominant component of black cumin essential oil, against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity were investigated.

Materials and Methods: Thirty-two 8-week-old male Sprague Dawley rats were divided into 4 groups (n=8); control, TQ (10 mg/kg/day, oral gavage), CP (50 mg/kg, i.p., on days 1, 8, 15 and 22), and TQ+CP (TQ 10 mg/kg/day, oral gavage and CP 50 mg/kg, i.p. on days 1, 8, 15 and 22). After four weeks of applications, histopathological and biochemical analyzes were performed on heart tissues.

Results: It was observed that CP caused a significant increase in malondialdehyde (MDA) levels in heart tissues (p<0.001), and the addition of TQ reduced the CP-induced increase in MDA levels to normal levels. Histological preparations stained with hematoxylin and eosin (H&E), Masson's trichrome and Toluidine Blue revealed histopathological changes in heart tissues between groups. TQ supplementation was found to have a positive effect on the biochemical and histological changes induced by CP.

Conclusions: In this study, TQ was found to have a protective effect against cardiotoxicity by reducing CP-induced oxidative damage.

Keywords: Cyclophosphamide, Thymoquinone, Malondialdehyde, Cardiotoxicity

Geliş Tarihi / Received: 21.08.2023, Kabul Tarihi / Accepted: 03.10.2023

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Elif Merve Betül YANILMAZ, Adıyaman Üniversitesi, Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezi, Adıyaman, Türkiye. e-mail: elifmerveyanilmaz@gmail.com

GİRİŞ

Neoplastik hastalıkların kontrol altına alınması, gelişiminin durdurulması ve tedavi edilmesi için kemoterapötik ajanlar kullanılmaktadır. Kemoterapi tedavisinde temel amaç, sitotoksik etkiler yoluyla neoplastik hastalığın büyümesini, metastazını engellemek ve tamamen yok edilmesini sağlamaktır. Sitotoksik ajanların normal dokular üzerindeki toksik etkileri ise en temel problemdir (Ray et al., 2010).

Siklofosfamid (CP) 60 yıldan fazla süredir kemoterapide tek başına ya da çeşitli ilaçlarla kombine olarak geniş kullanım alanı bulmaktadır. Akut ve kronik lösemi, lenfoma, meme kanseri, miyelomaların tedavisinde, ayrıca organ transplantasyonlarında ve otoimmün hastalıkların tedavisinde immünsupresyonu sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır (Kumar et al., 2005 Fraiser et al., 1991; Perini et al., 2008). Siklofosfamidin terapötik ve toksik olarak etkinliği karaciğerde ve çok az diğer dokularda metabolize olmasına bağlıdır. Genel olarak aktif metabolitlerden olan fosforamid mustard (PAM) terapötik etkilerinden, akrolein (ACR) ise toksik etkilerinden sorumludur (Fraiser et al., 1991). PAM'ın DNA'ya bağlanıp hücre bölünmesini baskılayarak immünsupresyon ve antitümör etkiler oluşturduğu düşünülmektedir. ACR ise dokuların antioksidan savunma sistemleri ile etkileşerek oksidatif strese sebep olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin (SOR) birikmesi; DNA hasarına, protein denatürasyonuna ve hücre zarlarında lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır. Kemoterapinin ciddi bir komplikasyonu kısa ve uzun vadede kardiyovasküler sistemde oluşan toksisitedir. Özellikle yüksek dozlarda (120-200 mg/kg) CP kullanılması sonrası kardiyak belirtiler rapor edilmiştir. En yaygın kardiyak semptomlar; ritim bozukluğu, EKG değişiklikleri, hemorajik miyoperikardiyum, perikardiyal efüzyon ve akut oluşan ventrikül disfonksiyonudur (Çetik et al., 2014). Siklofosfamidin geçici antidiüretik etkisi de kardiyopulmoner yetmezliğe katkıda bulunabilir (Fraiser et al., 1991). CP tedavisi alan hastalarda ACR'nin toksik yan etkilerinden kaçınabilmek için antioksidanlar kullanılması terapötik bir alternatif olabilmektedir (Ayhancı et al., 2008).

