

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DOKSORUBİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL BÖBREK
HASARINDA CARDAMOM’UN BÖBREK DOKUSU ÜZERİNE
KORUYUCU ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Hasan ATLI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER

**ELAZIĞ
2015**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıları olan başta İç Hastalıkları AD başkanı Prof. Dr. Emir Dönder ve tez danışmanım Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Histoloji- Embriyoloji AD öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Tuncay Kuloğlu, Nefroloji BD'ndan Uzm. Dr. Ali Gürel'e ve İç Hastalıkları AD'nın tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım dostluklarını esirgemeyen tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, İç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire, personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatımın tüm aşamalarında sonsuz desteklerini gördüğüm annem, babam, kardeşlerime; eşim Op. Dr. Hasine G. Atlı ve çocuklarım Zeynep ile Esma'ya teşekkür ederim.

ÖZET

Doksorubisin (DX) kanser kemoterapisinde kullanılan bir ilaçtır. Hematolojik maligniteler, çeşitli karsinoma tipleri ve yumuşak doku sarkomlarının tedavisinde kullanılır. Oldukça geniş spektrumlu ve güçlü etkili olmasının sağladığı üstünlük yanında, toksisitesinin de fazlalığı sakınca oluşturur. Doza bağlı olarak kalp, böbrek ve karaciğerde yan etkiler görülmektedir. DX direkt toksik etkisiyle glomerüllerde ve takiben tubulointerstisyel bölgelerde hasara neden olur. Bu etkileri önlemek için antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olan ajanlar ile çalışmalar yapılmaktadır. *Elettaria cardamomum* (kardamom) zencefilgiller ailesinden bir bitki olup antioksidan, antihipertansif gastroprotektif, antispasmodik, antibakteriel, antiagregan, antikanser özellikleri vardır. Bu çalışmada DX ile oluşturulan böbrek hasarına karşı kardamom'un koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada 24 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 14 günlük deney süresince Grup I'e herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup II'ye 15 mg/kg intraperitoneal (i.p) tek doz DX, Grup III'e 15 mg/kg i.p tek doz DX ile birlikte oral 500 µl/kg/gün kardamom ve Grup IV'e oral 500 µl/kg/gün kardamom uygulandı.

Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak dokular parafin bloklara gömüldü. Elde edilen bulgular incelenerek fotoğraflandı.

Çalışma sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında doksorubisin grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde artma olup, kardamom uygulamasının bu etkiyi azalttığı, DX uygulamasının böbrek dokularında iyon kanalı TRPM2 ve lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA seviyelerini artırdığı, Kardamom'un ise bu etkiyi azalttığı ve aynı zamanda Doksorubisin uygulamasının böbrek dokularında apoptozisi ve apoptozis göstergesi olan TUNEL immünreaktivitesini artırdığı, yine Kardamom'un bu etkiyi de azalttığı saptanmıştır.

Bu çalışmada kardamomun doksorubisin nefropatisinde anti-apoptotik ve anti-oksidan etkileri olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, böbrek, Kardamom, TRPM

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF CARDAMOM ON RENAL TISSUE IN DOXORUBICIN INDUCED EXPERIMENTAL RENAL DAMAGE

Doxorubicin (DX) is a drug used in cancer chemotherapy. It is used in the treatment of hematological malignancies, various types of carcinomas and soft tissue sarcomas. Although it is quite effective and have broad-spectrum, its toxicity creates inconveniences. Dose-related cardiac, renal and hepatic side effects are observed. DX has toxic effects on glomeruli and tubulointerstitial structures. In order to avoid these effects, antioxidant and anti-inflammatory agents are being studied. *Elettaria cardamomum* (cardamom) is a plant from the family of gingers and it has antioxidant, antihypertensive gastroprotective, spasmolytic, antibacterial, anti-platelet anticancer properties. In this study, protective effects of cardamom against DX induced kidney damage were investigated.

In this study, 24 adult male Wistar Albino rats were used. Animals were divided into 4 groups as 6 animals in each group. During the 14- day experiment period Group I did not have any application. Group II had 15 mg / kg single dose of doxorubicin intraperitoneally (ip); Group III had 15 mg / kg single dose of ip doxorubicin and oral 500 mcg/kg/day cardamom; and to Group IV oral 500mcg/kg/day cardamom was administered.

At the end of the experiment the rats were decapitated and kidney tissues were removed. Tissues were controlled with light microscope and embedded in paraffin blocks. The findings examined and photographed. As result of immunohistochemical staining and examination with light microscope; TRPM2 immunoreactivity of DX group increased in comparison with control group, and cardamom application reversed this effect. Kidney tissue malondialdehyde (MDA) levels and apoptosis detected by the TUNEL method were increased with doxorubicin administration and cardamom reversed all these effects significantly.

This study showed that cardamom has anti- apoptotic and antioxidant effects on kidney tissue after doxorubicin induced injury.

Keywords: Doxorubicin, kidney, cardamom, TRPM

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Böbrek	2
1.1.1. Böbrek Anatomisi	2
1.1.2. Kan Dolaşımı	3
1.1.3. Fizyolojisi	4
1.1.4. Fonksiyon ve işlevleri	5
1.2. Dokсорubisin	5
1.2.1. Dokсорubisin ve Etki Mekanizmaları	5
1.2.2. Farmakokinetiği	8
1.2.3. Dokсорubisinin Yan Etkileri	9
1.2.3.1. Genel yan etkiler	9
1.2.3.2. Kardiyotoksisite	10
1.2.4. Dokсорubisinebağılı Nefrotoksisite	11
1.2.4.1. Patogenez	12
1.2.4.2. Yapı ve Fonksiyon	13
1.2.4.3. Deneysel model olarak Avantaj ve Dezavantajları	14
1.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri	15
1.3.1. Oksidatif Stres	15
1.3.2. Serbest Radikaller	15
1.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri	17
1.3.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek	17
1.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	18

1.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	19
1.3.4.2. Enzimatik olmayan Antioksidanlar	20
1.4. Transient reseptör potansiyel (TRP) ailesi	20
1.4.1. Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları	22
1.4.1.1. TRPM2 Katyon Kanalları	23
1.5. Elettaria Cardamomum (Kardamom)	24
2. GEREÇ ve YÖNTEM	27
2.1. Deney Hayvanları	27
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	28
2.3. Örneklerin Alınması	28
2.4. MDA düzeyinin saptanması	28
2.5. TUNEL Metodu	29
2.6. İmmünohistokimya Metodu	30
2.7. İstatistiksel analiz	31
3. BULGULAR	32
3.1. MDA düzeyi	32
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	32
3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi	32
3.3. TUNEL Bulguları	35
4. TARTIŞMA	38
5. KAYNAKLAR	44
6. ÖZGEÇMİŞ	56

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması	18
Tablo 2. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri	27
Tablo 3. TUNEL boyama prosedürü	29
Tablo 4. İmmüno histokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi	31
Tablo 5. MDA düzeyleri	32
Tablo 6. Apoptotik İndeks	37

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Böbrek anatomisi	3
Şekil 2.	Doksorubisinin kimyasal yapısı	6
Şekil 3.	Daunorubisinin kimyasal yapısı	7
Şekil 4.	İdarubisinin kimyasal yapısı	7
Şekil 5.	TRP kanalları	21
Şekil 6.	TRPM kanalları ana grup ve üyeleri	22
Şekil 7.	TRPM2 katyon kanallarının segmental yapısı	23
Şekil 8.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi	33
Şekil 9.	DX verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi	33
Şekil 10.	DX + Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi	34
Şekil 11.	Kardamom verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi	34
Şekil 12.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G)	35
Şekil 13.	Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G)	36
Şekil 14.	DX verilen gruba ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G)	36
Şekil 15.	DX + Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G)	37

KISALTMALAR LİSTESİ

ADH	: Antidiüretik hormon
AI	: Apoptotik indeks
AN	: Adriyamin nefropatisi
ATP	: Adenozintrifosfat
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CCL2 & CCL5	: Tübüler hücre kemokin salınımı
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DX	: Doksorubisin
Fe	: Demir
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GSH	: Guanozinsulfurhidroksit
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GSSG-R	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HO-	: Hidroksil
HOCL-	: Hipoklorik asit
İ.P.	: İntraperitoneal
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
LPO	: Lipid peroksidasyonu

MDA	: Malondialdehid
MPO	: Miyeloperoksidaz
NO	: Nitrik oksit
O-	: Süperoksit anyonu
OH-	: Hidroksil radikali
ONOO	: Peroksinitrit
RNA	: Ribonükleik asit
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksid Dismutaz
TRP	: Transient reseptör potansiyel
TRPA	: Anykrin zengin protein,
TRPC	: Canonical
TRPM	: Transient reseptör potansiyel melastatin
TRPN	: Nompc
TRPP	: Polisistin
TRPV	: Vanilloid

1. GİRİŞ

Doksorubisin ya da hidroksidaunorubisin (ticarî adıyla Adriyamisin), pek çok hematolojik ve solid kanserlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajan olup antrasiklin türevi bir antibiyotiktir. Hodgkin Lenfoma, Nonhodgkin Lenfoma, akut lenfoblastik lösemi, metastatik meme kanseri, over kanseri, akciğer kanseri ve sarkomaların tedavi protokollerinde yer alan etkin bir antineoplastik ilaçtır (1). Oldukça geniş spektrumlu ve güçlü etkili olmasının sağladığı üstünlük yanında, toksisitesinin de fazlalığı bir sakınca oluşturur (2). Doza bağlı olarak şiddetli kalp, böbrek ve karaciğerde yan etkiler görülmektedir (3).

Böbrekler bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlardır. İlaçların metabolitleride böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerül, tübül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir (4).

Adriyamisin, glomerüller'e direkt toksik etkiyle hasarı başlatır ve bunu tübülointerstisyel zedelenme izler. Adriyamisin, glomerüler endotelial hücreleri (glikokaliks dahil), glomerüler bazal membranı ve podositleri içeren glomerüler filtrasyon bariyerlerinde değişikliklere neden olur. Glikokaliks kalınlığı azalır, glomerüler endotelial hücre porlarının boyutu artar, glomerüler yük seçiciliği düşer ve podosit ayakçıkları kaynaşır. Bu değişimler, glomerüler endotelial hücreleri tarafından üretilen glikokaliks bünyesinde bulunan proteoglikanların ve glikozaminoglikanların glomerüler hücre üretimindeki azalmalarıyla ilişkilidir (5).

Adriyamisin kaynaklı böbrek hasarının moleküler mekanizmasını inceleyen farklı çalışmalar da mevcuttur. Artan serbest radikal üretiminin, patogeneizde rol oynayan bir mekanizma olduğu görüşü ileri sürülmektedir. Bu görüş, balık asalağı (miksın glutinaz) glomerülleri üzerine yapılan çalışmalarda da desteklenmiştir. Bu çalışmalarda, Adriyamisinin, sülfhidril donör N-asetilsistein tarafından tersine çevrilen bir etki olan su geçirgenliğinde görülen azalma ile ilişkili olarak glomerüler ATP'az aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, karaciğer, böbrek ve kalpteki glutatyonun (bir antioksidan) azalan düzeyleri ve artan lipid peroksit düzeyleri, Adriyamisin verilmesinden sonra gerçekleşmiştir (6).

Elettaria cardamomum (kardamom) ülkemizde kakule adı ile bilinen zencefilgiller ailesinden Batı ve güney Hindistan gibi sıcak bölgelerde yetişen, tohumları baharat olarak da kullanılan bir bitkidir. Yakın Doğu ülkelerinde tohumu kahve tohumu ile birlikte toz haline getirilerek kullanılmaktadır (7). Tüm dünyada yaygın olarak tatlandırıcı ve katkı maddesi özelliğinden faydalanan bir ajandır. Bu ajan insanlar tarafından yaygın olarak gastrointestinal hastalıklar, kalp hastalıkları, böbrek hastalıkları, astım, bronşit ve halitozis gibi durumlarda kullanılmaktadır (8). Farklı hayvan çalışmalarında Cardamom'un antioksidan (9), Antihipertansif (10) Gastroprotektif (11), Antispazmotik (12), Antibakteriyel (13) Antiagregan (14), Antikanser (15) özellikleri gösterilmiştir.

Transient reseptör potansiyel kanalları, renal Ca^{+2} - Mg iletimi, kan basıncının düzenlenmesi, tadın, kokunun, sesin algılanması, gen ekspresyonu ve salgılanması, apoptozis gibi önemli hücresel süreçlerde ve yaygın olarak bilinen 2. haberci mekanizmada, iyon giriş çıkışı gibi pek çok önemli mekanizmada rol oynar (16).

Transient reseptör potansiyel melastatin, TRPailesinin ilk tanımlanan üyesi olup, melastatin bir tümör baskılayıcı protein olarak bildirilmiştir. TRPM2, TRP ailesinin 8 üyesinden biridir (17). TRPM2; Katyon Kanalları başta beyin ve kemik iliği olmak üzere böbrek, bağırsak, karaciğer, akciğer, testis, prostat, pankreas, iskelet kası, lökositler ve arka kök gangliyonları gibi birçok doku ve hücrede gösterilmiştir (18).

Transient reseptör potansiyel melastatin-2, H_2O_2 aracılı endotel hücresi ölümünde anahtar moleküldür (19).

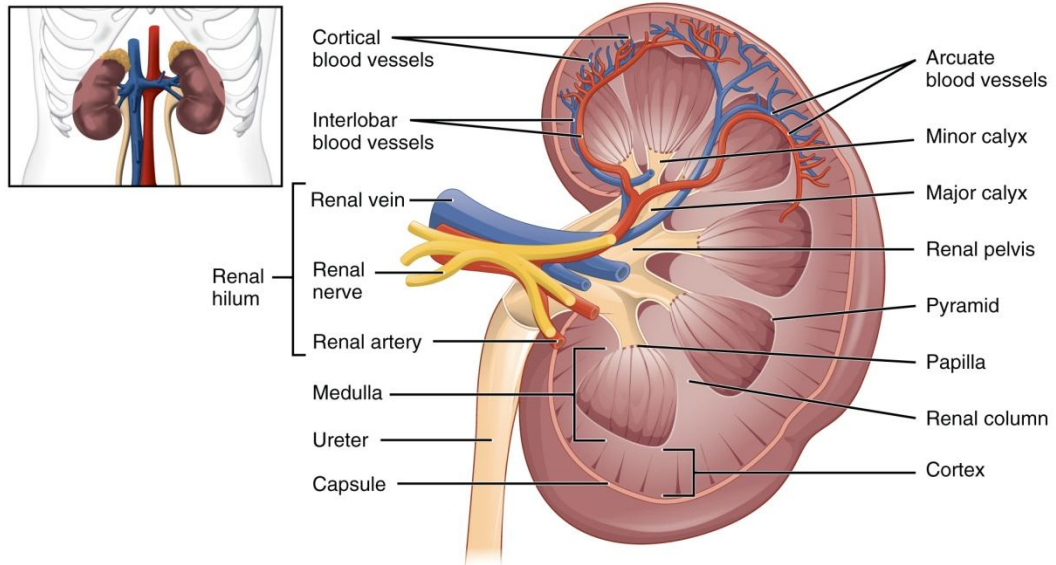
Bu çalışmada antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinen Cardamom'un ratlarda deneysel olarak oluşturulan doksorubisin nefrotoksitesisi üzerine koryucu etkileri incelenmiştir.

1.1. Böbrek

1.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler karın arka duvarında retroperitoneal olarak yerleşimli olup, 12. torasik ve 3. lomber vertabralar arasında uzanırlar. Sağ böbrek, karaciğerin sağ lobunun büyük olması ve basısı nedeni ile sola göre 1-2 cm. daha aşağıda bulunur. Böbrekler hareketli organlar olup solunumla ve pozisyonla yaklaşık 4 cm kadar yer değiştirebilirler. Her biri yaklaşık 11.5 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 2.5

cm kalınlığındadır. Ortalama ağırlığı 140-170 gramdır. Sol böbrek 11. ve 12. kostalarla komşuluk yaparken, sağ böbrek yalnızca 12. kosta ile komşudur. Sağ böbrek üstte sürrenal, üst ve önde karaciğer, hilus seviyesinde duodenum, altta ve lateral kenarda kolon ile sınırlı iken, sol böbrek ise üstte sürrenal bez, önde mide, dalak, pankreas, jejunum ve desendan kolon ile sınırlanmıştır. Her iki böbrek arkada diafragma, kuadratus lumborum ve psoas kaslarına dayanır. Böbrekler içten dışa doğru kapsula fibroza (böbreği dıştan saran, ince fakat sağlam fibroz kılıfı), kapsula adiposa (kapsula fibrozayı saran yağ tabakası) ve fascia renalis (karın duvarındaki fascia subserosanın kapsula adiposayı dıştan saran bölüm) olmak üzere üç kılıf tarafından sarılır. Her bir böbreğin ön ve arka yüzeyleri, iç ve dış kenarlar, üst ve alt polleri vardır ve üst polleri alt pole göre orta hatta 1 cm daha yakındır. İç kesimde renal hilus denilen ve içinden renal arter, renal ven, renal pelvis, üreter, lenfatiklerin ve sinirlerin geçtiği bir yarık bulunur. Renal hilus böbrek içinde, 2.5 cm derinliğinde olan ve içinde renal pelvis, renal kaliks, renal damarlar ve sinirler ile değişik miktarlarda yağ dokusunun bulunduğu renal sinüs olarak devam eder (20, 21).



Şekil 1. Böbrek anatomisi

1.1.2. Kan Dolaşımı

Her bir böbrek renal arterler ile kanlanır. Renal arter hilustan böbreğe girdikten sonra önce interlobar daha sonra arkuat arterlere olmak üzere iki dala ayrılır. Arkuat arterlerden dik olarak interlobüler arterler çıkar. Bu arterlerden

glomerüle giden afferent arterioller köken alır. Glomerülü oluşturan kapillerler birleşerek efferent arteriollerini oluşturur. Efferent arterioller daha sonra dallanarak tübülüsleri saran, böbrekteki 2. kapiller ağ sistemi olan peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerlerden gelen kan venöz sisteme dökülür. Oradan sırayla arteriyel sistemle paralel olarak interlobüler ven, arkuat ven, interlobar ven ve renal veni takip eder. Renal venler ise inferior vena kavaya drene olurlar (21, 22).

1.1.3. Fizyolojisi

Böbrekler filtrasyon, emilim ve salgılama işlevlerini kapsayan bir dizi işlem vasıtasıyla iç ortamın kimyasal yapısını düzenler. Filtrasyon, glomerüllerde gerçekleşir. Nefronun tübül bölümleri özellikle proksimal tübüller, filtrat içindeki vücut metabolizmasına faydalı olan maddeleri emer bu şekilde iç ortamdaki homeostasisi sağlar. Tübüller ayrıca idrarla atılan belli zararlı maddeleri, kandan tübül lümenine aktarır. Toplayıcı kanallar, belli şartlarda suya geçirgen hale gelerek kan plazmasından daha hipertonic olan idrarın konsantrasyonunu artırır.

Her iki böbrek 125 ml/dk. filtrat üretir. Bunun 124 ml'si emilir ve yalnız 1 ml'si idrar olarak kalikslere salınır. Her 24 saatte ortalama 1500 ml idrar oluşur. Erişkin bir kişide vücutta dolaşan kan her 4-5 dakikada bir böbrekten geçer. Kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak glomerüler filtrat oluşur. Glomerüler filtratın kimyasal bileşimi kan plazmasına benzer ancak makromoleküller glomerül duvarından geçmediği için hemen hiç protein içermez.

Proksimal tübüller filtrattaki şeker ve amino asitlerin tamamını, suyun ve sodyum klorürün %85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Bütün bunlarla beraber proksimal tübüller kreatinin gibi maddeleri ve paraaminohippurik asit, penisilin ve iodyopyracet (kontrast madde) gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara salgılar. Bu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi böbrek işlevlerinin klinik açıdan değerlendirilmesinde yardımcı olur. Henle kulpu su tutma işleminde rol oynar. Burada toplayıcı kanallardan idrarın konsantrasyonunu etkileyen medüller interstisyumdaki hipertonic gradyanı oluşturur.

Distal tübüllerde iyon değişimi meydana gelir. Aldosteron distal tübüllerde sodyumun emildiği, potasyum iyonlarının dışarı atıldığı bir iyon değişim bölgesi bulunur. Burası vücuttaki total su ve tuzun kontrol edildiği bölgedir. Distal tübül aynı zamanda kanda asit-baz dengesinin korunmasında da önemli role sahiptir. Toplayıcı

kanallar Antidiüretik hormona (ADH) duyarlıdır. Su alımı azaldığında ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale geçer (22).

1.1.4. Fonksiyon ve işlevleri

Nefronlar, istenmeyen maddeleri plazmadan temizleme işlevine sahiptirler. Bu işlem için kullanılan mekanizmalar şunlardır (21, 22):

Glomerüler Filtrasyon: Kan plazması suyunun bir kısmının, içinde erimiş maddeleriyle birlikte, glomerüler membrandan fitle (süzülme) yoluyla çıkarılmasıdır.

Tübüler Reabsorpsiyon: Filtre edilen sıvı, tübüllerde ilerlerken su ve diğer gerekli maddeler reabsorbe edilir. İstenmeyen maddeler geri emilmez ve idrar oluşumuna katkıda bulunur.

Tübüler Sekresyon: Vücut için yararsız veya zararlı olan atık ve yabancı maddelerin kandan alınıp tübülüs sıvısına verilmesidir.

Böbrein temel fonksiyonları şöyle sıralanabilir (21, 22):

1. Vücut su ve elektrolit dengesinin korunması
2. Metabolik atıkların atılması; Üre, ürik asit, kreatinin gibi
3. İlaçlar, toksik maddeler ve metabolitlerin detoksifikasyonu ve atılımı.
4. Ekstrasellüler sıvı hacminin ve kan basıncının hormonal düzenlenmesi: Renin-anjiyotensin sistemi, Renal prostaglandinler, Renal kallikrein-kinin sistemi.
5. Hormon üretimi ve metabolizması: Eritropoietin, D vitamini gibi
6. Peptit yapılı hormonların yıkımı: İnsülin, glukagon, parathormon, kalsitonin, büyüme hormonu vb.
7. Küçük molekül ağırlıklı proteinlerin yıkım ve atılımı: Hafif zincirler, beta2-mikroglobülin gibi
8. Metabolik etki: Glukoneogenez, lipid metabolizması gibi

1.2. Doksorubisin

1.2.1. Doksorubisin ve Etki Mekanizmaları

Doksorubisin (DX), pek çok hematolojik ve solid kanserlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajan olup antrasiklin türevi bir antibiyotiktir. Hodgkin Lenfoma, Nonhodgkin Lenfoma, akut lenfoblastik lösemi, metastatik meme kanseri,

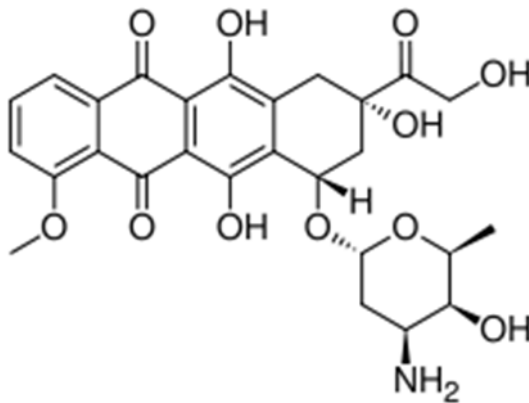
over kanseri, akciğer kanseri ve sarkomaların tedavi protokollerinde yer alan etkin bir antineoplastik ilaçtır (1).

Doksorubisin hidroklorid (Adriyamisin) 1963 yılında bir mantar türü olan *Streptomyces peucetius* Caesius'un kültürlerinden üretilmiştir (23) ve antineoplastik bir ajan olarak ilk kez 1967de tanımlanmıştır (24, 25). Orta derecede lipofilik özellik gösterir (26).

Amino şeker ve bir antrasiklin halka içerir. İlaç molekülünün aglikon kısmı, DNA ve RNA'nın arasına girer. Moleküldeki iyonik şeker yapısı, interkelasyonu stabilize etmek için iyonik olarak bağlanır. Sonuç olarak, DNA ve RNA'nın sentez sırasında şekli bozulur. Bu etki faz duyarlı değildir, fakat S dönemindeki hücrelere etkinliği fazladır. DX ayrıca demir ile güçlü bir şekilde şelat oluşturup DNA'ya ve hücre membranlarına bağlanabilir ve DNA'yı ve hücre membranlarını kolayca parçalayabilen serbest radikaller üretebilir (27, 28).

Doksorubisin beyin dışındaki dokular tarafından hızlı bir şekilde alınır (28). Dokulara fazla bağlanıp oradan yavaş salıverildiğinden, karaciğerde hızlı metabolize edilmesine karşın vücutta kalışı ve etkisi uzun sürer; büyük kısmı safra içinde itrah edilir. Karaciğer metastazı veya primer tümörü ya da diğer bir nedenle, karaciğer fonksiyonu bozulmuşsa eliminasyonu yavaşlar ve doz azaltılmazsa vücutta birikir. Hidroliz sonucu vücutta kısmen serbest kalan anglikon kısmı etkinlik göstermez (27).

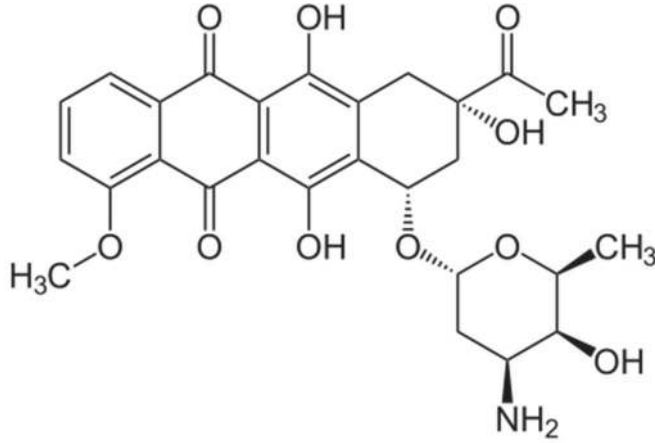
Antrasiklin molekülü, ilaca kırmızı rengini veren tetrasiklik çekirdek ile ona glikosidik bir bağ ile bağlı olan aminoşekerden (daunosamin) oluşur. Antrasiklin grubunun tüm üyelerinin tetrasiklik halkaya komşu kinon ve hidrokinon grupları vardır. Bunlar elektron alma ve verme işlevini görürler. Daunorubicin molekülündeki 14. karbonun hidroksil grubu alması ile doksorubisin meydana gelir (29, 30).



Şekil 2. Doksorubisinin kimyasal yapısı

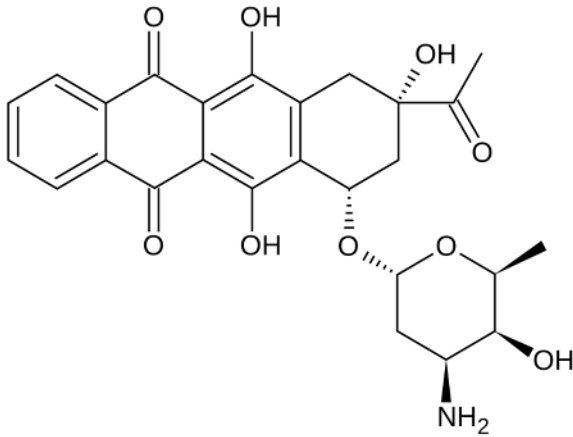
Kimyasal yapısı daunorubisin ve epirubisine benzer. Bu nedenle tümörhücreleri bu ilaçlara çapraz rezistans gösterebilir (27). İdarubisin ise sentetik türevleridir (27, 29).

Daunorubisinden farkı 8 pozisyonundaki asetil grubu yerine hidroksiasetil grubu içermesidir. Epirubisin ise doksorubisinin 4 epimeridir (31).



Şekil 3. Daunorubisinin kimyasal yapısı

İdarubisin ise daunorubisinin aglikon halkasındaki C-4 grubundaki metil grubunu içermeyen sentetik türevidir (29).



Şekil 4. İdarubisinin kimyasal yapısı

Doksorubisin ve daunomisin, serbest difüzyon ile hücreye girer. Bazı hücrelerde antrasiklinler P170glikoprotein (P170gp) ile hücre dışına atılır. P170gp, bir membran proteini olup, vinka alkaloidleri, aktinomisin D, epipodofilotoksinler ve antrasiklinler gibi doğal kaynaklı ilaçları hücreden dışarıya doğru aktif olarak pompalar (30).

Doksorubisinin antineoplastik etkisini açıklayan 3 mekanizma vardır; nonspesifik olarak komşu baz çiftleri arasına yerleşerek DNA ve ribonükleik asit

(RNA) sentezini bloke eder ve topoizomera2 2 enzimini inhibe ederek DNA'nın çift heliks yapısını kırar, hücre zarına tutunarak hücrel fonksiyonları bozar (1).

Nukleus zarındaki sitokrom P-450 redüktaz enzimi antrasiklinlerin semikinon serbest radikallerine neden olan reaksiyonu katalize eder. Moleküler O₂'yi azaltır, DNA'nın tek sıra olmasına neden olan süperoksit iyonu ve hidrojen peroksit yapımını arttırır (32). Sonuçta maruz kalan hücre DNA'sında kimyasal ve oksidatif hasar oluşur (33).

Doksorubisinin demir ile reaksiyona girmesi ile serbest radikal üretimi uyarılır (29).

Kalayanamara ve ark. doksorubisinin mikromolar konsantrasyonlarının altında bile meydana gelen metal katalizörlü H₂O₂ yapımının epitel hücreleri ve kardiyomiyositler üzerinde toksik etkiye neden olduğunu göstermişlerdir (34).

Tümör hücresine komşu dokularda görülen bu etki de tümör büyümesi üzerine etkisini açıklayabilir (33).

Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi enzimatik koruma faktörleri dokuları antrasiklinlerin toksik etkilerinden korur (29). Doksorubisinin metabolikenzimleri inhibisyonu, adenzintrifosfat (ATP) ve guanozinsulfurhidroksit (GSH)' ın azalması, membran hasarı sonucu endotelyal disfonksiyona neden olur. Bu olayda hayvan ve insanlarda tümör büyümesinin önlemesini sağlar (33).

1.2.2. Farmakokinetiği

Doksorubisin (Adriyamin) insan kanserlerinde çok geniş etki alanı olan antitümör ilaçlar sınıfına ait bir antrasiklindir. İlk iki antrasiklin olan daunorubisin ve doksorubisin 1960'lı yıllarda geliştirildi. Doksorubisin daunorubisinden tek bir hidroksil grubuyla ayrılır (35).

Gastrointestinal sistemden absorbe edilmez, yalnız parenteral uygulanır (36). Ciddi doku hasarı yaptığından intramuskuler yada subkutan uygulanmaz (31).

İnsanlarla ve hayvanlarla yapılan detaylı farmakokinetik çalışmalarda, bazı küçük farklılıkların olduğu görülmüştür. İnsanlarda, Adriyamin plazmadan hızla temizlenir ve önemli oranda dokuya bağlanır. Adriyamin baskın bir şekilde karaciğer yoluyla metabolize edilir. Uygulanan dozun yaklaşık olarak %4-5'inin idrarla dışarı atılması 5 günde olur. Verilen dozun %40-50'sinin safa atılımı 7 günde olur (37). Sıçanlarda ve farelerde, Adriyamin intravenöz uygulamanın

ardından hızlı bir şekilde plazmadan temizlenir, dokularda birikir ve yavaş bir şekilde idrar ve safra ile atılır. Adriyamisin önemli oranda metabolizmaya katılmaz. Adriyamisin (özellikle daunorubisinle karşılaştırıldığında) esasen böbrekte birikir, ama aynı zamanda karaciğerde, kalpte ve incebağırsakta da bulunur (38). Bu durum belki de Adriyamisinin, daunorubisinle karşılaştırıldığında daha büyük nefrotoksisiteye ve daha geniş terapötik indekse sahip olmasını açıklar.

1.2.3. Doksorubisinin Yan Etkileri

1.2.3.1. Genel yan etkiler

Kemoteropötik ilaçların kullanımı sırasında en büyük kaygı toksisiteleridir. Kullanılan ilaçların toksisite durumlarının bilinmesi ve izlenmesi gerekmektedir (39).

Doksorubisin verilen hastaların neredeyse tamamında alopesi görülür ve tedavi bitiminden 2-3 ay sonra normale döner. Çok hızlı verildiği takdirde yüzde flushing ortaya çıkar. Fotosensitiviteye neden olabilir (36). Tırnak yatağında hiperpigmentasyon veya bantlaşma meydana gelebilir.

Doksorubisine bağlı kemik iliği supresyonu en sık doz ayarlanmasına neden olan yan etkisidir. Lökopeni tedavinin 2. haftasında ortaya çıkar ve 4. haftanın sonlarında hücreler yükselir. Toksik etkisi ilacın dozuna ve kemik iliğinin rejenerasyon kapasitesine bağlı olarak değişir (31). Trombositopeni ve anemide görülebilir (40).

Stomatit, gastrointestinal mukozit, alopesi sık görülen ancak geridönüşümlü yan etkilerdir (29).

İlaç bir kaç gün süreyle verildiğinde risk mukozit riski artar. Genellikle tedavinin 2. haftasında meydana gelir ve 3-7 gün içinde geriler (31).

Ateş, döküntü ve ürtiker'e neden olabilir. Nadiren anafilaksi meydana gelebilir (36). Doksorubisine bağlı hipersensitivite reaksiyonlarının sıklığı %3-21 arasında bildirilmiştir (41).

Doksorubisin tedavisi gonadları baskılayarak oligospermi, azospermi veya amenoreye neden olabilir (36).

Gastrointestinal sistem üzerinde bulantı, anoreksiya ve ishale neden olabilir, kolonda ülserasyonlar ve nekroz ortaya çıkabilir (36).