Çörek otu olarak da bilinen *Nigella sativa* L. (NS), Akdeniz bölgesinde yetişen, Ranunculaceae ailesine ait otsu bir bitkidir. Yan etkilerinin az oluşu sayesinde alternatif tıpta yaygın kullanım alanı bulunmaktadır. Bu bitkinin özellikle tohumları oldukça iyi karakterize edilmiş bileşenler içerir. Uçucu ve sabit yağlar; karbonhidratlar, proteinler, amino asitleri alkaloidler, saponinler, organik asitler, ham lifler, vitamin ve mineraller içerir. Hem sabit yağda hem de uçucu yağda bulunan timokinon (TQ), biyolojik olarak aktif bileşendir ve NS'nin terapötik etkileri TQ'a atfedilmiştir (Darakhshan et al., 2015).

TQ; antiinflamatuvar, analjezik, antipiretik, antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antitümör, antihipertansif özelliklere sahiptir (Darakhshan et al., 2015; Ali et al., 2003).

Bu çalışmada CP tedavisinin sebep olduğu kardiyotoksisiteye karşı TQ'un olası koruyucu etkilerinin doku düzeyinde histolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için Adıyaman Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2022/005 protokol numaralı Etik Kurul izni alınmıştır.

Deney Hayvanları

Çalışmada Sprague Dawley ırkı 32 adet 8 haftalık ortalama 220-250 gr ağırlığında erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nden temin edildi ve deneysel işlemlerin tamamı merkezde yürütüldü. Hayvanların yem ve suya sınırsız erişimi vardı ve barındırıldıkları ortam 22±2°C, %40-50 nem ve 12'şer saatlik aydınlık-karanlık döngüsüne sahip standart laboratuvar koşullarıydı.

Deneysel Uygulamalar

Hayvanlar randomize olarak her grupta 8 adet olacak şekilde; kontrol grubu (salin 1ml/gün, oral gavaj); TQ grubu (Timokinon (Sigma-Aldrich), 10 mg/kg/ml/gün, oral gavaj (Aktaş et al., 2022); CP grubu (siklofosfamid, 50 mg/kg/gün i.p. (Nagi et al., 2011), haftada 1 defa (deneyin 1, 8, 15 ve 22. günlerinde, toplam 4 kez) ve TQ+CP grubu (timokinon, 10 mg/kg/ml/gün, oral gavaj, 28 gün, siklofosfamid, 50 mg/kg/gün i.p., haftada 1 defa, toplam 4 kez) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

28 günlük deneysel uygulamaların ardından 29. gününde hayvanlar ketamin hidroklorür (90 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında kardiyak eksanguinasyon ile sakrifiye edildi. Kalp dokusu çıkarılarak üzerindeki farklı dokulardan arındırıldı. Daha sonra iki parçaya ayrılarak bir parça biyokimyasal analizler için hızlıca -80 °C'ye kaldırıldı. Diğer parça histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehite konuldu.

Histopatolojik Değerlendirme

Deneysel uygulama işlemleri tamamlandığında, gruplara ait kalp doku örnekleri alınarak %10'luk formaldehit solüsyonunda 1 hafta tespit edildi. Dokuların fiksasyon işlemi tamamlandıktan sonra alkol, ksilen ve parafin serilerinden oluşan rutin histolojik doku takibi işlemi yapıldı. Ardından doku örnekleri parafin bloklar haline getirildi. Parafin bloklardan histopatolojik inceleme yapılabilmesi için 5 µm kalınlıkta ince kesitler alındı. Hazırlanan

kesitler ksilen ile deparafinize edilerek Hematoksilin -Eozin (H&E), Masson trikrom boyama ve Toluidin Blue boyama yöntemleri ile boyandı. Boyanan kesitler Carl Zeiss Axiocam marka ERc5 model (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Almanya) dijital kamera ataçmanlı mikroskop ile incelenerek histopatolojik olarak değerlendirildi.

Kalp Dokusunda MDA ve GSH Düzeylerinin Tespiti

Kalp dokusu malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) analizleri yapılanaya kadar -80oC'de muhafaza edildi.

Kalp doku örnekleri, buz gibi soğuk trikloroasetik asit (TCA %10) ile 9 kat sulandırılarak IKA/Ultra turrax (Marka/model) doku homojenizatörü ile homojenize edildi. MDA seviyeleri, tiyobarbitürik asit reaktif madde oluşumunun izlenmesiyle lipid peroksidasyon ürünlerinin tespiti için analiz edildi (Buege et al., 1978). Lipid peroksidasyonu, 1.56×10^5 M-1 cm-1 sönme katsayısı kullanılarak MDA eşdeğerleri cinsinden ifade edildi ve sonuçlar nmol MDA/g doku olarak ifade edildi.