Doksorubisinin damar dışına kaçıışı ciddi ve geri dönüşümsüz doku hasarına sebep olur (42). Ekstravazasyon dediğimiz bu durum; yanma ve hassasiyet gibi

semptomlarla ortaya çıkabileceği gibi hiçbir şikayete neden olmayabilir (31). Ağrı ve lokalize inflamasyondan tam kat nekroz ve ülserasyon gibi ciddi hasara kadar değişen şiddette bulgulara neden olabilir (43).

1.2.3.2. Kardiyotoksisite

Tedavinin kesilmesine neden olan en sık yan etkidir. Antrasiklin grubu ilaçların çok sık kullanılmasına karşın, hem kanser tedavisindeki etkisi hem de kalp ve diğer organlar üzerindeki toksisite mekanizması iyi bilinmemektedir. Tedavi sonrasında görülen kardiyotoksisite kümülatif doz bağımlı olup önemli morbidite ve mortalite nedenini oluşturmaktadır. Klinikte daha sık doksorubisin ve daonurubisin kardiyotoksisitesine rastlanılmaktadır. Kardiyotoksisite akut, subakut ve geç dönemlerde ortaya çıkabilmektedir. Akut dönemde; ritm problemleri, hipotansiyon ve kalp fonksiyonlarda bozulma görülebilmektedir. Ortaya çıkan bu sorunlar reversibldır ve kalpte kalıcı hasara neden olmamaktadır (44). Subakut dönem; birkaç hafta ile 30 ay arası zaman diliminde ortaya çıkabilmekte ve bu dönemde kardiyomiyopatiler izlenebilmektedir. Bu dönemde ortaya çıkan hasar kalıcıdır ve %60 oranında ölümle sonuçlanmaktadır (45).

Geç dönem kardiyotoksisite; tedavi verildikten 4 ile 20 yıl sonra görülebilmekte, kardiyomiyopatiler kalp yetmezliği kliniği ile karşımıza çıkabilmektedir. irreversible miyosit hasarı, miyokard kitlesinde azalma ve ilerleyici fibrozis kalp fonksiyon bozukluğuna neden olan etmenlerdir (44, 45).

Antrasiklin tedavisi verilen hastalarda konjestif kalp yetmezliği görülme riski; aldığı tedavi, tanı, yaş ve izlem süresine göre değişiklik göstermektedir. Lefrak ve ark. (46) toplam antrasiklin dozunun $500\text{mg}/\text{m}^2$ nin üzerine çıkıldığı durumunda kardiyomiyopati ve konjestif kalp yetmezliği gelişme riskinin arttığını belirtmişlerdir. Antrasiklin verilen hastalarda konjestif kalp yetmezliği gelişme riski; toplam dozun $500\text{--}550\text{mg}/\text{m}^2$ arasında olması durumunda %4, $551\text{--}600\text{mg}/\text{m}^2$ dozda %18 ve $601\text{mg}/\text{m}^2$ nin üzerindeki dozlarda ise %36'ya çıkmaktadır (47). Toplam doz $550\text{--}600\text{mg}/\text{m}^2$ olması kardiyomiyopati riskini belirgin olarak artırmaktadır, bu nedenle total dozun $500\text{mg}/\text{m}^2$ nin üzerine çıkılmaması önerilmektedir (48).

Kardiyomiyopati ve kalp yetmezliği gelişme riski sadece doz bağımlı olmayıp bu riski arttıran başka faktörler de vardır.

Bunlar; diğer antrasiklinlerle beraber kemoterapi almış olmak, öncesinde yada aynı zamanlı mediastinal/perikardial bölgeye radyoterapi almış olmak, var olan kalp hastalığı öyküsü, genç yada ileri yaşta olmak, karaciğer hastalığı, başka antineoplastik ajanlarla (bevacizumab, siklofosfamid, paklitaksel ve transtuzumab) birlikte kemoterapi almak, miyokard kasılmasını baskılayabilecek ilaçlarla birlikte kullanmak, hipertermi, kadın cinsiyet (özellikle çocuklarda) gibi faktörler artırabilir (36).

Doksorubisine bağlı kardiyotoksisitenin patogenezi tam olarak açıklanamamış, histopatolojik bulguların değişken olması birçok faktörün etkili olduğunu düşündürmüştür (49).

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular, doksorubisine bağlı Kardiyotoksisitenin patogenezinde ağırlıklı olarak serbest radikallerde ve lipid peroksidasyon ürünlerinde artış ve antioksidan enzimlerde azalmanın sorumlu olduğu gösterilmiştir (49, 50).

Patogeneizde kardiyotoksisiteye neden olan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksittir (NO). Serbest radikallerin indüklediği malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin de kardiyotoksisiteye katkıda bulunduğu gösterilmiştir (49, 51).

Doksorubisinin serbest radikal oluşumuna neden olması yanında; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimleri azaltarak kardiyotoksisiteye neden olduğu da gösterilmiştir (49).

1.2.4. Doksorubisin'e bağlı Nefrotoksisite

Böbrekler bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlardır. İlaçların metabolitleride böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerül, tübül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir (4)

Kronik böbrek hastalığının (KBH) pek çok türü glomerüloskleroz, tübülo-interstiyel inflamasyon ve fibrozis gelişmesi ile karakterizedir. DX kemiricilerde iyi bilinen bir böbrek hasarı sebebidir ve bu model insanlardaki primer fokal segmenter glomerüloskleroz sebebiyle oluşan KBH'ı anlamamıza yardımcı olur. Böbrek hasarına sebep olan antrasiklinlerle ilgili ilk yayın Sternberg tarafından 1970'de

yapılmıştır (52). Renal hasar indükleyen andriyaminin tanımı ilk kez sıçanlar hakkında 1976'da (53), farelerle ilgili olarak ise 1998'de yapılmıştır (54). 1977'de, Burke ve ark. doksorubisin uygulanmasının ardından böbrek hasarı gelişen 78 yaşındaki yaşlı bir adam vakası tanımlamışlardır (55). Bunun ardından rodentlerde adriyaminin nefropatisi (AN) etraflıca incelemiş ve bu çalışmalar böbrek hasarı gelişmesinin altında yatan süreci daha iyi anlamamıza olanak sağlamıştır.

1.2.4.1. Patogenez

Adriyaminin, glomerüller'e direkt toksik etkiyle hasarı başlatır ve bunu tübülointerstisyel zedelenme izler. Adriyaminin, glomerüler endotelial hücreleri (glikokaliks dahil), glomerüler bazal membranı ve podositleri içeren glomerüler filtrasyon bariyerlerinde değişikliklere neden olur. Glikokaliks kalınlığı azalır, glomerüler endotelial hücre porlarının boyutu artar, glomerüler yük seçiciliği düşer ve podosit ayakçıkları kaynaşır. Bu değişimler, glomerüler endotelial hücreleri tarafından üretilen glikokaliks bünyesinde bulunan proteoglikanların ve glikozaminoglikanların glomerüler hücre üretimindeki azalmalarıyla ilişkilidir (5).

Adriyaminin kaynaklı böbrek hasarının moleküler mekanizmasını inceleyen farklı çalışmalar da mevcuttur. Artan serbest radikal üretiminin, patogenezde rol oynayan bir mekanizma olduğu görüşü ileri sürülmektedir. Bu görüş, balık asalağı (mixin glutinaz) glomerülleri üzerine yapılan çalışmalarda da desteklenmiştir. Bu çalışmalarda, Adriyaminin, sülfhidril donör N-asetilsistein tarafından tersine çevrilen bir etki olan su geçirgenliğinde görülen azalma ile ilişkili olarak glomerüler ATP'az aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir.. Buna ek olarak, karaciğer, böbrek ve kalpteki glutatyonun (bir antioksidan) azalan düzeyleri ve artan lipid peroksit düzeyleri, Adriyaminin verilmesinden sonra gerçekleşmiştir (6).

Adriyaminin aynı zamanda glomerüller üzerindeki etkisinden bağımsız olarak tübüler hücre kemokin salınımı (CCL2 & CCL5) yoluyla tübülotoksositeye ve reaktif oksijen radikalleri ve/veya Fas/FasL etkileşimleri yoluyla oksidan zedelenmesine neden olur. Bunları ve diğer organların etkisi (miyelotoksosite (56), hepatotoksosite (57) ve kardiyomiyopati (58), potansiyel olarak adriyaminin kaynaklı nefropatiye katkıda bulunur.

1.2.4.2. Yapı ve Fonksiyon

Adriyaminin uygulamasının optimal yolu türe, ırka, cinsiyete, yaşa, kaynak ve gruba (denek grubuna) bağlı olarak değişir. Çoğu sıçan türü adriyaminin renal etkilerine karşı oldukça duyarlıdır. Hayvan modelindeki histolojik değişiklikler insanlarda görülen, podosit füzyonu ile fokal glomerüloskleroz, fokal segmental ve global glomerüloskleroz, tübülo-interstiyel inflamasyon ve fibrozis ile benzerdir (59). Adriyaminin glomerüler endotelyumun incelmeye neden olurken, podositlerin yok olması ile plazma proteinlerinin süzülmesini engelleyecek olan boyut ve yük özellikli bariyerlerin kaybı da bu duruma eşlik eder (5). Bu değişiklikler adriyaminin enjeksiyonundan sonra en erken 1-2 hafta içerisinde görülür ve 4 haftaya kadar da şiddetlenir. Sıçanlarda serum kreatininindeki artış, kreatinin atılımındaki düşüş, azalan serum albümini, dislipidemi ve idrarla atılan protein miktarının artması ile görülen renal fonksiyonun etkilenme durumu kronik böbrek hastalığı ve nefrotik sendromla tutarlıdır.

Adriyaminin dar terapötik indeksi, uygulanan dozdaki çok küçük bir farkın hastalığın şiddetinde potansiyel olarak büyük bir değişmeye yol açmasına sebep olabilir. Erkek sıçanlar adriyaminin başlattığı nefropatiye dişi sıçalardan daha duyarlıdır Sham operasyonu geçiren sıçanlarla karşılaştırıldığında kastrasyonun erkek sıçanları daha az duyarlı hale getiriyor olması, adriyaminle başlayan renal hasar oluşturan patojenlere cinsiyet hormonlarının etki edebildiğini gösterir (60). Renal hasar modeli olarak adriyaminin nefropatisi kullanılacaksa, deneyin dizayn edilmesinde cinsiyet seçimi önemli bir faktördür, çünkü renal hasar şiddetinde fark oluşur.

Wang ve ark. (59)'nın yaptığı deneysel hayvan modelindeki histolojik değişiklikler insanlarda görülen, podosit füzyonu ile fokal glomerüloskleroz, fokal segmental ve global glomerüloskleroz, tübülo-interstiyel inflamasyon ve fibrozis ile benzerdir. Adriyaminin glomerüler endotelyumun incelmeye neden olurken, podositlerin yok olması ile plazma proteinlerinin süzülmesini engelleyecek olan boyut ve yük özellikli bariyerlerin kaybı da bu duruma eşlik eder (5). Bu değişiklikler Lee ve ark. (61)'nin fareler üzerinde yaptığı çalışmada adriyaminin enjeksiyonundan sonra en erken 1-2 hafta içerisinde görülür ve 4 haftaya kadar da şiddetlenir. Sıçanlarda serum kreatininindeki artış, kreatinin atılımındaki düşüş, azalan serum albümini, dislipidemi ve idrarla atılan protein miktarının artması ile görülen

renal fonksiyonun etkilenme durumu kronik böbrek hastalığı ve nefrotik sendromla uyumludur. Bu farelerin böbreklerinin histolojik değerlendirmesi, T ve B lenfositlerinin ve makrofajların süzülmesiyle belirginleşen şiddetli tübülointerstiyel inflamasyon olduğunu göstermektedir (59).

Adriyaminin etkilediği dalakta değil, böbreklerin korteks ve medullalarında CD4+ ve CD8+ hücre miktarının artıyor olması, renal hasar oluşumunda bu hücrelerin doğrudan rolü olduğunu ima eder. Fakat, ağır kombine immün yetmezliği (SCID) olan farelerle (lenfositleri olmayan BALB/c fareleri) yapılan çalışmalar, adriyaminin başlattığı yapısal ve fonksiyonel hasarda lenfositlerin gerekmediğini, fakat bu hücrelerin belli alt popülasyonlarının varlığı yada yokluğu durumunda deneyin modüle edilebildiğini kanıtlamıştır. Yabani tür BALB/c fareleri için gereken dozun (9.8–10.4 mg/kg) yaklaşık yarısı kadar (5.3 mg/kg) adriyamin dozu ile farelerde renal hasar gelişmesi, lenfositlerin bulunmadığı zamanlarda, bu hücrelerin bir alt popülasyonun renal hasar gelişimine karşı koruma sağlamasının olası olduğuna işaret eder. Adriyamin nefropatisinde renal hasara karşı koruyan CD4+CD25+ T hücrelerini temsil eden FoxP3'le yapılan transfer çalışmaları bu duruma daha iyi bir delil oluşturur (62); çünkü CD4+ T hücrelerinin yokluğunda renal hasar ağırlaşır (63). SCID farelerindeki renal hasar şekli yabani tür BALB/c farelerindeki ile benzerdir. Makrofaj süzülmesi glomerüllerde olmasa da tübülointerstisyumda belirgindir (61). Azaltma ve yeniden oluşturma çalışmaları, adriyaminin başlattığı böbrek hasarı patogenezinde pro ve antienflamatuar makrofajların esaslı bir rolü olduğuna işaret eder (63, 64).

1.2.4.3. Deneysel model olarak Avantaj ve Dezavantajları

Böbrek hastalığı deneysel modeli olarak DX nefropatisinin birkaç güçlü yönü vardır. Öncelikle, böbrek hasarı oluşturulabilmesi için oldukça elverişli bir modeldir. Doku hasarının şiddetli olduğu durumlarda dahi buna makul oranda mortalitenin (<%5) ve morbiditenin (kilo kaybı) eşlik ettiği güçlü bir modeldir. İlacın uygulandığı ilk bir kaç gün içerisinde böbrek hasarı başladığından, hasarın oluşma zamanı önceden kestirilebilir. Böbrek hasarı şiddetinin ve oluşma zamanının bilinmesi, böbrek hasarının daha kötüye gitmesini sağlayacak ya da bundan korunmayı gerektirecek müdahalelerin sınanması açısından faydalıdır. Hasarın yapısal ve fonksiyonel özellikleri insanlarda görülen kronik proteinürik renal hastalıkla

benzerlik gösterir. En azından bu model sıçanlar ve farelerde benzerdir. Rodent modeller bir hastalığın incelenmesinde son derece faydalıdır. Kemirgenler kısa üreme dönemleri, kolay (ve ucuz) yoldan elde edilebilen denekler olmaları ve genetik manipülasyona uyumluluklarıyla bilinirler (65).

Doksorubisin nefropatisinin deneysel model olarak kullanılmasında bazı kısıtlamalar vardır. Belli DX gruplarında diğerlerinden daha düşük şiddette renal hasar meydana geldiğinden grup değişkenlikleri oluşur. Bir deneye başlamadan önce yeni bir seriyi test etmek tavsiye edilmektedir. Adriyamisin dar bir terapötik indekse sahiptir, bu sebeple optimum dozdan daha az ya da daha fazla verilmesi renal hasarın oluşmamasına veya ölümle sonuçlanan toksisiteye yol açabilir. Tutarlı ve kolay üretilen bir model olmasına rağmen, ilaca verilen cevapta halen daha bazı bireysel değişiklikler oluşur, bu durum aynı tür kemiricilerde dahi görülebilir (61).

1.3. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri

1.3.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; herhangi bir sebepten dolayı oksidan yapımında artış ve antioksidan savunma sistemlerinde yetersizlikten dolayı aradaki dengenin bozulması ile oluşan doku hasarı olarak tanımlamaktadır (66). Bu sistem insanlarda pekçok patolojik sürecin oluşmasında, ilerlemesinde ve komplikasyonların meydana gelmesinde önemli rol oynar. Oksidatif stres ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu oksijenin indirgenmesiyle meydana gelen serbest radikallerin biyolojik ve kimyasal özellikleriyle alakalıdır. Oksijen, serbest radikallerin ana kaynaklarından birisidir. Serbest radikaller sadece oksidan özellik göstermez ve yalnız oksidatif stresten sorumlu değildirler. Aynı zamanda birçok biyokimyasal reaksiyon ve hücre iletim sistemindedir rol oynarlar (67, 68).

Oksidatif stresin hücredeki asıl hedefleri çoklu doymamış yağlar, şekerler, proteinler ve nükleik asitlerdir. Oksidatif stres, hücre döngüsüne etki ederek hücrenin ölümüne sebep olur (69).

1.3.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller; paylaşılmamış bir veya birden fazla elektrona sahip molekül veya atomlar olup, paylaşılmamış elektronun üzerinde olduğu oksijen molekülleridirler (70). Serbest radikallerin aktiviteleri birbirinden farklıdır. Hidroksil

(HO-) gibi bir kısım radikaller yüksek aktiviteye sahipken, tokoferoksil gibi diğer bileşiklerin aktiviteleri daha düşüktür. Serbest radikallerin hedef molekülle kompleks oluşturma reaksiyonları üç evrede meydana gelir. Bu evreler; başlangıç, ilerleme ve sonlanmadır. Serbest radikaller, substrata ve bulunduğu fiziksel artışlara göre farklı etkinlik gösterirler. Bir serbest radikal, bir maddeyi hem oksidant hemde redüktant olarak kullanabilir. Reaksiyonun oluşma hızı; ortamdaki sıcaklık, pH ve katalizörlere bağlıdır (71).

Organizmadaki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşurlar. Oksijenin dış yörüngesine, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron eklenmesiyle, serbest oksijen radikali oluşur. Bu bileşikler de son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içerdikleri için kolayca diğer moleküllerle reaksiyona girip organizmada çok etkili bir hasar oluşturabilen bileşikler oluştururlar. Oluşan bu toksik bileşikler farklı mekanizmalarla ortadan kaldırılmaya çalışılır. Bunlar; koruyucu, tamir edici, fiziksel ve antioksidan savunma sistemleridir (72).

İnsan vücudunda farklı reaktif oksijen bileşikleri üretilmektedir. O_2 -moleküler oksijene özellikle elektron transport sisteminde bir elektron katılmasıyla üretilir. Ksantin oksidaz, nitrik oksit sentaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz gibi enzimler O_2 'yi endojen olarak üretebilir (73). H_2O_2 spontan olarak O_2 'ye bir elektron katılmasıyla veya mikrozom ve peroksizomlarda mevcut bazı enzimler tarafından üretilir (74). H_2O_2 fenton reaksiyonu olarak adlandırılan metaller (Fe^{+2} , Cu^{+}) tarafından katalize edilen ve OH oluşumunu sağlayan yol için bir öncüdür. H_2O_2 aynı zamanda miyeloperoksidaz (MPO) tarafından katalizlenen ve hipoklorik asit (HOCl) oluşumunu sağlayan yolda da öncüdür (75). Reaktif oksijen bileşiklerinin hücrelerde oluşturduğu hasarı tespit etmek amacıyla kullanılan farklı oksidatif stres markırları bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi de lipid peroksidasyonunu tespit etmek için kullanılan malondialdehit (MDA)'dır (76).

Malondialdehit, Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (72, 77, 78.)

1.3.2.1. Serbest Radikallerin Lipitlere Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipit peroksidasyonu (LPO) olarak adlandırılan lipitler üzerindeki etkileridir. LPO, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zarların yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (77). Lipit peroksitleri hücre zarlarının önemli bir bileşeni olup demir (Fe), bakır (Cu) gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini oluşturular. Bu nedenle Fe veya Cu tuzlar lipit peroksidasyonunu hızlandırırlar. Sonuçta hücre zarının ak kanlı ve geçirgenliğini bozarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranlarda oluşan hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına ve hücre içi sindirime yol açar. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntıları da (sistein, histin, methionin, lizin) okside edebilir veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (79, 80).

1.3.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek

Bazı nefrotoksik ajanların böbrekteki toksik etkisi süperoksit anyonu (O⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), peroksinitrit (ONOO⁻), hidroksil radikali (OH⁻) ve hipoklorik asit (HOCl⁻) gibi hücredeki normal metabolik işleyiş sırasında ortaya çıkan, paylaşılmamış bir veya daha fazla elektronu olan atom ya da moleküllerden oluşan serbest radikal üretimi ile olur. Oksidatif stres kaynaklı böbrek hasarı glomerüler, tübülointerstisyel ve endotelyal değişiklikleri içerir (81).

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin akut-kronik ve/veya immün-nonimmün böbrek hastalıklarının patofizyolojisinde önemli oldukları ortaya konmuştur (82). Patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünülen böbrek hastalıkları;

a- Glomerüler hastalık

- Minimal değişiklik hastalığı
- Membranöz glomerülopati
- Nötrofil bağımlı hasar, antiglomerüler bazal membran nefriti

b- Akut böbrek yetmezliği

- Postiskemik hasar
- ilaçlara bağlı toksik hasar
- Kontrast nefropati, miyoglobininüri/hemoglobininüri, radyasyon

c- Obstruktif nefropati

d- Pyelonefrit

e- İlerleyici böbrek yetmezliği

yapılan çalışmalarda böbrek dokusunda veya idrarda artmış oksidatif stres ürünlerinin tespit edilmesi ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörlerinin verilmesiyle koruyuculuğun deneysel olarak saptanması ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogeneğinde rolü olduğu gösterilmiştir. Yapılan iskemi ve inflamasyon ile ilgili deneysel hayvan modellerinde reaktif oksijen bileşenlerinin glomerüler hasara neden olduğu ortaya konmuştur (82).

1.3.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin sebep olduğu hasarı sınırlayan, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (83). Antioksidan maddeler endojen, eksojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (84). Tablo 1’de antioksidan maddelerin sınıflaması gösterilmiştir.

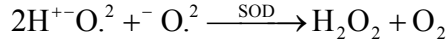
Tablo 1. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması

I-Endojen antioksidanlar
1-Enzim olanlar
a-Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
b-Süperoksid dismutaz
c-Katalaz
d-Glutatyon peroksidaz, Glutatyon –S-transferaz
e-Hidroperoksidaz
2-Enzim olmayanlar
a-Lipid fazda bulunanlar
i - α - tokoferol (E vitamini)
ii- β - karoten
b-Sıvı fazda bulunanlar: Askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutatyon
II- Eksojen Antioksidanlar (ilaçlar)
Ksantinoksidaz İnhibitörleri: Tungsten, allopurinol, oksipurinol, folik asit
NADPH Oksidaz inhibitörleri: Adenozin, lokal anestetikler
Rekombinant Süperoksid Dismutaz
Endojen antioksidan aktiviteyi arttıran maddeler: Ebselen, asetilsistein
Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol, albumin
Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferoksamin, seruloplazmin
Sitokinler: Tümör nekroz factor(TNF), IL-1
Demir şelatörleri
III- Gıda antioksidanları
1- Butylated Hydroxytoluen(BHT)
2- Butylated Hydroxyanisone (BHA)
3- Sodyum Benzoat
4- Fe-Süperoksid Dismutaz

1.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

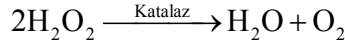
1. Süperoksid Dismutaz (SOD): Bu enzim çok etkili bir hücre içi enzimatik antioksidandır. Süperoksit radikallerinin daha az toksik etkili hidrojen peroksit'e dönüşmesini katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır (85).

Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir.



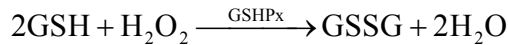
Bu enzimin fizyolojik işlevi, oksijeni katabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece, lipid peroksidasyonunu baskılar (86).

2. Katalaz (CAT): Katalaz yapısında içerdiği hem grubundan dolayı hemoprotein olarak kabul edilmektedir (87). SOD enzimi faaliyeti sonucunda meydana gelen toksik H_2O_2 , “katalaz” enzimi etkisiyle su ve oksijene dönüştürülmektedir (88).



Kan, kemik iliği, mukoz membranlar, karaciğer ve böbreklerde yüksek miktarda bulunmaktadır (89).

3. Glutasyon ve Glutasyon Peroksidaz (GSHPx): Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar vasıtasıyla ve serbest radikalleri yakalayarak görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyol grubu taşıyan glutasyon, serbest radikallerin verdiği hasarı engelleyen veya azaltan birçok enzimin substratı olarak görev yapar. Glutasyon aynı zamanda biyolojik membranları lipid peroksidasyonuna karşı korur. Bu koruma, enzimatik olarak gerçekleşir (90). Glutasyon Peroksidaz (GSHPx) enzimi, glutasyonun indirgenmiş formunu (GSH), oksitlenmiş hale (GSSG) dönüştürmektedir. Aktivitesi için Selenyum'a (Se) ihtiyaç duyar.



Glutasyon aynı zamanda hücre içinde birçok zararlı oksidanla enzim katalizi olmaksızın da reaksiyona girmektedir (91).

4. Glutasyon Redüktaz (GSSG-R): Hidroperoksitlerin redükte olması esnasında meydana gelen okside glutasyon (GSSG), GSSG-R'nin katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte hale (GSH) dönüşür. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (92).



5. Glutasyon S-Transferaz (GST): “Se mineraline bağılı olmayan GSH-Px” olarak isimlendirilir. Membran LPO’nu sadece fosfolipaz A2 olduğunda inhibe eder. Öncelikle araşıdonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı Se bağımsız GSH-Px gibi etki ederek antioksidan etki gösterir (93).

1.3.4.2. Enzimatik olmayan Antioksidanlar

1. Askorbik Asit: Askorbik asit, suda çözünen bir vitamin olmakla beraber lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini engelleyerek, lipitleri oksidasyona karşı korur. Antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. Askorbik asit fagositoziğin de gereklidir. Bu vitaminin kemotaktik cevabı artırdığı saptanmıştır. Askorbik asit, antioksidan etkileri yanında organizmada fenton reaksiyonunda ferri demiri ferro demire indirgeyerek hidrojen peroksitle etkilemeye uygun olan süperoksit radikalının üretimine neden olur ve bu etkisi sebebiyle askorbik asit aynı zamanda prooksidan olarak kabul edilmektedir; fakat bu etkisi sadece düşük konsantrasyonlarda olup, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidandır (94).

2. β-Karoten (Vitamin A ön maddesi): β-karoten yağda çözünen bir antioksidan olarak serbest radikalleri biyolojik hedeflerle reaksiyona girmeden direkt yakalayabilir. Aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak da etki ederek peroksit radikallerin oluşumunu engeller (95).

3. Vitamin E (α-Tokoferol): E vitamini yağda çözünen bir vitamindir ve dokularda en önemli zincir kırıcı antioksidandır. Lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasıdır. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipitlerinin E vitaminine affinitesi çok yüksektir. Tokoferoller fenolik bir hidrojeni peroksidasyona uğramış bir doymamış yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktararak serbest radikal zincirreaksiyonlar kırılmasını sağlarlar (96).

Polifenoller, Seruloplazmin, Albümin, Ürik Asit, Bilirubin Transferin ve Laktoferrin diğeri bilinen Nonenzimatik antioksidanlardır.

1.4. Transient reseptör potansiyel (TRP) ailesi

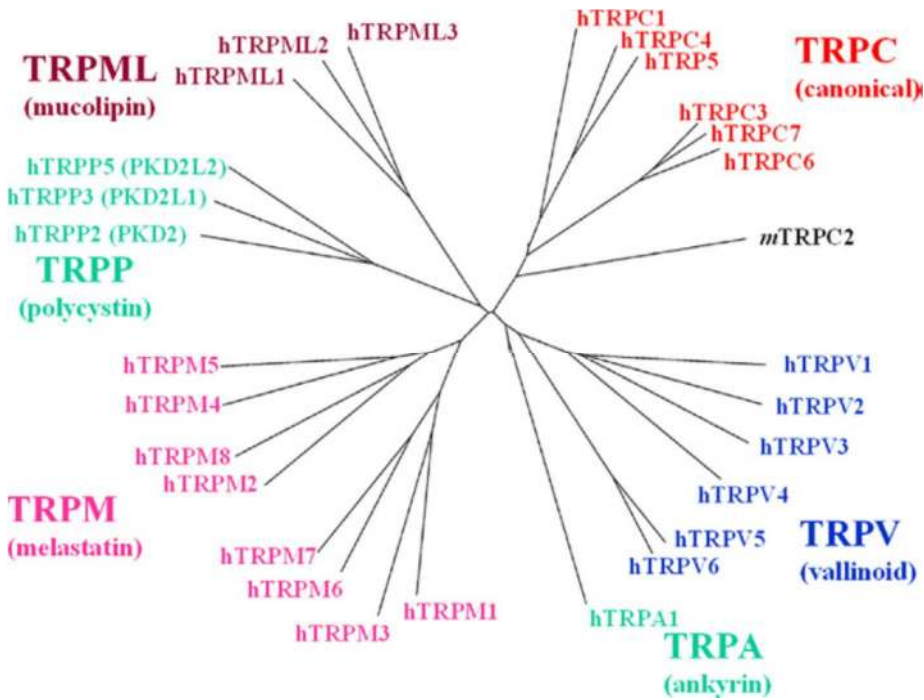
Transient receptor potential (TRP) kanalları ilk olarak 1989 yılında *Drosophila* türü sirke sineklerinin göz hücrelerinde keşfedilmiştir. TRP gen

bölgelerinde mutasyon taşıyan ışığa duyarlı fotoreseptörlerin sürekli ışığa maruz bırakılmasıyla bir aralıklı voltaj farklılığı göstermektedir (16).

Transient reseptör potansiyel kanalları, memelilerden omurgasızlara, canlı organizmalarının farklı dokularında proteinlerin çeşitli bir grubunu oluşturmaktadır (97). Kalsiyum sinyalinde TRP kanalları, iyon kanallarının yeni bir grubunun prototip üyeleridir. İlk olarak fotoreseptör hücrelerinde gösterilen bu TRP kanallarının, omurgalılarda sıkça bulunan voltaj kapılı kalsiyum kanallarıyla benzerlikler taşıdığı görülmüştür (98).

Transient reseptör potansiyel kanalları, renal Ca^{+2} -Mg iletimi, kan basıncının düzenlenmesi, tadın, kokunun, sesin algılanması, gen ekspresyonu ve salgılanması, apoptozis gibi önemli hücresel süreçlerde ve yaygın olarak bilinen 2. haberci mekanizmada, iyon giriş çıkışı gibi pekçok önemli mekanizmada rol oynar. Yapılan genetik araştırmalar sonucu, amino asitbenzerliklerine göre TRP kanalları 7 alt aileye ayrılmıştır. Bunlar: TRPC (canonical), TRPM (melastatin), TRPV (vanilloid), TRPA (anykrin zengin protein), TRPP (polisistatin), TRPML (mukolipin), TRPN (nompc) olarak adlandırılmıştır.

Bu kanalların aktivasyon mekanizmaları ve bulundukları organlar farklıdır. Örneğin beyin ve nöron hücrelerinde bulunan, daha çok TRP melastatindir (16, 97, 99).



Şekil 5. TRP kanalları

Transient reseptör potansiyel kanalları ya direkt olarak plazma membranındaki kalsiyum (Ca^{+2}) giriş kanalları gibi davranmakta ya da Ca^{+2} giriş kanallarının modülasyonu için itici güç olan membran potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime yardımcı olmaktadır (100, 101).

1.4.1. Transient reseptör potansiyel melastatin (TRPM) kanalları

Transient reseptör potansiyel melastatin, TRPalesinin ilk tanımlanan üyesi olup, melastatin bir tümör baskılayıcı protein olarak bildirilmiştir. TRPM alt ailesinin biyofiziksel ve fizyolojik özelliklerine göre birbirinden farklı 8 üyesi vardır (17, 102).

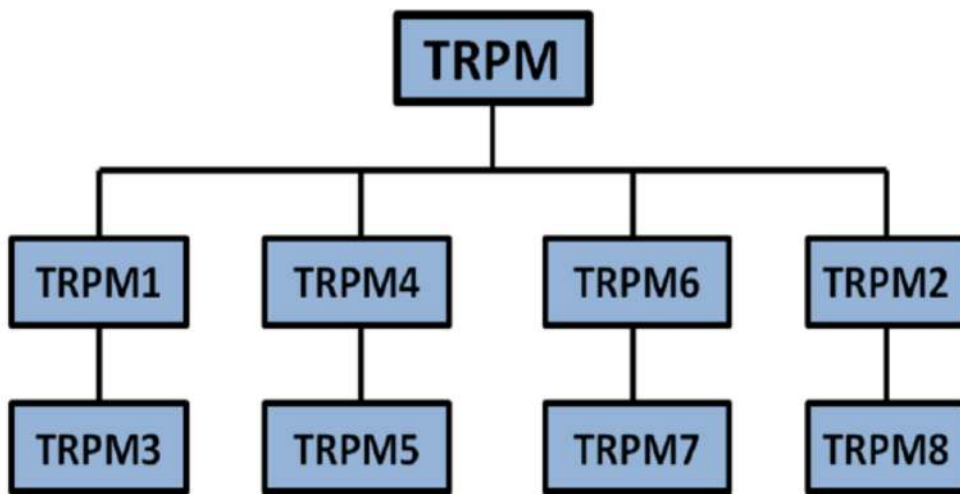
Bu sekiz üye 4 ana grup halinde sınıflandırılmıştır;

1. Grup; TRPM1 ve TRPM3 bu sınıfta yer almaktadır. Özellikle TRPM3'ün Ca ile aktive olduğu bildirilmiştir.

2. Grup; TRPM6 ve TRPM7 bu sınıfta yer almaktadır. Bunların da COOH-terminal serin ve treonin ile aktive olduğu bildirilmiştir (103)

3. Grup; TRPM4 ve TRPM5 yer almaktadır. Bu kanalların Ca^{+2} 'a geçirgen olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca TRPM5'in tat hücrelerinde iletimle ilgili görevi olduğu bilinmektedir.