Glutatyon ölçümleri, Ellman prosedürünün bir modifikasyonuna göre yapıldı (Beutler et al., 1975). Kısaca 2000 devirde 10 dk santrifüj edildikten sonra, 2 ml 0.3 mol/L Na₂HPO₄·2H₂O çözeltisine 0.5 ml süpernatant ilave edildi. 0.2 ml dithiobisnitrobenzoate (0.4 mg/ml %1 sodyum sitrat) solüsyonu eklendi ve karıştırıldıktan sonra absorbans 412 nm'de ölçüldü. Glutatyon seviyeleri bir katsayı (1.36×10^5 M-1 cm-1) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar µmol GSH/g doku olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde Graphpad Prism 6.0 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılımı Shapiro-Wilk testi kullanılarak incelendi. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların analizi için Anova testi kullanıldı, ardından doğrulama testi olarak Tukey-Kramer testi kullanıldı. Gruplar arasındaki farklarda p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Veriler ortalama ± standart hata (ortalama±SEM) olarak verildi.

BULGULAR

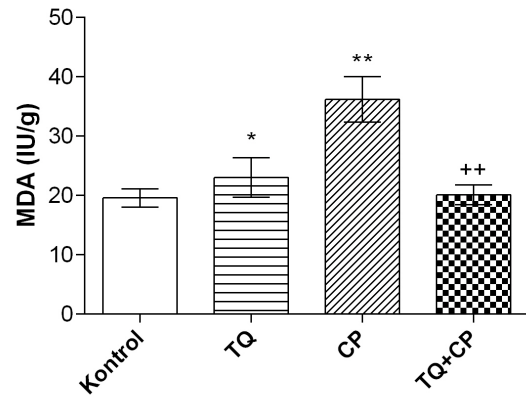
Biyokimyasal Bulgular

Siklofosamid uygulanan sıçanların kalp dokusunda MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu (p<0.001), TQ+CP grubunda ise timokinon uygulanmasının siklofosamidin sebep olduğu MDA seviyesindeki artışı istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı (p<0.001) görüldü (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1. Grupların kalp dokusundaki MDA ve GSH düzeyleri (Ortalama±SEM)

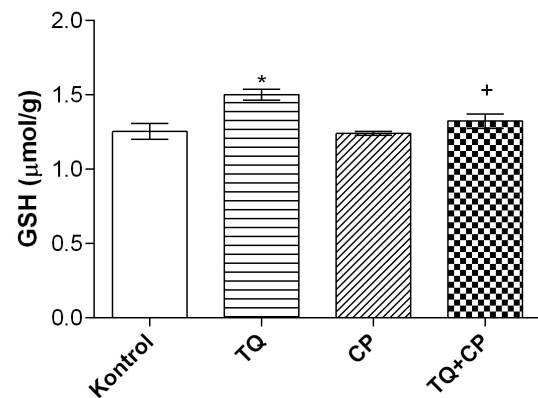
	Kontrol	TQ	CP	TQ+CP	F	p	R ²
MDA (IU/g)	19.61±1.55	23.03±3.32*	36.20±3.86**	20.09±1.66++	7.739	0.0007	0.4623
GSH (µmol/g)	1.25±0.05	1.50±0.03*	1.24±0.01	1.32±0.04+	11.96	<0.0001	0.5798

*p<0.05, kontrol grubuna göre, **p<0.001 kontrol grubuna göre, +p<0.05 CP grubuna göre ++p<0.001 CP grubuna göre.



Şekil 1. Grupların kalp dokusundaki MDA düzeyleri. *p<0.05, kontrol grubuna göre, **p<0.001 kontrol grubuna göre, ++p<0.001 CP grubuna göre.

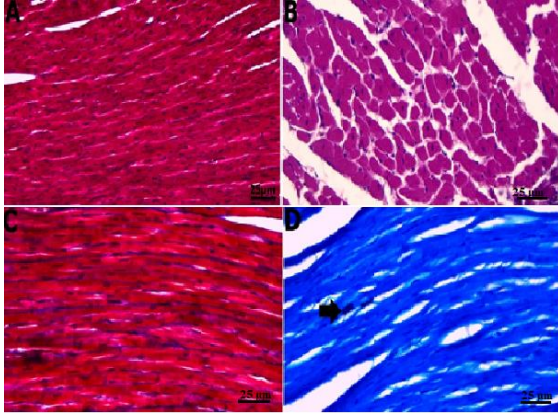
Tek başına TQ uygulamasının doku antioksidan kaynağı olan GSH miktarını kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdığı görüldü (p<0.05). CP grubunda kontrole göre anlamlı olmasa da GSH seviyesinde bir miktar azalma gözlenirken, TQ+CP grubunda CP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu (p<0.05) belirlendi (Tablo 1, Şekil 2).