4. Grup; TRPM2 ve TRPM8 de bu sınıfta yer alıp TRPM2'nin ADP-Riboz, oksidatif stres ve ısı ile aktive olduğu; TRPM8'in de soğuk reseptörleri ile aktive olduğu bildirilmiştir (99).



Şekil 6. TRPM kanalları ana grup ve üyeleri

1.4.1.1. TRPM2 Katyon Kanalları

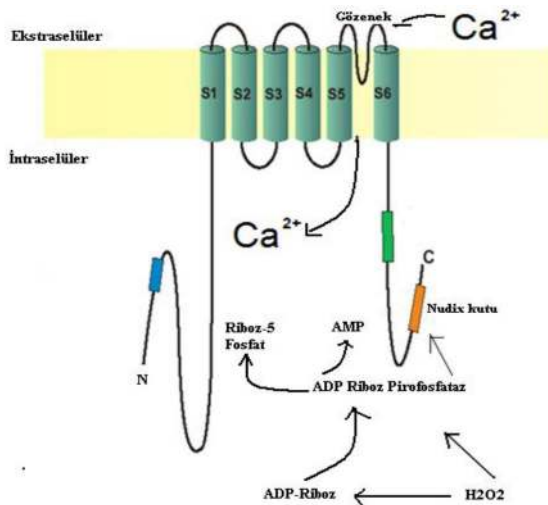
Bu kanalların varlığı başta beyin ve kemik iliği olmak üzere böbrek, bağırsak, karaciğer, akciğer, testis, prostat, pankreas, iskelet kası, lökositler ve arka kök gangliyonları gibibir çok doku ve hücrede gösterilmiştir (18). TRPM2 kanalları ya plazma zarındaki Ca^{+2} giriş kanalları gibi davranarak ya da Ca^{+2} giriş kanallarının düzenlenmesi için itici güç olan, zar potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime katkı sağlayarak, etkilerini gösterirler (104).

Metabolizma sonucu üretilen H_2O_2 'nin hücre içerisine girmesi sonucu TRPM2 kanalları aktive olur. Bu kanalların aktivasyonunun hücre içine Ca^{+2} iyon girişini artırdığına inanılmaktadır (105, 106).

Hücre içi Ca^{+2} iyonu artışı hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasından, hücre ölümüne kadar varabilen çeşitli patofizyolojik olayların başlamasına sebep olmaktadır. Apoptotik hadise, mitokondrialmembran hasarı, sitokrom C açığa çıkması ve kaspaz-3 bağımlı kromatin yoğunlaşması/ayrışması ile sonuçlanan mitokondriyal Na^+ ve Ca^{+2} 'un fazla yüklenmesini içeren klotrimazol-sensitif NAD^+/ADP riboz/poli ADPR polimeraz (PARP)-bağımlı TRPM2 kanallarının aktivasyonu sonucunda meydana gelir (107).

Aktif TRPM2 katyon kanallarının açılması üzerinde, üç hücre dışı etkenin rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar; Oksidatif stres, ADPR (ADP Riboz)/ NAD^+ (Nikotinamid Adenin Dinükleotid) metabolizması ve tümör nekrozfaktör alfa dır. (105).

TRPM2, H_2O_2 aracılı endotel hücresi ölümünde anahtar moleküldür (19).



Şekil 7. TRPM2 katyon kanallarının segmental yapısı

1.5. *Elettaria Cardamomum* (Kardamom)

Elettaria cardamomum (Kardamom) ülkemizde kakule adı ile bilinen zencefilgiller ailesinden Batı ve güney Hindistan gibi sıcak bölgelerde yetişen, tohumları baharat olarak da kullanılan bir bitkidir. Yakın Doğu ülkelerinde tohumu kahve tohumu ile birlikte toz haline getirilerek kullanılmaktadır (7). Tüm dünyada yaygın olarak tatlandırıcı ve katkı maddesi özelliğinden faydanılan bir ajandır. Bu ajan insanlar tarafından yaygın olarak gastrointestinal hastalıklar, kalp hastalıkları, böbrek hastalıkları, astım, bronşit ve halitozis gibi durumlarda kullanılmaktadır (8).

Pek çok hastalığın tedavisi için bitkilerin kullanımına olan ilgi giderek artmakta ve bitkilerle tedavi yaygınlaşmaktadır. Bitkilerle ve bitki ekstraktları ile yapılan çalışmaların sayısındaki artış da bu düşüncüyü desteklemektedir. Beslenme antioksidan temsilcilerinden en önde gelenler; karotenoidler, askorbat, tokoferol ve flavonoidlerdir (108). Zencefilgiller ailesinden olan Kardamom Güney Asya kökenli, çok yıllık, çalimsı, 2-4 m boylu, büyük yapraklı, beyaz çiçekli bir bitkidir. Kardamom, başlıca Güney Hindistan, Sri Lanka, Tazmanya ve Guatemala'da yetişmektedir (109). Meyveleri 7-15 mm uzunlukta ve 6-8 mm genişlikte, oval, üç köşeli, sarı-yeşil kapsüllüdür. Her meyvede 3 mm uzunluk ve 2 mm genişlikte, kırmızımsı siyah, köşeli, 15-20 adet tohum bulunur. Tatlımsı, aromatik, keskin bir kokusu vardır ve acımsı bir lezzete sahiptir. Baharatı uçucu yağ, sabit yağ ve reçine içerir. 100 g baharatta 311 kcal enerji, 8.3 g su, 10.8 g protein, 6.7 g yağ, 68.5 g karbonhidrat, 11.3 g lif, 5.8 g kül, 383 mg Ca, 14 mg Fe, 229 mg Mg, 178 mg P, 1119 mg K, 18 mg Na, 7 mg Zn ve 1 mg Niasin bulunmaktadır. Uçucu yağ 1,8-sineol (%25-45), α -terpinil asetat (%28-34), α -terpineol, jeranil asetat, nerolidol, linalol, linalil asetat, nerol, borneol, metil heptenon, neril asetat ve monoterpenlerden oluşmaktadır (110). Kardamom Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu ve Zn gibi değişken bileşimler içermektedir (111). Uçucu yağ da sineol içermektedir. İştah açıcı ve gaz söktürücü etkileri bulunan Kardamom Yakın Doğu ülkelerinde kakule tohumu, kahve tohumu ile birlikte toz edilerek kakuleli kahve olarak tüketilmektedir (7). Farklı hayvan çalışmalarında kardamom'un antioksidan, antihipertansif, gastroprotektif, antispazmolitik, antibakteriyel, antiagregan, antikanser özellikleri gösterilmiştir.

Kardamomun kullanım alanları ve etki meknizmaları:

Antioksidan Etkileri: Kardamom ortalama seviyelerde (50-100 mg) antioksidan etki gösteren fenolik ve flavonoidlere sahiptir (112). Toplam fenolikler biyokimyasal olarak, flavonoidler quercetin, kaempferol, luteolin ve pelargonidinin toplamı olarak ölçülmüştür. Kardamom özleri ayrıca pro-oksidan olarak saptanmıştır (113). Kardamomun (*Amomum subulatum*) antioksidan etkisini ortaya koymak için hepatik ve kardiyak antioksidan enzimler, glutatyon (GSH) içerik ve lipidle konjuge boyalar kardamomla beraber yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda çalışılmış (114). Antioksidan enzim aktivitesinin anlamlı olarak arttığı, buna karşılık GSH içeriği belirgin olarak kardamom ile birlikte yağlı beslenen ratlarda onarıldığı gözlenmiştir. Ek olarak kardamom lipidler ile konjuge boyaların ve peroksidasyonun primer ürünü olan hidroperoksidazların artışına kısmen karşı koyduğu, kardamomun antioksidan etkisini antioksidan enzimleri aktive etmek suretiyle gösterdiği anlaşılmıştır.

Antiinflamatuvar Etkileri: Kardamom yağı iyon çiftleşmiş diklofenak sodyum için maksimum (10 kat) invitro geçirgenlik artışı sağlar (115). Kardamomun antiinflamatuvar etkisi, Deneysel olarak carrageenan'ın indüklediği rat pençesi ödemindeki çözülme (12 saatte kadar) üzerindeki etkisi diklofenağın subkutan enjeksiyonu ile kıyaslanmıştır. Yapılan çalışmada carrageenan ile indüklenen pençe ödeminde anlamlı azalma sağlandığı saptanmıştır. *Ellettaria cardamomum* tohumundan ticari olarak üretilmiş yağın antiinflamatuvar aktivitesinin bakıldığı karşılaştırmalı bir çalışmada yağın 175 ve 280 microL/kg'ı ve indometazinin 30 mg/kg'ı carrageenan'ın erkek albino ratlarda indüklediği akut plantar ödeminde uygulanması sonrasında etkisinin belirgin olduğu gösterilmiştir (116).

Antikanser Etkileri: Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında, kardamomun sulu süspansiyonunun deneysel olarak oluşturulmuş kolon kanserinde koruyucu etkisi olduğu ortaya konmuştur (117).

Kardamom özünün invitro mikrozomal enzim aracılı reaksiyonla aflatoxin B1 ile oluşturulan DNA bağlarının formasyonunu suprese edebilme yeteneğinin test edildiği bir çalışmada Yağın bağ formasyonunu anlamlı ve doz bağımlı olarak inhibe ettiği ortaya konmuştur. Bağ formasyonunun mikrozomal enzim etkisi ile modüle edildiği görülmüştür; çünkü aktive edilmiş metabolit formasyon üzerindeki efektif inhibisyon yağ ile gözlenir. Enzimatik modulasyon belki yağdaki kimyasal bileşen

nedeniyle olmakta ve onların potansiyel antikarsinojenik rolü için temel bir form oluşturmaktadır (118).

Analjezik Etkileri: *Elettaria cardamom*un tohumundan ticari olarak elde edilen yağın analjezik aktivitesini gösteren ve p-benzoquinone'nin kimyasal uyarıcı olarak kullanıldığı bir çalışmada 233microL/kg yağ %0.02 p-benzoquinone solüsyonunun fare peritonunda oluşturduğu acıya karşı %50 koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (116).

Trombosit Agregasyon Etkileri: Kardamom trombosit agregasyonunu engelleyerek antiagregan etki gösterir. Kardamom konsantrasyonundaki artış malondialdehit formasyonunda anlamlı düşüşe neden olur. Kardamomun sıvı ekstresi trombositleri agregasyon ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyacak komponentlere sahiptir (14).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde yapıldı. Çalışmanın yapılabilmesi için gerekli olan etik onayı 30.01.2013 tarih ve 47 sayılı kararı ile Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada FÜDAM'dan temin edilen 8 haftalık Wistar Albino cinsi, 24 adet erkek (220-280g) rat kullanıldı. Ratlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Grupların kendi içinde homojen olmasına ve gruplardaki rat ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek gruplar oluşturuldu. Çalışmamızda kullanılacak ratlar 21° C oda ısısında 12 saat ışık (7: 00-19: 00) ve 12 saat karanlıkta (19: 00-7: 00) tutulacak özel olarak yaptırılan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler çelik kaplarda, su cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Gruplarda bulunan bütün ratlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu. Tüm gruplara aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su, yiyecek alımları sağlandı ve hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapıldı. Sıçanlar Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler şeklindeki sıçan yemleriyle beslendi. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Deney hayvanlarının deneysel uygulama yapılıncaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 2. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri

Buğday	(%) 15
Mısır	(%) 10
Arpa	(%) 27
Kepek	(%) 8
Soya	(%) 29,4
Balık Unu	(%) 8
Tuz	(%) 0,6
Kavimix VM 23-Z	(%) 0,2
Methionin	(%) 0,2
DCP	(%) 1,6

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sıçanlar; kontrol (grup 1), doksorubisin (grup 2), doksorubisin+kardamom (grup 3) ve kardamom (grup 4) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol grubu) (n=6): On dört günlük çalışma süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2 (Doksorubisin grubu) (n=6): Deneyin 1.günü doksorubisin hidroklorid (C₂₇H₂₉NO₁₁HCl) (Doxo Teva 50 mg flakon) 15 mg/kg i.p. tek doz uygulandı.

Grup 3 (Doksorubisin+Kardamom) (n=6): Deneyin 1.günü doksorubisin hidroklorid (C₂₇H₂₉NO₁₁HCl) (Doxo Teva 50 mg flakon) 15 mg/kg i.p. tek doz uygulandı. Daha sonra deney süresince kardamom 500 µl /kg/gün oral olarak verildi.

Grup 4 (Kardamom grubu) (n=6): Deney süresince kardamom oral olarak 500 µl/kg/gün dozunda verildi.

2.3. Örneklerin Alınması

Bütün gruplardaki sıçanlar deney sonundaki ketamin (75 mg/kg)+xylazine (10 mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarılıp histolojik çalışma için %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve MDA çalışması için çalışma gününe kadar -800C'de saklandı.

2.4. MDA düzeyinin saptanması

Malondialdehid analizi 0.42 gr Tris-base + 1.43 Tris-HCl +3 gr KCl ve 0.5 ml Tween 20, 250 ml distile suda hazırlandı. Hazırlanan bu tampon örneklerin homejenatında kullanıldı. 1 gr doku üzerine 5 ml tampon ilave edildi ve homojenizatör (Ultra-Turax T25, IKA–Labortechnik) yardımıyla doku tamamen parçalandı. Homejenat 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmından 1 ml yeni bir tüpe alındı. Alınan 1 ml örnek üzerine 1 ml %10'lik TCA (Tri-kloro asetik asit), 1 ml %0,067 TBA (2-Thio barbitürik asit), 1 ml distile su ve 0.5 ml %4'lük HCl ilave edildi.

Hazırlanan karışım 90°C de 120 dak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Tüpler 5 dak. 5000 rpm'de santrifüj edildi ve oluşan süpernatanttaki

kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alındı ve bütanole karşı 532 nm’de okundu (219).

2.5. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, Cat No: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 4).

Tablo 3.TUNEL boyama prosedürü

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80,%70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1: 500dilüsyondakiProtinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojenperoksidaz blokağı (%3 H2O2)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl ReactionBuffer + %30 TdTEzyme)37°C’de	60 dakika
12	Stop/WashBuffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB DilutionBuffer+ DAB Substrate	5-10dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	

Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksisenile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplandı. Skala bar: 50µm.

2.6. İmmünohistokimyaMetodu

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu ile 5 dakika muameleden sonra primer antikor (Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK)ile 60 dakika inkübe edildi.

Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Sekonder antikor uygulanmasından sonra Streptavidin Alkaline Phosphatase (TS-060-AP, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra distile su içerisine alındı. Dokulara Fast Red Substrate System (TA-125-AF, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak distile su ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksisen ile zıt boyaması yapılan dokular distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 4).

Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Az
+2	Orta
+3	Şiddetli

2.7. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri student T “paired” ve one-way ANOVA testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. MDA düzeyi

Spektrofotometrik olarak ölçülen doku MDA düzeyleri, kontrol ve Kardamom gruplarında benzerdi. Kontrol ve Kardamom gruplarıyla kıyaslandığında Doksorubisin grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). Doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında Doksorubisin+ Kardamom verilen grupta böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.05$) (Tablo 5)

Tablo 5. MDA düzeyleri

	MDA (ortalama $\pm$ standart sapma)
Kontrol	132,65 $\pm$ 4,42
Doksorubisin	252,74 $\pm$ 3,06 ^a
Doksorubisin+ Kardamom	200,36 $\pm$ 45,22 ^b
Kardamom	119,88 $\pm$ 11,64

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

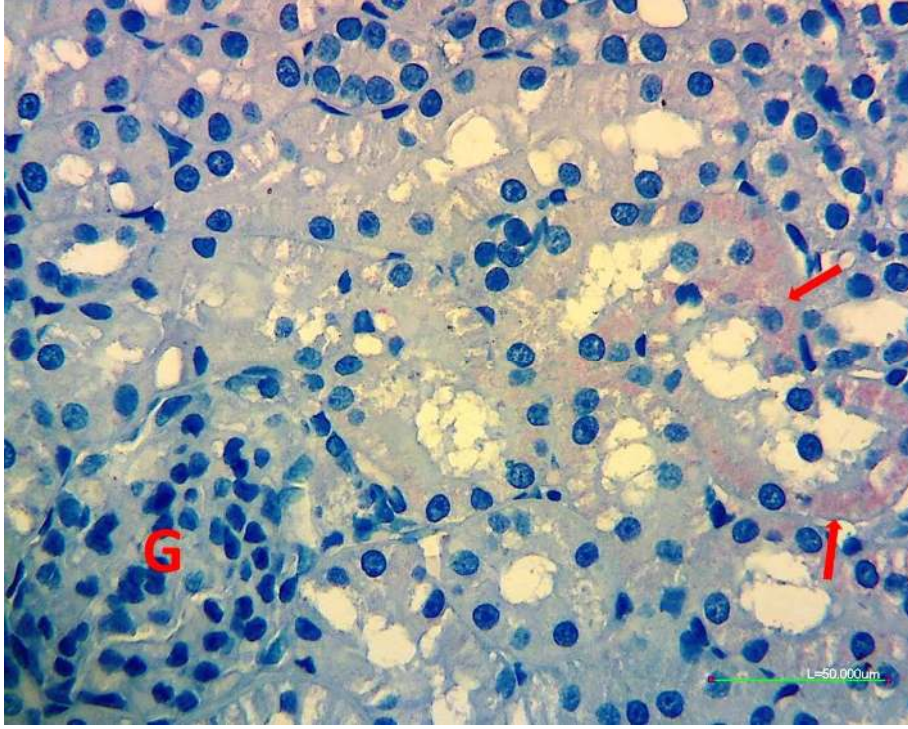
a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında

b. Doksorubisingrubuile karşılaştırıldığında

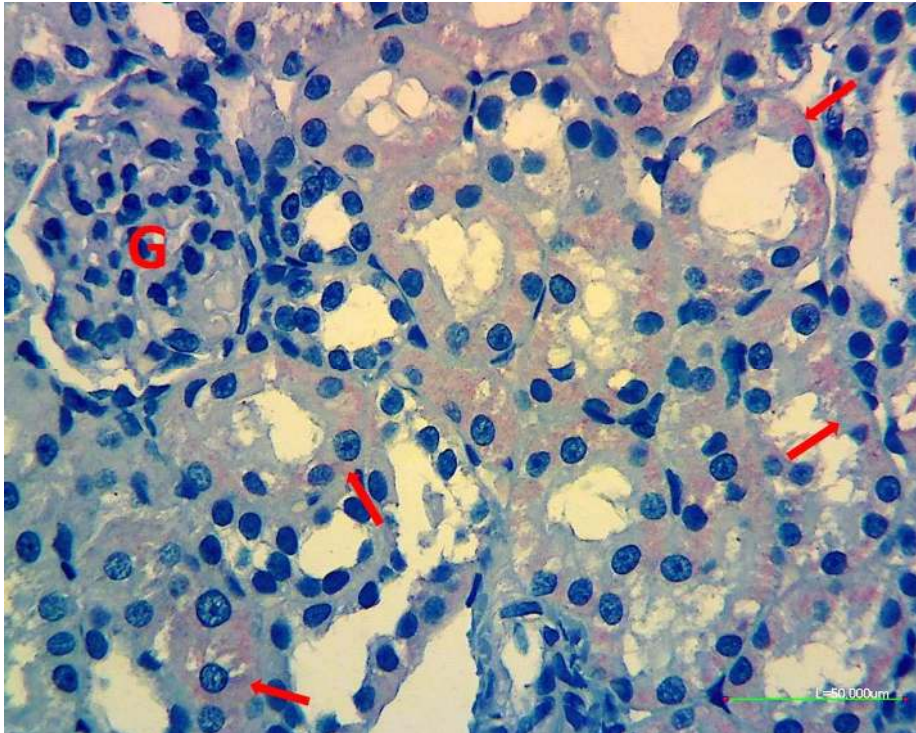
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.2.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi

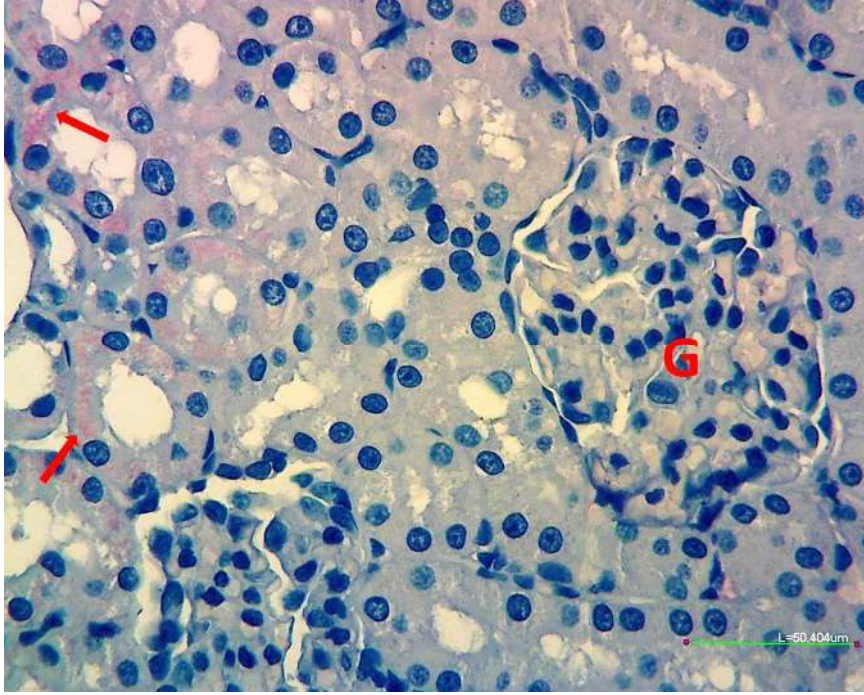
Transient reseptör potansiyel melastatin-2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi böbrek dokusunda sadece tübüllerde gözlemlendi. TRPM2 immünreaktivitesi kontrol grubunda +1 yaygınlığında görüldü (Şekil 8). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DX grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 9). Kardamom'un tedavi olarak verildiği DX+cardamom grubunda ise DX grubuna göre TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin azaldığı izlendi ve +1 olarak değerlendirildi (Şekil 10). Sadece Kardamom verilen grupta ise TRPM2 immünreaktivitesi +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 11).



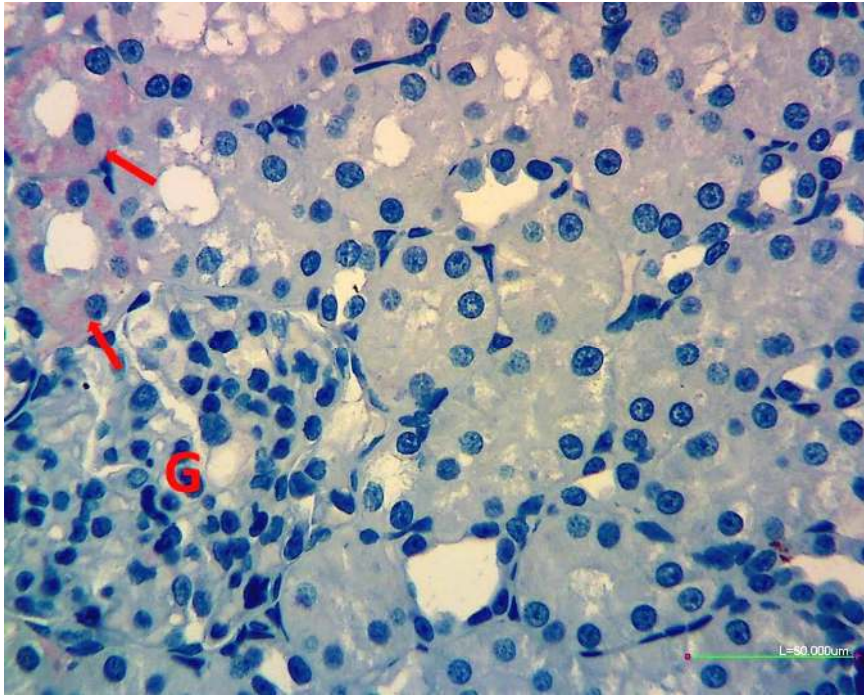
Şekil 8. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi. Skala bar: 50µm.



Şekil 9. DX verilen gruba ait böbrek dokusunda +3yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi. Skala bar: 50µm.



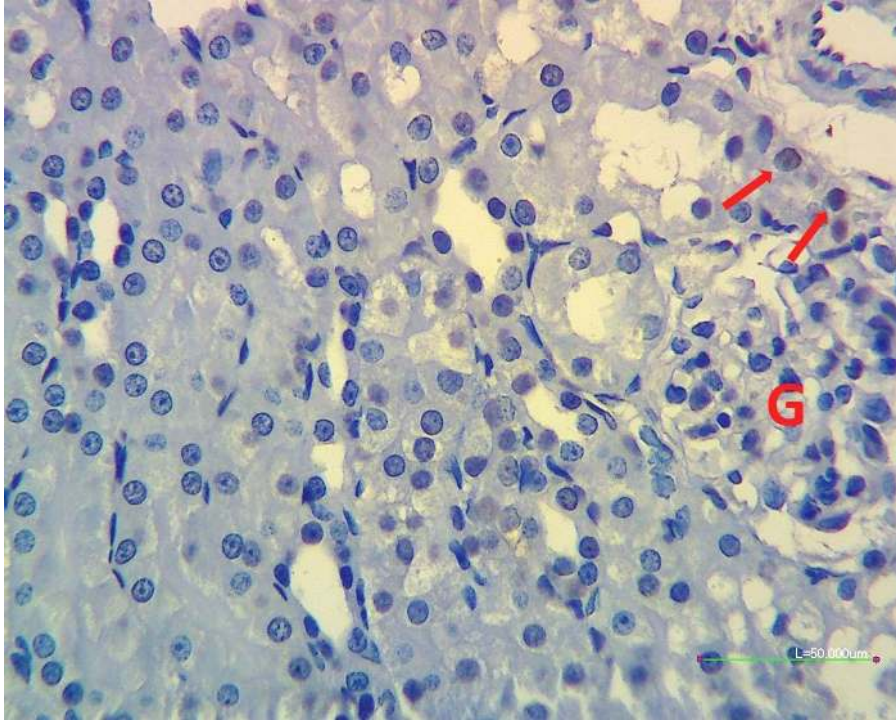
Şekil 10. DX + Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi. Skala bar: 50µm.



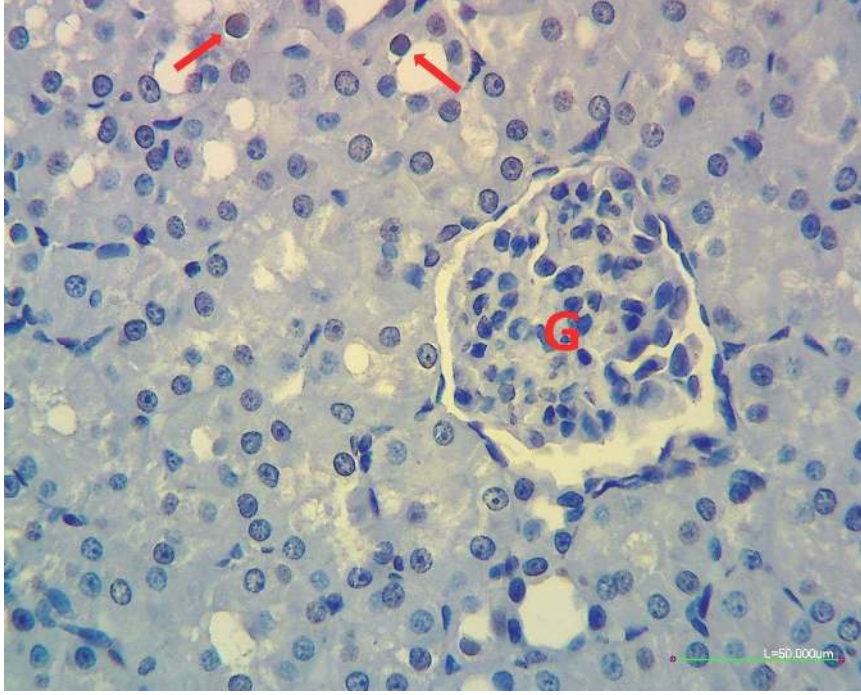
Şekil 11. Kardamom verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPM2 immun reaktivitesi. Skala bar: 50µm.

3.3. TUNEL Bulguları

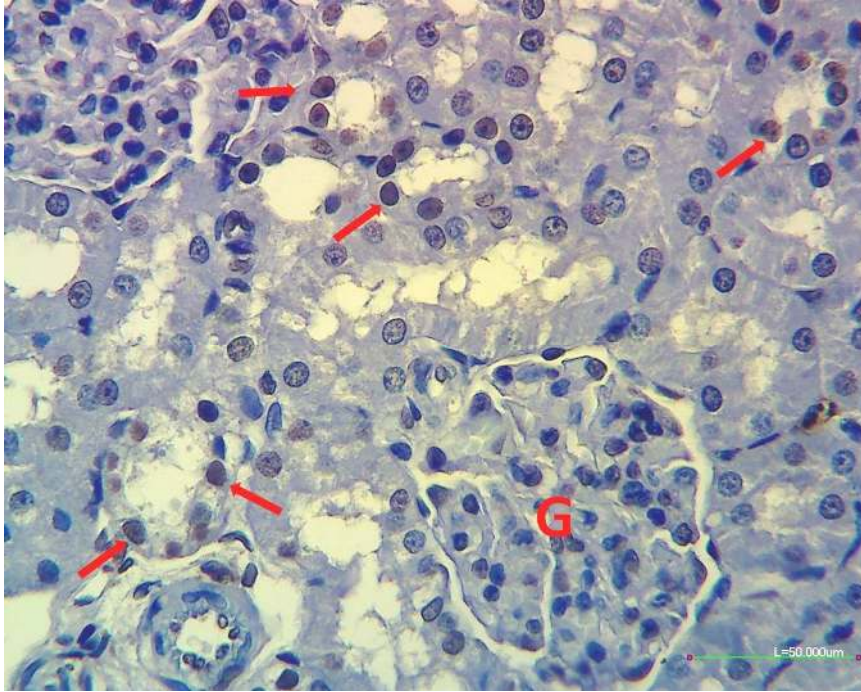
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda kontrol ve Kardamom gruplarında benzerdi (Şekil 12, 13). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DX grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 14). DX grubu ile kıyaslandığında DX + cardamom grubunda ise anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$) (Şekil 15) (Tablo 6).



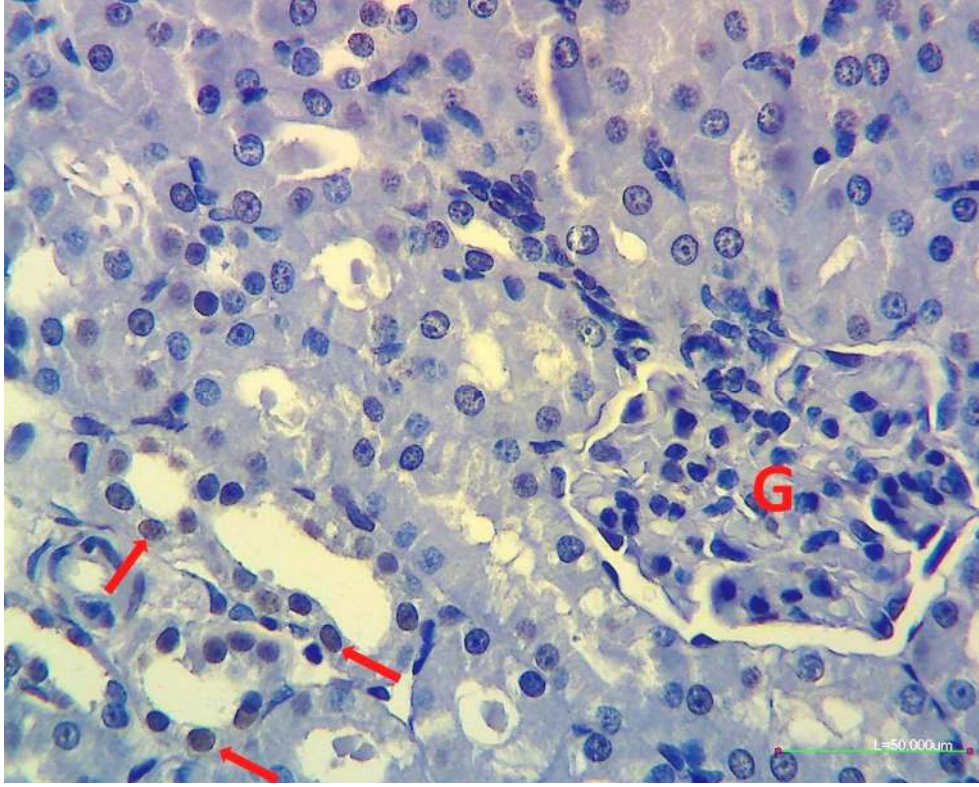
Şekil 12. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 13. Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G). Skala bar: 50µm.



Şekil 14. DX verilen gruba ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).Skala bar: 50µm.



Şekil 15. DX + Kardamom grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).Skala bar: 50µm.

Tablo 1. Apoptotik İndeks (%)

	Apoptozis(TUNEL) (ortalama ±standart sapma)
Kontrol	3,17± 1,17
Doksorubisin	16,17± 2,79 ^a
Doksorubisin+ Kardamom	7,83± 0,98 ^b
Kardamom	2,83± 0,41

Değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

a. Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

b. DX gruba göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

4. TARTIŞMA

Böbrekler bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlardır. İlaçların metabolitleride böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerül, tübül, damarlar semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir (4).