Şekil 2. Grupların kalp dokusundaki GSH düzeyleri *p<0.05 kontrol grubuna göre, +p<0.05 CP grubuna göre.

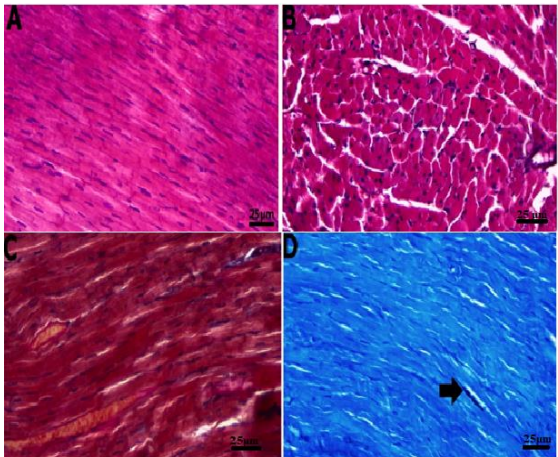
Gruplara Ait Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunun kalp dokusuna ait histolojik kesitler incelendiğinde herhangi bir patolojik bulgu tespit edilmedi. Liflerin morfolojik yapısı ve çekirdek yerleşimi normal olan yoğun kas liflerinden oluşan bir yapılanma hakimdi. Kas lifleri arasında bağ doku ödemi gözlenmedi (Şekil 3A ve B). Yapılan üçlü boyama bulgularında damar yapılarında dilatasyon, bağ doku fibrozisi, inflamasyon ve hemarajik alanlara rastlanmadı (Şekil 3C). İnterstisyel alanda mast hücre yoğunluğu normaldi (Şekil 3D).



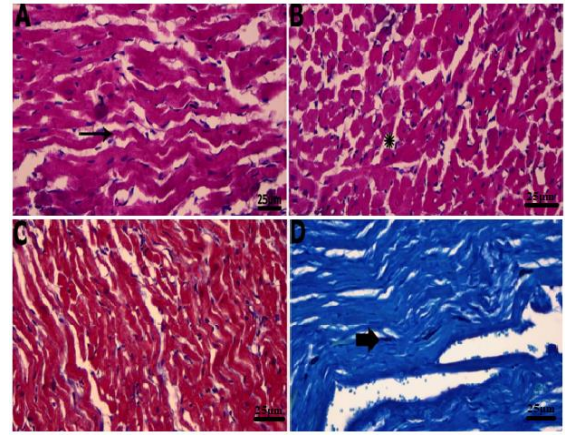
Şekil 3. Kontrol grubunun kalp dokusuna ait farklı histolojik boyama görüntüleri (x40). A ve B; H&E boyama, C; Masson trikrom boyama, D; Toluidin Blue boyama. Kalın ok; mast hücresi. Sağlıklı doku görüntüsü.

TQ grubuna ait kalp dokusunun histolojik kesitleri incelendiğinde kontrol grubu ile benzer bir görüntüye sahip olduğu görüldü. Liflerdeki morfolojik yapı ve çekirdek yerleşimi normaldi ve kas lifleri arasında bağ doku alanında ödem gözlenmedi (Şekil 4A ve B). Üçlü boyama incelemelerinde damar yapılarında dilatasyon, bağ doku fibrozisi, inflamasyon ve hemarajik alanlara rastlanmadı (Şekil 4C). İnterstisyel alanda mast hücre yoğunluğu kontrol grubunda olduğu gibi normaldi (Şekil 4D).



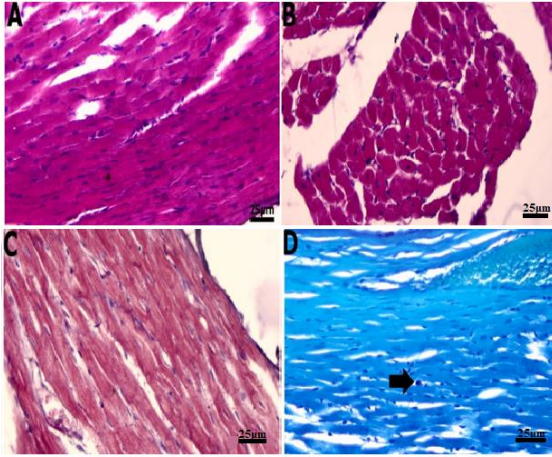
Şekil 4. TQ grubunun kalp dokusuna ait farklı histolojik boyama görüntüleri (x40). A ve B; H&E boyama, C; Masson trikrom boyama, D; Toluidin Blue boyama. Kalın ok; mast hücresi. Kontrol grubu ile benzer sağlıklı doku görüntüsü.

CP grubuna ait kesitlerin histolojik incelenmesinde kas liflerinin morfolojik yapılarının belirgin derecede dejenerasyona uğradığı tespit edildi. Kas lifleri arasındaki bağ doku ödemi belirgin derecede artmıştı (Şekil 5A ve B). Üçlü boyama ile yapılan değerlendirme sonucunda damar yapılarında dilatasyon, bağ doku fibrozisi, inflamasyon ve hemarajik alanlara rastlanmadı (Şekil 5C). İnterstisyel alanda mast hücre yoğunluğu diğer gruplara kıyasla artış göstermişti (Şekil 5D).



Şekil 5. CP grubunun kalp dokusuna ait farklı histolojik boyama görüntüleri (x40). A ve B; H&E boyama, C; Masson trikrom boyama, D; Toluidin Blue boyama. Kalın ok; mast hücresi.

TQ+CP grubuna ait kesitlerin histolojik incelenmesinde liflerdeki normal morfolojik yapının korunduğu ve liflerdeki çekirdek yerleşiminin çoğunlukla normal olduğu gözlemlendi. CP grubunda görülen kas lifleri arasındaki bağ doku alanında artmış ödemin bu grupta azaldığı tespit edildi (Şekil 6A ve B). Diğer gruplarda olduğu gibi bu grupta da üçlü boyama incelemelerinde damar yapılarında dilatasyon, bağ doku fibrozisi, inflamasyon ve hemarajik alanlara rastlanmadı (Şekil 6C). İnterstisyel alanda mast hücre yoğunluğu normaldi (Şekil 6D).



Şekil 6. TQ+CP grubunun kalp dokusuna ait farklı histolojik boyama görüntüleri (x40). A ve B; H&E boyama, C; Masson trikrom boyama, D; Toluidin Blue boyama. Kalın ok; mast hücresi.

TARTIŞMA

Siklofosamid kemoterapide yaygın olarak kullanılmasına ve düşük dozlarda tolere edilebilmesine rağmen özellikle yüksek dozlarda kullanıldığında ciddi kardiyolojik yan etkilere yol açabilmektedir. Kardiyotoksitesinin mekanizması kesin olarak açıklanmamış olsa da oksidatif stresin kardiyak hücrelerde hasara yol açtığı düşünülmektedir. Kemoterapi toksitesinin incelendiği deneysel çalışmaların birçoğunda tek doz CP enjeksiyonu ile toksisite oluşturulduğu görülmüştür (Çetik et al., 2014; Nagi et al., 2011; Ayza et al., 2020; Cengiz et al., 2018; Güneş et al., 2014). Mevcut antineoplastik ilaçların kalp üzerinde toksik etkileri göz önüne alındığında kemoterapiden kalbi korumak için potansiyel alternatifler bulma yolunda önemli araştırmalar yapılmıştır (Argun et al., 2015). CP kemoterapisi esnasında alternatif antioksidanların kullanımının toksik etkileri azalttığı literatürdeki pek çok çalışmayla gösterilmiştir (Nagi et al., 2011; Ayza et al., 2020; Cengiz et al., 2018). Bu sayede hem hastanın yaşam kalitesi artmakta hem de kemoterapi dozunun artmasına olanak sağlanmaktadır. Bazı tıbbi bitkilerin, farklı klinik öncesi çalışmalarda siklofosamid kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı kalbi koruyucu aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Ayza et al., 2020). Nigella sativa'nın olumlu etkileri özellikle uçucu yağının aktif bileşeni olan TQ'ya atfedilmiştir. TQ'un güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu birçok çalışma tarafından gösterilmiştir (Nagi et al., 2011; Mabrouk et al., 2021; Karabulut et al., 2021). Alenzi et al., (2010) yaptığı çalışmada hem Nigella sativa kullanımının hem de timokinon kullanımının 200 mg/kg CP toksisitesine karşı koruyucu etkileri ortaya konmuştur. TQ kullanımının dokularda toplam oksidatif durum ve oksidatif stres indeksini azalttığı (Aydın et al., 2015; Aksoy et al., 2015), toplam antioksidan miktarını da istatistiksel olarak anlamlı

derecede artırdığı rapor edilmiştir (Aydın et al., 2015).

Lipid peroksidasyonu, miyokard enfarktüsünde önemli bir patojenik olaydır. Oksidanların birikmesi hücre membranlarını oksidatif hasara ve miyokardiyal hücre içeriğinin hasarını yansıtan lipid peroksidasyon ürünü olan MDA oluşumuna daha duyarlı hale getirmektedir (Goyal et al., 2010). Mythili et al., (2004) tarafından yapılan bir çalışmada CP verilen grupta MDA düzeyinde anlamlı bir artış ve GSH, GSH-Px, GST, CAT, SOD gibi antioksidan enzimlerin seviyelerinde anlamlı azalma tespit edilmiştir. Yine 200 mg/kg dozda CP'nin sebep olduğu kardiyotoksitesinin incelendiği başka bir çalışmada CP grubunda GSH, CAT ve SOD gibi bazı antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı düşüş gözlenirken, MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Swamy et al., 2013). Buna ilaveten CP'nin, miyokardiyal dejenerasyon, inflamasyon ve miyofibriler kayıp gibi histopatolojik bulgulara da sebep olduğu belirtilmiştir (Swamy et al., 2013).

Kalpte, endojen antioksidan substrat olan GSH, hücre fonksiyonunu düzenler ve süperoksit, peroksi radikalleri ve singlet oksijen gibi Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'ni temizleyerek koruma sağlar (Chaudhary et al., 2023). CP uygulamasını takiben GSH seviyesindeki azalmalar oksidatif stresin üstesinden gelmek için tüketildiğini göstermektedir (Kwon et al., 2019). Mevcut çalışmada CP grubunda GSH seviyelerinde anlamlı bir düşüşün gözlenmemesi toksik düzeydeki CP dozunun farklı uygulanma şekline kaynaklanabileceği öngörülmüştür. TQ takviyesi ile GSH seviyelerindeki iyileşmeler, önceki çalışmalarla uyumlu olarak antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktivitelerini göstermektedir.

CP'nin indüklediği yüksek MDA seviyelerinin TQ takviyesiyle normal seviyelere gelmesi, miyokardiyumdaki antioksidan durumunun artması aktivitesine bağlanabilir. Antioksidan aktivite, uygulanan TQ'nun hidrokinona dönüşümü için önemli olan mitokondriyal solunum zinciriyle olan etkileşimi ile açıklanabilir. TQ (oksidlenmiş form) düşük antioksidan aktiviteye sahipken, indirgenmiş formu (timohidrokinon) yüksek serbest radikal süpürme kapasitesine sahiptir (Staniek et al., 2010). Çeşitli çalışmalar TQ'nun serbest radikalleri etkin bir şekilde temizlediğini ve lipid peroksidasyonuna karşı savunma sağladığını göstermiştir (Nagi et al., 2011; Isaev et al., 2023; Parlar et al., 2020).

Bu çalışmada ortaya çıkan TQ'nun antioksidan ve serbest radikal süpürücü aktivitesi, daha önceki çalışmaları desteklemekte ve oksidatif hasarla ilişkili CP kaynaklı kardiyotoksitesiteye karşı antioksidan aktiviteyi göstermektedir. TQ+CP grubunda, kontrol grubuna göre artmış GSH seviyeleri ve CP grubuna

göre azalmış MDA seviyeleri TQ'nun serbest radikal üretimini azalttığı ve antioksidan sistemlerin etkinliğini artırdığı şeklinde yorumlanabilir.

Sıçanlarda siklofosfamidin sebep olduğu kardiyolojik toksisitelere karşı propolisin koruyucu etkilerinin incelendiği bir çalışmada, CP grubunun kalp dokusuna ait histolojik kesitlerde, kalp kası liflerinde dejenerasyon, hemoraji ve vasküler konjesyon alanları gözlenmiştir (Kaya et al., 2018). Gruplara farklı dozlarda CP uygulaması yapılan başka bir çalışmada kalp dokusunda doza bağlı olarak artan histopatolojik değişiklikler saptanmıştır. Kas liflerinde birbirinden ayrılmalar ve koyu renkli çekirdek yapısının yanında yer yer hemorajik alanlar gözlenmiştir (Yıldız et al., 2021). Swamy et al., (2013) yaptığı çalışmada da CP grubunun miyokardında dejenerasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Mevcut çalışmada literatürdeki çalışmalara benzer şekilde CP grubunun kalp kasında dejenerasyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüştür ancak literatürdekinin aksine hemorajik alanlar gözlenmemiştir.

SONUÇ

Gerek enzimatik ve nonenzimatik antioksidan parametrelerdeki değişiklikler gerekse histolojik bulgulardaki değişiklikler CP'in kalp dokusu üzerinde toksik etkiler gösterdiğini, TQ takviyesinin ise bu etkilere karşı koruyucu rolünün olabileceğini ortaya koymaktadır. CP kemoterapisinin yan etkilerinin azaltılmasına yönelik olarak antioksidan özellikleri bilinen, yan etkilerinin azlığıyla tanınan TQ'nun tedaviye destek sağlamak amacıyla kullanılabileceği kanısına varılabilir. Ancak bu konuda doz, kullanım şekli ve biyokimyasal parametrelerin zenginleştirildiği daha kapsamlı çalışmalar yapılması önerilebilir.

Etik Kurul Onayı: Adıyaman Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (Onay No: 2022/005) onay alınmıştır.

Finansal Kaynak: Çalışmaya finansal destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çalışma kapsamında herhangi bir kişisel ve finansal çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram; Mehmet Salih KAYA, Elif Merve Betül YANILMAZ; **Tasarım;** Mehmet Salih KAYA, Elif Merve Betül YANILMAZ; **Denetleme/Danışmanlık;** Mehmet Salih KAYA, Ebru ANNAC; **Veri Toplama ve/veya İşleme;** Elif Merve Betül YANILMAZ, Ebru ANNAC, Gülsün MEMİ; **Analiz ve/veya Yorum;** Elif Merve Betül YANILMAZ, Ebru ANNAC, Gülsün MEMİ **Kaynak Taraması ve Makalenin Yazımı;** Elif

Merve Betül YANILMAZ, Ebru ANNAC, Gülsün MEMİ; **Eleştirel İnceleme;** Mehmet Salih KAYA, Ebru ANNAC, Gülsün MEMİ

KAYNAKÇA

Aksoy, F., Dogan, R., Ozturan, O., Tugrul, S., Veyseller, B., Ozer, O.F. & Pektas, A. (2015). An evaluation of the protective effects of thymoquinone on amikacin-induced ototoxicity in rats. *Clinical and experimental otorhinolaryngology*, 8(4), 312-319.

Aktaş, İ. & Mehmet Gür, F. (2022). Hepato-protective effects of thymoquinone and beta-aminoisobutyric acid in streptozocin induced diabetic rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 97(1), 67-76.

Alenzi, F.Q., El-Bolkiny, Y.E.S. & Salem, M.L. (2010). Protective effects of Nigella sativa oil and thymoquinone against toxicity induced by the anticancer drug cyclophosphamide. *British journal of biomedical science*, 67(1), 20-28.

Ali, B.H. & Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4), 299-305.

Argun, M. (2015). Hematolojik malign hastalıklarda kalp tutulumu ve kemoterapi kardiyotoksitesisi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci*, 11(2), 60-5.

Aydin, M.S., Kocarslan, A., Kocarslan, S., Kucuk, A., Eser, İ., Sezen, H.,... & Hazar, A. (2015). Thymoquinone protects end organs from abdominal aorta ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 30, 77-83.

Ayhanci, A., Uyar, R., Aral, E., Kabadere, S. & Appak, S. (2008). Protective effect of zinc on cyclophosphamide-induced hematotoxicity and urotoxicity. *Biological trace element research*, 126, 186-193.

Ayza, M.A., Zewdie, K.A., Tesfaye, B.A., Wondafrash, D.Z. & Berhe, A.H. (2020). The role of antioxidants in ameliorating cyclophosphamide-induced cardiotoxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1-14.

Beutler, E. *Glutathione in Red Cell Metabolism : A Manual of Biochemical methods*. 2nd ed., Grune and Stratton, NY, 1975, p:112-114.

Buege, J.A. & Aust, S.D. (1978). [30] Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 52, pp. 302-310). Academic press.

Cengiz, M. (2018). Ratlarda siklofosfamid nedenli kardiyotoksitesite üzerine borik asitin koruyucu

etkileri. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 7(1), 113-118.

Cetik, S. (2014). Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksistide Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Karvakrol'ün Koruyucu Etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Eskişehir.

Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in chemistry*, 11, 1158198.

Darakhshan, S., Pour, A.B., Colagar, A.H. & Sisakhtnezhad, S. (2015). Thymoquinone and its therapeutic potentials. *Pharmacological research*, 95, 138-158.

Fraiser, L.H., Kanekal, S. & Kehrer, J.P. (1991). Cyclophosphamide toxicity: characterising and avoiding the problem. *Drugs*, 42, 781-795.

Goyal, S., Arora, S., Bhatt, T. K., Das, P., Sharma, A., Kumari, S. & Arya, D. S. (2010). Modulation of PPAR- γ by telmisartan protects the heart against myocardial infarction in experimental diabetes. *Chemico-biological interactions*, 185(3), 271-280.

Günes, S. (2014). Siklofosfamid nedenli doku hasarı ve oksidatif stres üzerine selenyumun etkisi. (Yüksek lisans tezi). Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Fizyoloji Ana Bilim Dalı. Ulusal tez merkezi. (396492).

Isaev, N.K., Genrikhs, E.E. & Stelmashook, E.V. (2023). Antioxidant thymoquinone and its potential in the treatment of neurological diseases. *Antioxidants*, 12(2), 433.

Karabulut, D., Ozturk, E., Kaymak, E., Akin, A.T. & Yakan, B. (2021). Thymoquinone attenuates doxorubicin-cardiotoxicity in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 35(1), e22618.

Kaya, E., Yılmaz, S. & Çolakoğlu, N. (2018). Ratlarda siklofosfamidin sebep olduğu kardiyotoksistide propolisin koruyucu rolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66(1), 13-20.

Kumar, K.B.H. & Kuttan, R. (2005). Chemoprotective activity of an extract of *phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine*, 12(6-7), 494-500.

Kwon, D.H., Cha, H.J., Lee, H., Hong, S.H., Park, C., Park, S.H., ... & Choi, Y.H. (2019). Protective effect of glutathione against oxidative stress-induced cytotoxicity in RAW 264.7 macrophages through

activating the nuclear factor erythroid 2-related factor-2/heme oxygenase-1 pathway. *Antioxidants*, 8(4), 82.

Mabrouk, A. (2021). Thymoquinone improves lead-induced hematotoxicity in rats. *Pakistan Journal of Zoology*, 54, 1-9.

Mythili, Y., Sudharsan, P.T., Selvakumar, E. & Varalakshmi, P. (2004). Protective effect of DL- α -lipoic acid on cyclophosphamide-induced oxidative cardiac injury. *Chemico-biological interactions*, 151(1), 13-19.

Nagi, M.N., Al-Shabanah, O.A., Hafez, M.M. & Sayed-Ahmed, M.M. (2011). Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 25(3), 135-142.

Parlar, A. & Arslan, S.O. (2020). Thymoquinone reduces ischemia and reperfusion-induced intestinal injury in rats, through anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *Turkish Journal of Surgery*, 36(1), 96.

Perini, P., Calabrese, M., Rinaldi, L. & Gallo, P. (2008). Cyclophosphamide-based combination therapies for autoimmunity. *Neurological Sciences*, 29, 233-234.

Ray, S., Chowdhury, P., Pandit, B., Ray, S.D. & Das, S. (2010). Exploring the antiperoxidative potential of morin on cyclophosphamide and flutamide-induced lipid peroxidation and changes in cholesterol profile in rabbit model. *Acta Pol Pharm.*, 67(1), 35-44.

Staniek, K. & Gille, L. (2010, November). Is thymoquinone an antioxidant?. In *BMC pharmacology* (Vol. 10, No. 1, pp. 1-1). BioMed Central.

Swamy, A.V., Patel, U.M., Koti, B.C., Gadad, P.C., Patel, N.L. & Thippeswamy, A.H.M. (2013). Cardioprotective effect of *Saraca indica* against cyclophosphamide induced cardiotoxicity in rats: a biochemical, electrocardiographic and histopathological study. *Indian journal of pharmacology*, 45(1), 44.

Yıldız, S.Ç. & Gözüoğlu, G. (2021) Myeloprotective and hematoprotective role of kefir on cyclophosphamide toxicity in rats. *Archives of Clinical and Experimental Medicine*, 6(2), 77-82.