Onkolojik hastalıkların tedavisinde antineoplastik ilaçlara bağlı olarak gelişen böbrek yetmezliği önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Zaman zaman kemoterapiye bağlı akut böbrek yetmezliği oluşmasına karşın kronik böbrek yetmezliğine de seyrek olarak rastlandığı bilinmektedir. Nefrotoksik özelliği olan antineoplastik ilaçların tümör tedavisinde kullanılmaları ile kemoterapiye bağlı kronik böbrek yetmezliği daha sık görülmeye başlanmıştır (119).

Doksorubisin, pek çok hematolojik ve solid kanserlerin tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajan olup antrasiklin türevi bir antibiyotiktir. Hodgkin Lenfoma, Nonhodgkin Lenfoma, akut lenfoblastik lösemi, metastatik meme kanseri, over kanseri, akciğer kanseri ve sarkomaların tedavi protokollerinde yer alan etkin bir antineoplastik ilaçtır (1). Oldukça geniş spektrumlu ve güçlü etkili olmasının sağladığı üstünlük yanında, toksisitesinin de fazlalığı bir sakınca oluşturur (2). Antrasiklin grubundan antitümör olan doksorubisin, çeşitli deney hayvanlarında böbrek toksisitesine neden olmakta ve insanlarda da nefrotoksik olabilmektedir (120, 121).

Doksorubisin, glomerüller'e direkt toksik etkiyle hasarı başlatır ve bunu tübülointerstisyel zedelenme izler. Doksorubisin, glomerüler endotelial hücreleri (glikokaliks dahil), glomerüler bazal membranı ve podositleri içeren glomerüler filtrasyon bariyerlerinde değişikliklere neden olur. Glikokaliks kalınlığı azalır, glomerüler endotelial hücre porlarının boyutu artar, glomerüler yük seçiciliği düşer ve podosit ayakçıkları kaynaşır. Bu değişimler, glomerüler endotelial hücreleri tarafından üretilen glikokaliks bünyesinde bulunan proteoglikanların ve glikozaminoglikanların glomerüler hücre üretimindeki azalmalarıyla ilişkilidir (5).

Günümüzde yaygın olarak kullanılan antineoplastik ajanların etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak içinde yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Bazı ajanların kanser tedavisinde oldukça yaygın kullanılmalarına

rağmen sıklıkla tümörlü doku dışındaki diğer dokularda etkilenmekte ve ciddi yan etkiler ortaya çıkmaktadır (122). Sitotoksik antibiyotikler grubunda yer alan doksorubisin geniş spektrumlu antineoplastik bir ilaçtır. Bu grupta çeşitli mikroorganizmaların kültürlerinden elde edilen antibiyotik niteliğinde antineoplastik ilaçlar bulunur. Sitotoksik antibiyotikler, mide bağırsak kanalından pek absorbe edilmezler; sadece parenteral uygulanırlar (27, 123, 124).

İntravenöz yolla uygulandığında sistemik etkiyle hızlı proliferen olan hücrelerde DNA sentezini engellemektedir (26).

Wapstra ve ark. (125)'nin yaptığı çalışmada 3mg/kg doksorubisin altı hafta sonra böbrek hasarına neden olmuştur. Elde edilen verilere göre 25 mg/kg doksorubisin uygulamasından 2 gün sonra nefrotoksisite tespit edilmiştir.

El-Shitany ve ark. (121)'nin yaptığı bir çalışmada, 10mg/kg doksorubisin kullanımından 30 gün sonra renal tübüler hasar geliştiği tespit edilmiştir.

El Sheikh ve ark. (126) Yaptıklarının yaptığı başka bir çalışmada tek doz i.p 15 mg/kg doksorubisin uygulamasından 8 gün sonra böbrek hasarı oluştuğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda; birçok doksorubisin model çalışmasında olduğu gibi doksorubisin verilen ratlarda başarılı bir şekilde nefrotoksisite geliştiği gözlemlendi. Tek doz halinde i.p olarak 15 mg/kg doksorubisin verilen ratlarda kontrol grubu ve sadece kardamom verilen grupla karşılaştırıldığında doksorubisin verilen grupta böbrek dokularında immünhistokimyasal olarak boyanmada oksidatif stres nedeniyle TRPM2 immünreaktivitesinde ve lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde belirgin artış izlendi.

Doksorubisin kalp, böbrek ve karaciğerde anlamlı derecede lipid peroksidasyonuna neden olur ve bunun en önemli göstergelerinden biri olan MDA seviyeleri artmış olarak bulunur (127). Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler literatür verileri ile uyumlu niteliktedir. Kardamomun doksorubisin nefrotoksisitesine karşı koruyucu etkisinde lipid peroksidasyonunu inhibe etmesinin önemli rol oynadığı kanaatine varılmıştır.

Oksidatif hasar, DNA, lipid, protein ve karbonhidrat gibi tüm biyolojik moleküllerde ortaya çıkabilir. Bu radikal saldırısından, başta lipidler olmak üzere tüm biyolojik yapılar zarar görebilir. Doksorubisin Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik nedenlerinden biridir. Oksidan ve antioksidan

sistemlerindeki bu karmaşı doku hasarı ile sonuçlanır ki, bu da dokuda protein oksidasyonu ve lipit peroksidasyonu ile görülür. Lipit reoksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür ama antioksidan reaksiyonlar ile sonlandırılabilir.

Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol aldığına ait bulguların belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (128).

Deneysel hayvan modelleriyle yapılan bazı çalışmalarda doksorubisine bağlı nefrotoksisite oluşumunda oksidatif stersin arttığı ve enzimatik ve/veya non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde gerileme olduğu saptanmıştır. Kalaiselvi ve ark. (129) yaptıkları bir çalışmada, 10 mg/kg i.v doksorubisin uygulaması sonrasında enzimatik antioksidan seviyelerinde (SOD, CAT, GSH Px, GSH redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve GSH-S-transferaz) ciddi miktarda gerileme ve MDA seviyesinde ise artış tespit edilmiştir.

Yapılan benzer çalışmalarda verilen antioksidanların böbrek hasarını belirgin şekilde azalttıkları gösterilmiştir. Örneğin Koul ve ark. (130) yaptıkları bir çalışmada doksorubisinine bağlı nefrotoksisiteyi göstermek için böbrek dokularında, lipid peroksidasyon göstergeleri olan GSH, GSH Px, GSH redüktaz ve CAT aktivitelerinde önemli bir azalma saptamışlar. Doksorubisin grubuyla kıyaslandığında antioksidan madde olarak domatesten üretilen likopen verilen grupta GSH düzeylerinde belirgin artış ve antioksidan düzeyini yansıtan CAT, GSH-Px ve GSH redüktaz düzeylerinde belirgin artış izlemişlerdir. Sonuç olarak, likopenin doksorubisin kaynaklı nefrotoksisiteyi azaltabileceği görülmüştür.

Reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar, “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipit peroksidasyonunu baskırlar (131, 132).

Antioksidan maddeler endojen, eksojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (84). Gıdaların antioksidan içerikleri ve antioksidanların biyoyararlanımları gıda maddesinin türüne, iklime, ortam ısısına, nemine, ışığına, gıdanın hazırlanması, hatta kişi ve toplumların tüketim alışkanlıklarına göre de değişebilmektedir (133-136).

Oksidatif stresi azaltmak ve antioksidan sentezini artırmak için farklı antioksidanlar kullanılmaktadır. Bitkisel antioksidanlar bunların başında gelir. Pek çok hastalığın tedavisi için bitkilerin kullanımına olan ilgi giderek artmakta ve bitkilerle tedavi yaygınlaşmaktadır. Bitkilerle ve bitki ekstraktları ile yapılan çalışmaların sayısındaki artış da bu düşüncüyü desteklemektedir. Beslenme antioksidanı temsilcilerinden en önde gelenler; karotenoidler, askorbat, tokoferol ve flavonoidlerdir (108).

Kardamom bu amaçla kullanılan bir bitkisel antioksidandır. Zencefilgiller ailesinden olan *Elettaria cardamomum* (Kardamom, maton) ülkemizde “kakule” adı ile bilinen zencefilgiller ailesinden Batı ve güney Hindistan gibi sıcak bölgelerde yetişen, tohumları baharat olarak da kullanılan bir bitkidir. Yakın Doğu ülkelerinde tohumu kahve tohumu ile birlikte toz haline getirilerek kullanılmaktadır (7).

Kardamom başta anti-inflamatuar ve antioksidan etkileri olmak üzere birçok olumlu etkilere sahip bir maddedir (137).

Yaptığımız bu deneysel hayvan çalışmasında apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda kontrol ve Kardamom gruplarında benzerdi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DX grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). DX grubu ile kıyaslandığında DX + cardamom grubunda ise anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$).

Farklı hayvan çalışmalarında kardamom'un antioksidan, antihipertansif, gastroprotektif, antispazmolitik, antibakteriyel, antiagregan, antikanser özellikleri gösterilmiştir.

Nair ve ark. (112) Yaptıkları çalışmada kardamomun ortalama seviyelerde (50-100 mg) antioksidan etki gösteren fenolik ve flavonoidlere sahip olduğu tespit edilmiştir.

Dhuley (114) kardamomun (*Amomum subulatum*) antioksidan etkisini ortaya koymak için hepatik ve kardiyak antioksidan enzimler, glutatyon (GSH) içerik ve lipidle konjuge boyalar cardamomla beraber yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda çalışmış, Antioksidan enzim aktivitesinin anlamlı olarak arttığı, buna karşılık GSH içeriği belirgin olarak kardamom ile birlikte yağlı beslenen ratlarda onarıldığı gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda doksorubisine ek olarak kardamom verilen ratlarda Spektrofotometrik olarak ölçülen doku MDA düzeyleri, kontrol ve kardamom gruplarında benzerdi. Kontrol ve Kardamom gruplarıyla kıyaslandığında Doksorubisin grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak artmış bulundu ($p<0.05$). Doksorubisin grubu ile karşılaştırıldığında Doksorubisin + Kardamom verilen grupta böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0.05$).

Hücrenin canlılığını koruyabilmesi ve gerekli olan hücresel fonksiyonların devam ettirmesinde iyon kanalları hücre zarında çok önemli bir role sahiptir (138). TRPM2 kanalları başta beyin ve kemik iliği olmak üzere böbrek, bağırsak, karaciğer, akciğer, testis, prostat, pankreas, iskelet kası, lökositler ve arka kök gangliyonları gibibir çok doku ve hücrede gösterilmiştir (18). TRPM2 kanalları ya direkt olarak plazma zarındaki Ca^{+2} giriş kanalları gibi davranarak ya da Ca^{+2} giriş kanallarının düzenlenmesi için itici güç olan, zarpotansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime yardımcı olarak, etkilerini gösterirler (104). Aktif TRPM2 katyon kanallarının açılması üzerinde, üç hücre dışı etkenin rol oynadığı bilinmektedir. Bunlar; Oksidatif stres, ADPR (ADP Riboz)/NAD⁺(Nikotinamid Adenin Dinükleotid) metabolizması ve tümör nekroz faktör alfa dır (105).

Transient reseptör potansiyel melastatin-2 kanalları hücre zarında bulunan iyon kanallarından biri olup oksidatif stres ile aktifleşir (139). TRPM2 kanallarının oksidatif stresle aktifleştiğini Japonya'dan Hara ve ark. (105) ve Wehage ve ark. (106) 2002 yılında yaptıkları deneysel çalışmalarda ispatlamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada, radyasyona bağlı oluşan DNA hasarına karşı hücresel cevapta TRPM2 kanallarının aktivasyonunun önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (140).

Bizim çalışmamızda TRPM2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi böbrek dokusunda sadece tübüllerde gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DX grubunda TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin bir artış saptandı. Kardamom'un tedavi olarak verildiği DX + kardamom grubunda ise DX grubuna göre TRPM2 immünreaktivitesinde belirgin azaldığı izlendi.

Bizim yaptığımız bu çalışmada verdiğimiz kardamom maddesinin muhtemel antioksidan etkileri sayesinde apoptozisin azaldığı tespit edildiği gibi oksidasyon kaynağı olarak kabul edilen iyon kanallarından TRPM2 ve lipit peroksidasyonunun

göstergelerinden olan MDA değerlerinde azalma ve kardamomun böbrek dokusu üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gösterildi.

Sonuç olarak çalışmamızda:

Doksorubisin uygulamasının böbrek dokularında iyon kanalı TRPM2 ve lipit peroksidasyonu göstergesi olan MDA seviyelerini artırdığını, Kardamom'un ise bu etkiyi azalttığını

Doksorubisin uygulamasının böbrek dokularında apoptozisi ve apoptozis göstergesi olan TUNEL immünreaktivitesini artırdığı, yine Kardamom'un bu etkiyi de azalttığı saptanılmıştır.

Bu bulgular ışığında gelecekte daha ileri ve ayrıntılı çalışmalarla Kardamom doksorubisin gibi kemoterapotiklere bağlı meydana gelen toksik etkilerin azaltılmasında alternatif bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Lu P. Monitoring cardiac function in patients receiving doxorubicin. *Sem Nucl Med* 2005; 35: 197-201.
2. Türker AS, Kayaalp O. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. Kayaalp O (ed), *Tıbbi Farmakoloji*, 10. Baskı, Ankara: Hacettepe –Taş Kitapçılık, 2002: 403.
3. DeAtley SM, Aksenov MY, Aksenova MV, Jordan B, Carney JM, Butterfield DA. Adriamycin-induced changes of creatine kinase activity in vivo and in cardiomyocyte culture. *Toxicology* 1999; 134: 51–62.
4. Özkocaman V. Ekstrameduller toksisite: değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler.
http://www.thd.org.tr/html/hem_des_2007/HEM_DES_2007_7.pdf Erişim Tarihi: 25.05.2014.
5. Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 114–122.
6. Barbey MM, Fels LM, Soose M, Poelstra K, Gwinner W, Bakker W, Stolte H. Adriamycin affects glomerular renal function: Evidence for the involvement of oxygen radicals. *Free Radic Res. Commun* 1989; 7: 195–203.
7. Baytop T. Therapy with medicinal plants in Turkey. 2nd. Edition, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1999: 242.
8. The Wealth of India. First Supplement Series. New Delhi: NISCAIR, CSIR Publications, 2005: 65-69
9. Spices, Cardamom, Description. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) values of Selected Foods. Nutrient Data Laboratory. Agriculture Research Service, US Department of Agriculture, 2007.
10. Gilani AH, Jabeen Q, Khan AU, Shah AJ. Gut modulatory, blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom. *J Ethnopharmacol* 2008; 115: 463-472.

11. Jamal A, Javed K, Aslam M, Jafri MA. Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum* Maton. fruits in rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 103: 149-153.
12. Al-Zuhair H, el-Sayeh B, Ameen HA, al-Shoora H. Pharmacological studies of cardamom oil in animals. *Pharmacol Res* 1996; 34: 79-82.
13. Mahady GB, Pendland SL, Stoia A, Hamill FA, Fabricant D, Dietz BM, Chadwick LR. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytother Res* 2005; 19: 988-991.
14. Suneetha WJ, Krishnakantha TP. Cardamom extract as inhibitor of human platelet aggregation. *Phytother Res* 2005; 19: 437-440.
15. Sengupta A, Ghosh S, Bhattacharjee S. Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6: 118-122.
16. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 426: 517-524.
17. Zhang W, Chu X, Tong Q, Cheung JY, Conrad K, Masker K, Miller BA. A novel TRPM2 isoform inhibits calcium influx and susceptibility to cell death. *J Biol Chem* 2003; 278: 16222–16229.
18. Hecquet CM, Malik AB. Role of H₂O₂-activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 619-25.
19. Sun L, Yau HY, Wong WY, Li RA, Huang Y, Yao X. Role of TRPM2 in H₂O₂-induced cell apoptosis in endothelial cells. *PLoS One* 2012; 7: 43186.
20. Moore KL. The abdomen. 3rd. Satterfield TS (ed). *Clinically Oriented Anatomy* Williams & Wilkins Baltimore, 1992: 127-242.
21. Tisher CC. Structure and Function of Kidneys. 7rd. Goldman L, Bennet JC (ed). *Cecil Textbook of Medicine*. Philadelphia Pennsylvania: WB Saunders Company, 2000: 532-539.
22. Guyton AC, Hall JE. Urine Formation By the Kidneys: I. Glomerular Filtration, Renal Blood Flow, and Their Control. *Textbook of Medical Physiology*. 9th edition. Pennsylvania: WB Saunders Company Philadelphia, 1996: 315-330.

23. Dorr RT. Antidotes to vesicant chemotherapy extravasations. *Blood Rev* 1990; 4: 41-60.
24. Yılmaz M, Demirdöver, Mola F. Treatment options in extravasation injury: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 2418-2423.
25. Aksar İ, Erbas MK, Gürlek A. Effects of heparin fractions on the prevention of skin necrosis resulting from adriamycin extravasation: an experimental study. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 297- 301.
26. Cullu E, Ozkan I, Culhaci N, Alparslan B, Dikicioğlu E, Savk SO. Doksorubisinin sıçan iskelet kasında kemomiyektomi etkisi. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2003; 37: 323-329.
27. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 9. Baskı, Ankara: Hacettepe TAŞ, 2000.
28. Jacop L NMS Farmakoloji. (Çev. Ed. Koşay S). 4. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 1998.
29. Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th Edition. 2001: 1425- 1429.
30. Çubukçu M. Karnitin ve Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparinin, Antrasiklinlerin Lipid Peroksidasyonu Aracılığıyla Oluşturdukları Kardiyotoksisite ve Nefrotoksisite Üzerine Etkileri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2003.
31. McEvoy GK. AHFS Drug Information 2004. Amer Soc of Health System, 2003
32. Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology. 2nd Edition. Lippincott-Raven Publishers, 1997.
33. Wolf BM, Baynes WJ. The anticancer drug, doxorubicin, causes oxidant stress-induced endothelial dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta* 2006; 1760: 267-271.
34. Kalyanaraman B, Joseph J, Kalivendi S, Wang S, Konorev E, Kotamraju S. Doxorubicin-induced apoptosis: implications in cardiotoxicity. *Mol Cell Biochem* 2002; 234- 235: 119-24.

35. Weiss RB. The anthracyclines: Will we ever find a better doxorubicin? *Semin Oncol* 1992; 19: 670–86.
36. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual, 2006: 1- 13.
37. Adriamycin. Health CommunicationNetwork. 2010
<http://www.pfizer.com.au/DisplayPI.aspx?PDFDocumentID=2d46c4ce-308d-4b9f-8ac4-106563185b48>. Erişim Tarihi: 27.05.2014
38. Yesair DW, Schwartzbach E, Shuck D, Denine EP, Asbell MA. Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species. *Cancer Res* 1972; 32: 1177–1183.
39. Dorr RT. Pharmacological management of vesicant chemotherapy extravasations. Dorr RT, Von Hoff DD (eds). *Cancer Chemotherapy Handbook*, 2nd edition. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1993: 109-118.
40. Hilmer SH, Cogger VC, Muller M, Le Couteur DG. The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin. *Drug Metabolism and Disposition*. 2004; 32: 794-799.
41. Vargel İ, Erdem A, Ertoý D, Pınar A, Erk Y, Altundağ MK, Güllü İ. Effects of growth factors on doxorubicin-induced skin necrosis: documentation of histomorphological alterations and early treatment by GM-CSF and G-CSF. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 646-653.
42. Khan MS, Holmes JD. Reducing the morbidity from extravasation injuries. *Ann Plast Surg* 2002; 48: 628-632.
43. Ener RA, Meglathery SB, Styler M. Extravasation of systemic hematological therapies. *Annals of Oncology* 2004; 15: 858-862.
44. Outomuro D, Grana DR, Azzato F, Milei J. Adriamycin-induced myocardial toxicity: New solutions for an old problem? *Int J Cardiol* 2007; 12: 117: 6-15.
45. Zucchi R, Danesi R. Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines. *Curr Med Chem* 2003; 3: 151-171.
46. Lefrak EA, Pitha J, Rosenheim S, Gottlieb JA. A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. *Cancer* 1972; 32: 302-334.

47. Ehrke MJ, Maccubbin D, Ryoyama K, Cohen SA, Mihich E. Correlation between adriamycin-induced augmentation of interleukin 2 production and of cell -mediated cytotoxicity in mice. *Cancer Res* 1986; 46:54.
48. Giorgio M, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 185-229.
49. Singal PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: pathophysiology and prevention. *FASEB J* 1997; 11: 931-936.
50. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention review of the literature. *Med Sci Monit* 2000; 6: 411-420.
51. Singal PK, Deally CM, Weinberg LE. Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. *J Mol Cell Cardiol* 1987; 19: 817-828.
52. Sternberg SS. Cross-striated fibrils and other ultra structural alterations in glomeruli of rats with daunomycin nephrosis. *Lab Invest* 1970; 23: 39–51.
53. Bucciarelli E, Binazzi R, Santori P, Vespasiani G. Nephrotic syndrome in rats due to adriamycin chlorhydrate. *Lav Ist Anat Istol Patol Univ Studi Perugia* 1976; 36: 53–69.
54. Chen A, Sheu LF, Ho YS, Lin YF, Chou WY, Chou TC, Lee WH. Experimental focal segmental glomerulosclerosis in mice. *Nephron* 1998; 78: 440–452.
55. Burke JF Jr, Laucius JF, Brodovsky HS, Soriano RZ. Doxorubicin hydrochloride-associated renal failure. *Arch Intern Med* 1977; 137: 385–388.
56. Lahouel M, Viotte G, Sumereau E, Morin JP, Fillastre JP. Haematotoxicity of doxorubicin and 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (CCNU) and of their association in rats. *Drugs Exp Clin Res* 1987; 13: 593–599.
57. Llesuy SF, Arnaiz SL. Hepatotoxicity of mitoxantrone and doxorubicin. *Toxicology* 1990; 63: 187–98.
58. Shug AL. Protection from adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Z Kardiol* 1987; 76: 46–52.

59. Wang Y, Wang YP, Tay YC, Harris DC. Progressive adriamycin nephropathy in mice: Sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney Int* 2000; 58: 1797–804.
60. Sakemi T, Ohtsuka N, Tomiyoshi Y, Morito F. Sex difference in progression of adriamycin-induced nephropathy in rats. *Am J Nephrol* 1996; 16: 540–547.
61. Lee VW, Wang Y, Qin X, Wang Y, Zheng G, Mahajan D, et al. Adriamycin nephropathy in severe combined immunodeficient (SCID) mice. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3293–3298.
62. Mahajan D, Wang Y, Qin X, Wang Y, Zheng G, Wang YM, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells protect against injury in an innate murine model of chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2731–2741.
63. Wang Y, Wang Y, Feng X, Bao S, Yi S, Kairaitis L, Tay YC, et al. Depletion of CD4(+) T cells aggravates glomerular and interstitial injury in murine adriamycin nephropathy. *Kidney Int* 2001; 59: 975–984.
64. Wang Y1, Mahajan D, Tay YC, Bao S, Spicer T, Kairaitis L, et al. Partial depletion of macrophages by ED7 reduces renal injury in Adriamycin nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2005; 10: 470–77.
65. Pippin JW, Brinkkoetter PT, Cormack-Aboud FC, Durvasula RV, Hauser PV, Kowalewska J, et al. Inducible rodent models of acquired podocyte diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: 213–229.
66. Sies H. Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82: 291–295.
67. Loeper J, Goy J, Rozensztajn L, Bedu O, Moisson P. Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Chim Acta* 1989; 196: 119–126.
68. Rice-Evans CA, Diplock AT. Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med* 1993; 15: 77–96.
69. Suzuki YJ, Forman HJ, Sevanian A. Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 269–285.
70. Saugstad O. Neonatal oxygen radical disease. *Rec Adv Ped* 1992; 6: 173–187.

71. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. *Free Rad Res* 1998; 28: 672-678.
72. Valko M, Leibfritz D, Mancol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem&Cell Biology* 2007; 39: 44-84.
73. Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Ann NY Acad Sci* 1999; 884: 19-40.
74. Schrader M, Fahimi HD. Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. *Histochem Cell Biol* 2004; 122: 383-393.
75. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol* 2006; 141: 312-322.
76. Zhou H, Kato A, Miyaji T, Yasuda H, Fujigaki Y, Yamamoto T, et al. Urinary marker for oxidative stress in kidneys in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 616-623.
77. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Açıkgöz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2004; 202: 227-235.
78. Valko M, Rhodes CJ, Mancol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160: 1-40.
79. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. Free radical in molecular biology. *J Aging and disease* 1984; 65: 53-66.
80. Braughler M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferric iron during peroxidation of lipid substrates. *J. Biochemica and Biohysica Acta* 1987; 921: 457-464.
81. Parlakpınar H, Örümler MH, Acet A. Kafeik Asit Fenetil Ester (KAFE) ve miyokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) Hasarı. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2012; 1: 10-5.
82. Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int* 1994; 45: 1-9.

83. Elliot JG. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech* 1999; 53: 46-48.
84. Akkuş I. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya: Mimoza Yayınları, 1995; 1: 3-95.
85. Mates JM. Effect of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygenspecies toxicology. *Toxicology* 2000; 153; 83-104.
86. Niwa Y, Ishimoto K, Kanoh T. Induction of superoxide dismutase in leukocytes byparaquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. *Blood* 1990; 76: 835-841.
87. Smith EL, Hill RL, Lehmal R. Principle of biochemistry. 7th ed. USA: McBraw Hill Inc, 1983: 382383
88. Duthie GG, Wahle KW, James WP. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr Res Rev* 1989; 2: 51-62.
89. Notarjan D. Oxidants and signal transduction in vascular endothelium. *J Clin Med* 1994; 125: 2637.
90. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 194-200.
91. Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry* 1988; 27: 969-978.
92. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/freeradicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
93. Beutler E, Duron O, Kelly B. Improved method for the determination of bloodglutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-888
94. Steinberg D. Antioxidants and atherosclerosis. *Circulation* 1991; 84: 1420-1425.
95. Repine J. Oxidant-Antioxidant balance: Some observations from studies of ischemia-reperfusion in isolated perfused rat hearts. *Am J Med* 1991; 91: 30-45.
96. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *J Am J Med* 1991; 91: 14-22.

97. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
98. Hardie RC, Minke B. The *trp* gene is essential for a light-activated Ca^{2+} channel in *Drosophila* photo receptors. *Neuron* 1992; 8: 643-651.
99. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev* 2007; 87: 165-217.
100. Nazıroğlu M, Özgül C, Çelik Ö, Çiğ B, Sözbir E. Aminoethoxydiphenyl borate and flufenamic acid inhibit Ca^{2+} influx through TRPM2 channels in rat dorsal root ganglion neurons activated by ADP-ribose and rotenone. *J Membr Biol* 2011; 241: 69-75.
101. Nazıroğlu M, Özgül C, Çiğ B, Doğan S, Uğuz AC. Glutathione modulates Ca^{2+} influx and oxidative toxicity through TRPM2 channel in rat dorsal root ganglion neurons. *J Membr Biol* 2011; 242: 109-118.
102. Alexander S.P.H, Mathie A, Peters J.A. Guide to receptors and Ion channels. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 1- 126.
103. Mederos Y, Schnitzler M, Waring J, Guder-mann T, Chubanov V. Evolutionary determinants of divergent calcium selectivity of TRPM channels. *FASEB J* 2008; 22: 1540 –1551.
104. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 805-812
105. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, et al. LTRPC2 Ca^{2+} permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163- 173.
106. Wehage E, Eisfeld J, Heiner I, Jüngling E, Zitt C, Lückhoff A. Activation of the cation channel long transient receptor potential channel 2 (LTRPC2) by hydrogen peroxide. A splice variant reveals a mode of activation independent of ADP-ribose. *J Biol Chem* 2002; 277: 23150-23156.
107. Satoh S, Tanaka H, Ueda Y, Oyama J, Sugano M, Sumimoto H, Mori Y, Makino N. Transient receptor potential (TRP) protein 7 acts as a G protein-activated Ca^{2+} channel mediating angiotensin II-induced myocardial apoptosis. *Mol Cell Biochem* 2007; 294: 205-215.

108. Diplock AT, Charleux JL, Crozier-Willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Brit J Nutr* 1998; 80: 77-112.
109. Malti J, Mountasif D, Amarouch H. Antimicrobial activity of *elettaria cardamomum*: Toxicity, Biochemical and Histological Studies 2007.
110. Akgül A. Baharat Bilimi & Teknolojisi. Birinci Baskı, Ankara: Ankara Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 15, 1993: 91-93.
111. Al Bataina BA, Maslat AO, Al Kofahil MM. Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test. *J Trace Elem Med Biol* 2003; 17: 85-90.
112. Nair S, Nagar R, Gupta R. Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *J Assoc Physicians India* 1998; 46: 708-710.
113. Beddows CG, Jagait C, Kelly MJ. Preservation of alpha-tocopherol in sunflower oil by herbs and spices. *Int J Food Sci Nutr* 2000; 51: 327-339.
114. Dhuley JN. Anti-oxidant effects of cinnamon (*cinnamomum verum*) bark and greater cardamom (*amomum subulatum*) seeds in rats fed high fat diet. *Indian J Exp Biol* 1999; 37: 238-242
115. Sapra B, Gupta S, Tiwary AK. Role of volatile oil pretreatment and skin cholesterol on permeation of ion-paired diclofenac sodium. *Indian J Exp Biol* 2000; 38: 895-900.
116. Al Zuhair H, el Sayeh B, Ameen HA. Pharmacological studies of cardamom oil in animals. *Pharmacol Res* 1996; 34: 79-82.
117. Sengupta A, Ghosh S, Bhattacharjee S. Dietary cardamom inhibits the formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in mice and reduces COX-2 and iNOS expression in the colon. *Asian Pac J Cancer Prev* 2005; 6: 118-122.
118. Hashim S, Aboobaker VS, Madhubala R, Bhattacharya RK, Rao AR. Modulatory effects of essential oils from spices on the formation of DNA adduct by aflatoxin B1 in vitro. *Nutr Cancer* 1994; 21: 169-175.

119. Çıtak A, Alpay H, Nayır A. Antineoplastik ilaçlara bağlı böbrek yetersizliği. İstanbul: Tıp Fakültesi Mecmuası 1995; 58: 116-119.
120. Elbeg S, Turkozkan N. The effect of vitamin e on free radical mediated adriamycin toxicity in guinea pig kidney. T Klin J Med Res 2001; 19: 131-135.
121. El-Shitany NA, El-Haggar S, El-Desoky K. Silymarin prevents adriamycin induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. Food Chem Toxicol 2008; 46: 2422-2428.
122. Söğüt S, Yılmaz H.R, Songur A. Sıçanlarda cisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri. Tıp Araştırmaları Dergisi, 2004; 2: 23-28.
123. Iqbal M, Dubey K, Anwer T, Ashish A, Pillai KK. Protective effects of telmisartan against acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. Pharmacological Reports 2008; 60: 382-390.
124. Guerra J, De Jesus A, Santiago-Borrero P, Roman-Franco A, Rodríguez E, Crespo MJ. Plasma Nitric Oxide Levels Used as an Indicator of Doxorubicin- Induced Cardiotoxicity in Rats. Hematol J 2005; 5: 584-588.
125. Wapstra FH, Van Goor H, De Jong Pe, Navis G, De Zeeuw D. Dose of doxorubicin determines severity of renal damage and responsiveness to ACE-inhibition in experimental nephrosis. J Pharmacol Toxicol Methods. 1999; 41: 69-73.
126. El-Sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM, Rifaai RA, Abdelrahman AM. Effect of coenzyme-q10 on Doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. Adv Pharmacol Sci 2012; 2012: 981461.
127. Park E, Kim S, Lee M, Lee H. Protective Effect of Nacetylcysteine and Selenium against Doxorubicin Toxicity in Rats. J Veterinary Sci 2003; 4: 129-136.
128. Ayla Ş. Oktar H, Tanrıverdi G. Doksorubisin nedenli sıçan hepatotoksi sitesine nikotinamidin koruyucu etkisi. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2009; 10: 229-238.
129. Kalaiselvi P, Pragasa V, Chinnikrishnan S, Veena CK, Sundarapandiyar R, Varalakshmi P. Counteracting adriamycin-induced oxidative stress by

administration of N-acetyl cysteine and vitamin E. Clin Chem Lab Med 2005; 43: 834-840.

130. Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulatory potential of lycopene from *Lycopersicum esculentum* against doxorubicin induced nephrotoxicity. Indian J Exp Biol 2013; 51: 635-645.
131. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull 1993; 49: 479-480.
132. Isbir T. Antioksidan Sistemler. Endotel. İzmir: Tabib Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu 1994; 21: 92-98.
133. Cornelli U. Antioxidant use in nutraceuticals. Clin Dermatol 2009; 27: 175–94.
134. Giacco R, Clemente G, Cipriano D. Effects of the regular consumption of wholemeal wheat foods on cardiovascular risk factors in healthy people. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2010; 20: 186–194.
135. Moure A, Cruz JM, Franco JD. Natural antioxidants from residual sources. Food Chem 200; 172: 145–71.
136. Pamuk A. Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi. İstanbul: Pamuk Yayıncılık ve Matbaacılık, 1998: 648.
137. Özgülen H. İksir-i Şifa. İstanbul: Timaş Yayınları, 1998: 301-302.
138. Guyton AC, Hall EJ. Textbook of Medical Physiology. 11th Ed, Philadelphia: Saunders, 2006.
139. Lückhoff A. Effects of antioxidants on calcium influx through TRPM2 channels in transfected cells activated by hydrogen peroxide. J Neurol Sci 2008; 270: 52-58.
140. Masumoto K, Tsukimoto M, Kojima S. Role of TRPM2 and TRPV1 cation channels in cellular responses to radiation induced DNA damage. Biochim Biophys Acta 2013; 1830: 3382-3390.

6. ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk ve ortaöğretimimi Diyarbakır'da tamamladım. 2000 yılında girdiğim Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesinden 2006 yılında mezun oldum. Pratisyen hekim olarak Diyarbakır ili Silvan ilçesi Yolarası Köyünde görev yaptım. Mart 2011 tarihinden itibaren Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları kliniğinde ihtisasa devam etmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım.