



**DOXORUBİCİN ARACILI NEFROTOKSİSİTEYE KARŞI
CİNNAMALDEHİTİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hülya DEMİRKAPI ATİK

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Recep ASLAN

Tez No: 2024 - 005

Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**DOXORUBİCİN ARACILI NEFROTOKSİSİTEYE KARŞI
CİNNAMALDEHİTİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hazırlayan

Hülya DEMİRKAPI ATİK

Danışman

Prof. Dr. Recep ASLAN

Tez No: 2024 - 005

AFYONKARAHİSAR

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: "21.SAĞ.BİL.14"

T.C.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

ENSTİTÜ ONAYI

Öğrencinin	Adı SOYADI	Hülya DEMİRKAPI ATİK
	Numarası	183323001
	Anabilim Dalı	Fizyoloji
	Programı	Veterinerlik Fizyolojisi Doktora Programı
	Program Düzeyi	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
Tezin Başlığı		Doxorubicin Aracılı Nefrotoksisiteye Karşı Cinnamaldehitin Koruyucu Etkisinin Araştırılması
Tez Savunma Sınav Tarihi		06.05.2024
Tez Savunma Sınav Saati		10:00

Yukarıda bilgileri verilen öğrenciye ait tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Esmâ KOZAN
Enstitü Müdürü

Bu tez, Enstitü Müdürlüğünce kontrol edilerek, elektronik imza kullanılarak onaylanmıştır.

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

06/05/2024

Hülya DEMİRKAPI ATİK

ÖZET

DOXORUBİCİN ARACILI NEFROTOKSİSİTEYE KARŞI CİNNAMALDEHİTİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Günümüzün en önemli sağlık problemlerinden biri olan kanserin tedavisinde yaygın olarak kullanılan Doxorubicin (DXR); hematolojik, solid ve yumuşak doku sarkomaları gibi birçok kanserin tedavisinde kullanılmaktadır. DXR'nin kanserli hücreleri yok edici etkisinin yanı sıra terapötik kullanımını kısıtlayan en temel faktörlerden biri nefrotoksositeye sebep olmasıdır. DXR'nin tedavideki rolünde değişiklik oluşturmada sebebiyet verdiği hasarı azaltacak ajanların belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, DXR ile indüklenen nefrotoksosite üzerine Cinnamadehitin (CA) böbrek dokusu üzerindeki koruyucu ve iyileştirici etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmada 8'erli olarak Kontrol, CA10, CA20, DXR, CA10 + DXR ve CA20 + DXR olmak üzere toplamda 6 gruba ayrılan 48 rat kullanıldı. Kümülatif olarak toplamda 6 doz DXR (21 mg/kg, İntraperitoneal) uygulaması; serum BUN, kreatinin ve ürik asit seviyeleri ile birlikte böbrek lipid peroksidasyonunu artırırken GSH seviyeleri ile birlikte SOD, CAT ve GPx antioksidan enzim aktivitelerini azalttı. DXR ayrıca NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , iNOS seviyeleri ile p38 α MAPK aktivitesini de arttırırken, IL-10 seviyesini azalttı. Akut böbrek hasar belirteçleri olan KIM-1 ve NGAL seviyeleri de DXR uygulamasıyla artarken, AQP-1 seviyesi ise azaldı. Bunun yanı sıra DXR apoptotik karakterli Bax ve Cyt-c ekspresyon seviyelerini artırıp; antiapoptotik karakterli Bcl-2 ve Procas-3 ekspresyon seviyelerini düşürerek apoptozu aktive etti. Cinnamaldehit tedavisi ise oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz düzeyleri üzerine olumlu etki gösterip nefrotoksositeyi hafifletti. Bu çalışma, Doxorubicinin neden olduğu nefrotoksosite üzerinde Cinnamaldehitin iyileştirici etkinliği olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Apoptoz, Doxorubicin, Cinnamaldehit, İnflamasyon
Nefrotoksosite, Oksidatif stres

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF CINNAMALDEHYDE AGAINST DOXORUBICIN-MEDIATED NEPHROTOXICITY

Doxorubicin (DXR), which is widely used in the treatment of cancer, one of the most important health problems of today, is used in the treatment of many cancers such as hematologic, solid and soft tissue sarcomas. One of the main factors limiting the therapeutic use of DXR besides its cancer cell destroying effect is that it causes nephrotoxicity. It is necessary to identify agents that will reduce the damage caused by DXR without altering its role in treatment. In this study, it was aimed to investigate the protective and ameliorative effects of Cinnamadehyde (CA) on kidney tissue on DXR-induced nephrotoxicity. In the study, 48 rats divided into 6 groups as Control, CA10, CA20, DXR, CA10 + DXR and CA20 + DXR were used. Cumulative administration of 6 doses of DXR (21 mg/kg, intraperitoneal) increased serum BUN, creatinine and uric acid levels as well as renal lipid peroxidation and decreased GSH levels and antioxidant enzyme activities of SOD, CAT and GPx. DXR also increased NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , iNOS levels and p38 α MAPK activity and decreased IL-10 levels. KIM-1 and NGAL levels, which are markers of acute kidney injury, were also increased by DXR administration, while AQP 1 level was decreased. In addition, DXR activated apoptosis by increasing apoptotic Bax and Cyt-c expression levels and decreasing antiapoptotic Bcl-2 and Procas-3 expression levels. Cinnamaldehyde treatment had a positive effect on oxidative stress, inflammation and apoptosis levels and alleviated nephrotoxicity. This study demonstrated that Cinnamaldehyde has ameliorative activity on Doxorubicin-induced nephrotoxicity.

Keywords: Apoptosis, Doxorubicin, Cinnamaldehyde, Inflammation, Nephrotoxicity, Oxidative stress

ÖNSÖZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimi (BAPK) kapsamında 21.SAĞ.BİL.14 proje numarası ile yürütülen bu araştırmanın gerçekleşmesinde; tez çalışmam süresince tecrübelerini ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Recep ASLAN başta olmak üzere, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ'a, desteklerinden dolayı Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE'ye,

Ve ikinci danışmanım gibi hissettiğim, beni yüreklendiren, bilgi ve becerisiyle yardımını hiçbir zaman esirgemeyen, bu zorlu süreçte nazımı çeken, bana sonsuz desteğini ve sevgisini hissettiren asla yalnız bırakmayan sevgili eşim Dr. Öğr. Üyesi Orkun ATİK'e,

'Benim manevi mirasım bilim ve aklıdır. Benden sonra, beni benimsemek isteyenler, bu temel mihver üzerinde aklın ve bilimin rehberliğini kabul ederlerse, manevi mirasçılarım olurlar' diyen Ulu Önder Mustafa Kemal ATATÜRK'ün göstermiş olduğu yolda ilerlemek ve bilime bir nebze bile olsun fayda sağlamak adına çabalamanın sonsuz mutluluğu içerisinde, katkısı ve emeği geçen herkese

SONSUZ TEŞEKKÜRLER.

Hülya DEMİRKAPI ATİK

Afyonkarahisar

2024

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZET	i
SUMMARY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
RESİMLER.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.2. Genel Bilgiler.....	2
1.2.1. Fizyolojik Hücre Döngüsü ve Kanser	2
1.2.2. Antikanser İlaçlar	7
1.2.3. Doxorubicin.....	9
1.2.3.1. Doxorubicin'in Metabolizması.....	10
1.2.3.2. Doxorubicin'in Etki Mekanizması	11
1.2.3.3. Doxorubicin Aracılı Nefrotoksisite	12
1.2.4. Böbrek, Nefron, Nefrotoksisite	15
1.2.4.1. Böbrek Fonksiyon Belirteçleri	18
1.2.4.2. Oksidatif Stres ve Böbrekler.....	20
1.2.4.3. Sitokinler ve Böbrekler.....	22
1.2.4.4. Apoptoz ve Böbrekler.....	23
1.2.5. Cinnamaldehit	26
2. MATERYAL ve METOT	31
2.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	31
2.2. Hayvan Materyali	31
2.3. Deneysel Uygulamalar.....	31
2.4. Renal Fonksiyon Parametrelerinin Belirlenmesi	32
2.5. Renal Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi	32
2.6. Renal İnflamasyon Parametrelerinin Belirlenmesi	34

2.7. KIM-1, NGAL ve AQP-1 Seviyelerinin Belirlenmesi	35
2.8. Western Blot Analizleri	35
2.9. İstatistiksel Analiz.....	37
3. BULGULAR	39
3.1. CA ve DXR Uygulamalarının Renal Fonksiyon Parametreleri Üzerine Etkisi...	39
3.2. CA ve DXR Uygulamalarının Renal Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkisi	39
3.3. CA ve DXR Uygulamalarının Renal İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi	40
3.4. CA ve DXR Uygulamalarının KIM-1, NGAL ve AQP-1 Seviyelerinin Belirlenmesi	41
3.5. CA ve DXR Uygulamalarının Apoptoz Üzerine Etkileri	41
4. TARTIŞMA.....	44
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	52
6. KAYNAKLAR.....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

α : Alfa

β : Beta

Anova: Varyans Analizi (Analysis of Variance)

AQP-1: Aquaporin 1

Bax: Bcl-2-associated X protein

Bcl-2: B-cell lymphoma gene-2

BUN: Kan Üre Nitrojen

CA: Cinnamaldehit

CAT: Katalaz

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

Cyt-c: Sitokrom-C

DNA: Deoksiriboz Nükleik Asit

DTNB: 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik) asit

DXR: Doxorubicin

ECL: Enhanced luminol-based chemiluminescent substrate

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ER: Endoplazmik retikulum

GPx: Glutatyon peroksidaz

GSH: Glutasyon

HRP: Horseradish peroksidaz

IL-10: İnterlökin 10

IL-6: İnterlökin-6

IL- β : İnterlökin-1 β

IP: İntraperitoneal

iNOS: Nitrik Oksit Sentazın indüklenabilir izoformu

kDa: Kilodalton

KIM-1: Kidney Injury Molecule-1

MDA: Malondialdehit

mg/kg: Miligram/Kilogram

nm: Nanometre

NADH: Nikotinamid adenin dinükleotit

NADP: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

NBT: Nitroblue tetrazolium

NF- κ B: Nüklear Faktör kappa B

NGAL: Nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin

NOX-4: NADPH oksidaz 4

p: Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri

p38 α MAPK: p38 alfa Mitojenle Aktive Edilmiş Protein Kinazlar

p53: Tümör protein 53

PBS: Phosphate Buffer Saline

Procas-3: Prokaspaz-3

PVDF: Poliviniliden diflorid

ROS: Reaktif oksijen radikalleri

SD: Standart sapma

SDS: Sodyum dodesil sülfat

SOD: Süperoksit dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

TBS: Trans buffer saline

TNF- α : Tümör Nekroz Faktör alfa

WB: Western Blot

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1: Hücre bölünme döngüsü.....	3
Şekil 1.2: Normal hücrenin kanser hücresine dönüşme aşaması.....	4
Şekil 1.3: Genlerin ve çevrenin kanserin gelişimine etkileri.....	6
Şekil 1.4: Bazı kemoterapik ajanlar ve etki mekanizmaları.....	8
Şekil 1.5: Doxorubicinin kimyasal yapısı.....	10
Şekil 1.6: Cinnamaldehit moleküler yapısı.....	27
Şekil 3.1: CA ve DXR uygulamalarının apoptoz üzerine etkisi.....	42
Şekil 3.1 A-B-C-D: Western blot bant görüntülerinin grafikleri.....	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1: CA ve DXR'nin ratlarda serum böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkileri.....	39
Çizelge 3.2: CA ve DXR'nin ratlarda böbrek Oksidatif Stres Parametreleri üzerine etkileri.....	40
Çizelge 3.3: CA ve DXR'nin ratlarda renal İnflamasyon Parametreleri üzerine etkileri.....	40
Çizelge 3.4: CA ve DXR'nin ratlarda böbrek KIM-1, NGAL ve AQP-1 Seviyeleri Üzerine Etkileri.....	41

RESİMLER

SAYFA

Resim 2.1: Oksidatif stres parametrelerinin ölçümü.....	34
Resim 2.2: İnflamasyon parametrelerinin ölçümü.....	35
Resim 2.3: Western blot analizi için örneklerin jel elektroforezine yüklenmesi.....	36
Resim 2.4: Western blot analizi yürütme/koşturma aşaması.....	37

1.GİRİŞ

Böbrekler, vücudun üst lumbar kısmında, peritoneal katman tarafından dorsoabdominal duvara asılmış ve damarlar tarafından beslenen bir çift organdır. Böbreğin temel işlevi; renal arter aracılığıyla böbreklere gelen kanın filtrasyonudur. Glomerüler filtrasyon, tübüller reabsorbsiyon ve sekresyon sonucu oluşturdukları idrar ile kanda bulunan toksik metabolizma ürünlerini vücuttan uzaklaştırırlar. İdrarın yoğunluğuyla vücuttaki sıvı-elektrolit miktarının düzenlenmesi, asit-baz dengesinin ayarlanmasını sağlarlar. Böbreklerin vücudun homeostazisi için hormonal görevleri; anjiyotensinojenden anjiyotensin oluşumunu katalize ederek renin salınmasını, eritropoez için kemik iliğinin eritrosit üretimini stimüle eden eritropoetin salınmasını, kalsiyum fosfor dengesinin düzenlenmesi için Vitamin D3'ün aktif formunu ve vazodilatasyonda etkili olan prostaglandin sentezini sağlarlar. Böbrekler vücudun bütün kanını filtre ettikleri için kan içinde bulunan toksik maddelere maruziyeti fazla olur ve bu toksik maddelerin oluşturacağı hasardan etkilenme oranları da yüksek olur (Arıncı ve Elhan, 1995; Reece, 2012).

Kanser hastalıkları, küresel sağlık problemlerinden biri olmakla birlikte günümüzde hala en önde gelen ölüm sebeplerinden biridir. Kanser, normal fizyolojik koşullarda hücre homeostatik dengesi ve döngüsünde meydana gelen aksaklıklar sonucu hücrenin anormal çoğalması ile ortaya çıkan tıbbi bir durumdur. Bu hastalığın en yaygın tedavisinde kemoterapötik ilaçlar kullanılmaktadır.

Antrasiklinler grubundan olan ve kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ilaçlardan Doxorubicin (DXR); kan ve kemik iliğinde ortaya çıkan lenfoma, lösemi gibi hematolojik kanserler, meme, akciğer, beyin, over gibi solid tümörler ve yumuşak doku sarkomaları gibi çeşitli kanser türlerinde tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Doxorubicinin kanserli hücreleri yok etmesinin yanısıra böbrek, kalp, kan, karaciğer, testis ve kemik iliği gibi organların üzerine de toksik etki etmesi ilacın terapötik kullanımını kısıtlamaktadır (Kintzel, 2001, Mohan ve Rapoport, 2010).

DXR ile indüklenen nefrotoksisitenin mekanizması tam olarak anlaşılmış değilse de renal toksisite, membran lipit peroksidasyonuna sebebiyet veren serbest radikal oluşumuyla meydana gelen çoklu organ hasarına etkisi olduğu düşünülmektedir.

Çalışmalar gösteriyor ki DXR kaynaklı böbrek hasarının patogeneğinde inflamasyon ve oksidatif stres kritik rol oynamaktadır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda DXR tedavisinin sebebiyet verdiği nefrotoksisiteyi azaltmak için birtakım antioksidanlar kullanılmıştır (Hardman, 2001).

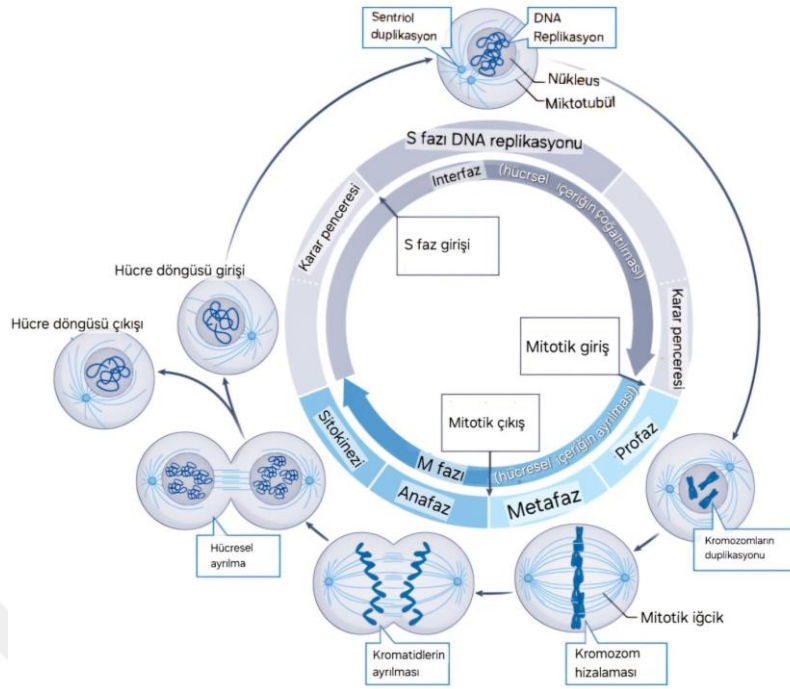
Son dönemlerde fitokimyasal tedavinin öneminin artmasıyla bitkisel içerikler çalışmalarda koruyucu ya da iyileştirici özellikleri vurgulanarak yer almaktadır. Cinnamaldehit (CA) tarçın ailesinin ana bileşenlerinden biri olarak antitümöral, antialerjik, antiülserojenik, antipiretik, anestejik ve kolesterol düşürücü, kabızlığı önleyici, gaz söktürücü ve antiseptik özellikleri yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Mollazadeh ve Hosseinzadeh, 2016).

Cinnamaldehitin kuvvetli bir antioksidan olmasıyla birçok çalışmada koruyucu etkisine bakılmasına karşın DXR ile yapılan in vivo çalışmaların sayısı az olup bu çalışmalarda nefrotoksisite üzerine etkinliğini araştıran çalışmalara rastlanmamıştır. Bu çalışmada DXR ile oluşturulmuş nefrotoksisiteye karşı Cinnamaldehit'in koruyucu etkisinin incelenmesini ve western blot yöntemiyle değerlendirmeyi amaçladık.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Fizyolojik Hücre Döngüsü ve Kanser

Hücre döngüsü, hücrenin büyümesini ve takibinde bölünmesini ifade eden süreçtir. Bu döngü, tek hücreli ve çok hücreli ökaryotlarda hücrenin bölünmek üzere döngüye girmesinden önce herhangi bir hata olmasını engellemek için düzenleyici mekanizmalar tarafından kontrol edilir. Hücre döngüsünün, önemli olaylarının gerçekleştiği iki aşaması vardır. Birincisi, DNA'nın çoğaltıldığı sentez (S) evresi, ikincisi ise çoğaltılan kromozomların hücrenin karşı taraflarına ayrıldığı ve sitoplazmanın bölündüğü mitoz (M) evresidir. Hücrenin çoğalması için bu aşamaların mutlaka gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu döngüyü oluşturan karmaşık düzenleyici mekanizmanın tek bir amacı vardır; genomik DNA'nın zamanında ve doğru bir şekilde çoğaltılması ve ayrılması (Matthews vd., 2022). Hücrenin bölünme döngüsü Şekil 1.1'de gösterilmiştir.

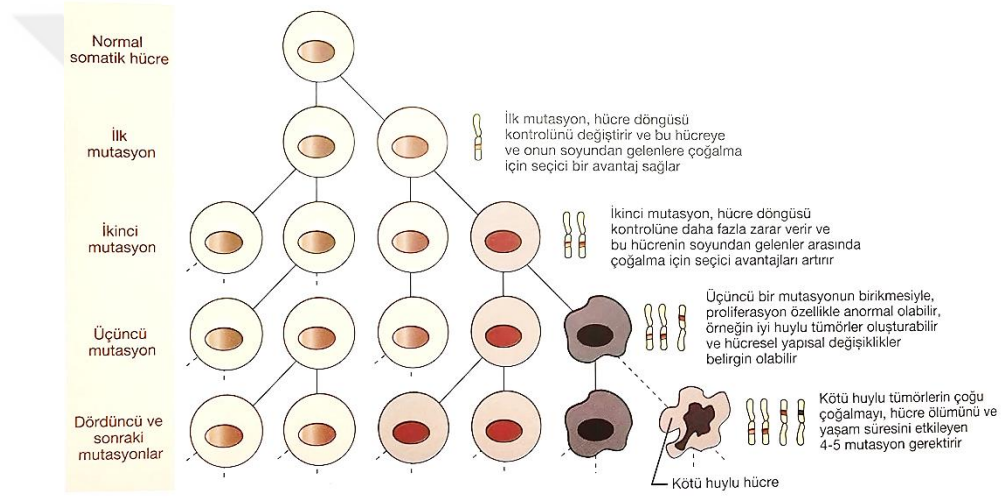


Şekil 1.1: Hücre bölünme döngüsü (Matthews vd., 2022'den dönüştürülmüştür). Ökaryotik hücre döngüsü, bir hücrenin interfaz sırasında tüm hücresel içeriğini çoğalttığı ve M fazındaki bölünme yoluyla genetik olarak özdeş iki hücre oluşturduğu süreçtir. Hücre döngüsünün iki temel olayı, DNA replikasyonu ve replike edilen DNA'nın ayrılması. DNA replikasyonu interfazda 'S fazı' olarak adlandırılan farklı bir fazda gerçekleşir ve DNA ayrımı mitozda (M fazı) gerçekleşir. Hücresel içeriğin ayrılması, bir hücre döngüsünü tamamlamak için M fazının sonunda sitokinez sırasında gerçekleşir, bundan sonra bir hücre ya hücre döngüsünden çıkabilir ya da yeni bir hücre bölünmesi turuna girebilir. İnterfaz sırasında, hücre döngüsü ilerlemesi S fazından önce ve sonra kontrol edilir. Yeni bir hücre döngüsüne girme taahhüdü (yani S fazına giriş) S fazından önceki bir karar penceresi sırasında yapılır. Benzer şekilde, S fazını takip eden bir karar penceresi sırasında, bir hücre mitotik giriş yapabilir. Mitotik çıkış taahhüdü, metafaz-anafaz geçişindeki M fazı sırasında gerçekleşir (Matthews vd., 2022).

Hücrelerin kontrolsüz şekilde büyümesi ve çoğalması ile karakterize olan kanser ölümüne en çok sebebiyet veren hastalık olması nedeniyle üzerine en çok araştırma yapılan hastalıklardan biridir.

Kanser ifadesini ilk kez kullanan Hipokrat (M.Ö. 460-377) vücudun şifa bulmayan yeni oluşumları için bu ismi vermiştir. Vücut yüzeyinde büyüyen ülseratif görünümde kırmızı, ağrılı, sıcak, diğerlerinden farklı olan şişliklere Hipokrat; karkinos ya da karkinoma, Galen ise (M.S. 2.yy) yengece benzettği için kanser ifadesini kullanmıştır

(Sigerist, 1960; Yener, 1973). Yunan tıbbında ise “praeter naturam” ismi verilen patolojik büyüme ile karakterize yapılar için tümör ifadesi kullanılmıştır. Bu dönemde yalnızca epitelyal kökenli malign yapılara kanser ifadesi kullanılmış olup diğer hastalık tablolarında olduğu gibi homeostatiziste oluşturduğu dengesizlik sebep gösterilmiştir. Türk tıp tarihine bakıldığında kansere seretan adı verildiği; Tarsuslu Osman Hayri Efendi’nin “Kenzüsıhhatül Ebdaniye” isimli eserinde seretan için fındık ya da yumru büyüklüğünde, ağırlı, etrafı damarlı bir yapı ifadesini kullandığı görülmektedir (Ünver, 1938). Şekil 1.2’de normal hücrenin kanserli hücreye dönüşme aşamaları gösterilmiştir.



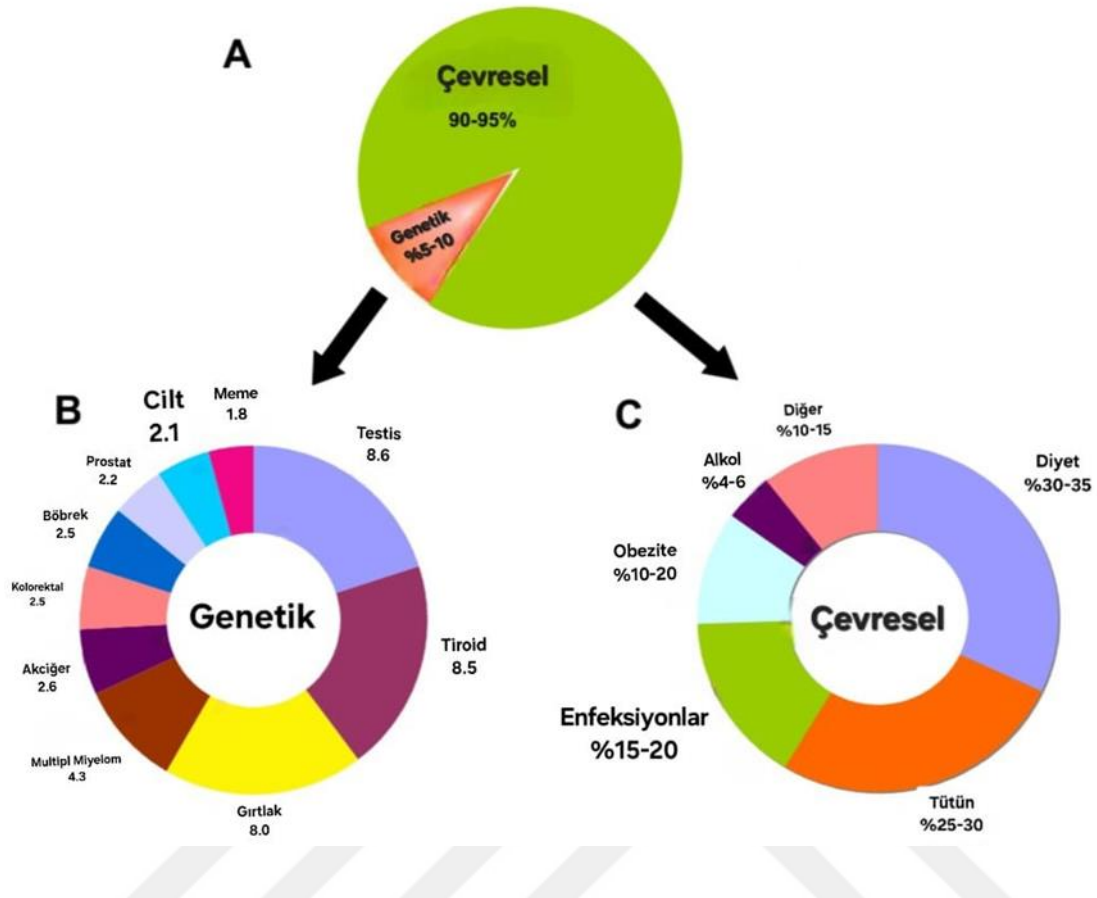
Şekil 1.2: Normal hücrenin kanser hücreye dönüşme aşamaları (Bradley, 2020)

Son yıllarda kanser sebepli ölüm oranları kadınlarda iki kat, erkeklerde ise üç kat artış göstermiştir (Lewandowska vd., 2019). Kadınlarda görülen meme kanserindeki ciddi oranda artış sebebiyle en çok teşhis edilen kanser türü olmuştur. Bunu akciğer kanseri, kolorektal kanser, prostat kanseri ve mide kanserleri takip etmektedir. Ölüm oranları açısından bakıldığında zaman en fazla ölüme sebebiyet veren kanser türleri; akciğer, kolorektal kanser, karaciğer, mide kanseri ve kadın meme kanseri şeklinde sıralanmaktadır (Sung vd., 2021). İnsanlarla birlikte yaşayan pet hayvanlarında da insanlarda görülen kanser türleri görülmektedir. Özellikle kısırlaştırma yapılmayan kedi ve köpeklerde meme kanseri ve bunu takiben lenfoma yaygın olarak görülmekte olup

büyük ırk köpeklerde osteosarkom, kuşlarda akciğer kanseri görülmektedir (Misdorp, 1996; Cannon, 2015; Silver vd., 2023).

Kanser, hücre döngüsünde sürekli ve aşırı hücre bölünme aşamalarını yönlendiren sinyallerin tekrarlanmasıdır. Son zamanlarda elde edilen bilgiler, sürekli hücre bölünmesinin kontrolsüz hücre döngüsü ilerlemesinin yanında kanserin hem apoptozu önleyen hem de hücre döngüsü çıkışını tehlikeye atan mutasyonlar tarafından yönlendirildiğini ortaya koymuştur. Son araştırmalara göre, kanser hücrelerinin bölünmeye devam etmesi için hücre döngüsü kontrolünün yalnızca belirli yönlerinin bozulması gerektiği ifade edilmektedir (Matthews vd., 2022).

Kanser hücre döngüsünün ve fonksiyonlarının bozulmasıyla seyreden bir süreçtir. Genetik ve epigenetik değişikliğin sonucunda hücre içi kromozomal veya moleküler anormalliklerin birikmesiyle genetik kararsızlığa yol açan bir durumdur (Weiderpass, 2010). Kanser oluşumuna çeşitli risk faktörleriyle genetik yatkınlık sebebiyet vermektedir. Dış etkenler; tütün, kimyasallar, radyasyon ve bulaşıcı organizmalar ile bazı iç faktörler; kalıtsal ve rastgele mutasyonlar, hormonlar, immünite gibi durumlar kansere zemin oluşturmaktadır. Beslenme tarzı, egzersizden uzak yaşam (sedanter), obezite, çevresel kirlenimler ve bazı enfeksiyonlar gibi durumlar kanser risk faktörleri olarak değerlendirilmektedir (Anand vd., 2008). Bu risk faktörlerinin organizmada birlikte seyretmesi karsinogenezin başlatılmasına ya da tetiklenmesine neden olmaktadır. Risk faktörlerinin yaygınlığı sebebiyle de kanser en fazla ölüm oranına sahip hastalıklardan biri haline gelmiştir.



Şekil 1.3: Genlerin ve çevrenin kanser gelişimine etkileri - Genetik ve çevresel faktörlerin yüzdesel oranları (A). Genetik faktörlerin %5–10 ve çevresel faktörlerin kanser riskine katkısı %90–95'tir (A). Bazı kanser türleri için genetik aktarım risk oranları (B). Çevresel faktörlerin yüzdesel katkısı (C). Burada temsil edilen yüzdelere, belirtilen çevresel risk faktörü nedeniyle kanser ölümlerinin önemli bir kısmını ifade etmektedir (Anand vd., 2008).

Kanser, organizmada bulunan trilyonlarca hücrenin herhangi birinde bu sebeplerden birinin tetiklenmesiyle, yukarıda açıklanan fizyolojik mekanizma ile oluşabilir. Hücrelerde meydana gelen genetik değişiklikler; hücre döngüsünü bozup anormal hücrelerin kontrol dışı büyümesi ve çoğalmasıyla tümör oluşumuna sebebiyet vermektedir. Genlerdeki değişikliklere kanserojen ajanlar sebebiyet vermektedir (Roy ve Saika, 2016). Bu ajanların; enfektif, elektromanyetik radyasyon, kimyasal ve immunosüpresif gibi çeşitleri bulunmaktadır (Hill, 2019). Genlerde oluşabilecek mutasyonlar aileden kalıtsal olarak aktarıldığı gibi sonradan da şekillenebilmektedir. Genetik aktarımın kanser gelişimindeki rolü büyüktür. Ebeveynden aktarılan

mutasyonlar kalıtsal mutasyon olarak tanımlanmakta ve kanserin oluşup ilerlemesi gen mutasyonlarından büyük ölçüde etkilenmektedir. Örnek olarak bir ailede gen diziliminde genetik aktarımlı meme kanseri var ise, bu ailenin kadınlarında meme kanseri görülme ihtimali diğer kadınlara göre daha yüksektir (Anand, 2008).

Kanserde erken tanı ve tedavi için tarama yapılmasının önemi büyüktür. Tanı; anamnez, muayene, kanın incelenmesi, mikroskopik değerlendirmeler ve radyolojik görüntüler ile konulmaktadır (Coleman, 2017).

Kanser tedavi prensiplerinde genel olarak; hastalığı yok etme, kontrol altında tutarak komplikasyon gelişimini önleme ve hastaların hayat kalitesini yükseltmek temel alınır (Demirci vd., 2010). Tedavi kanserin evresine, bulunduğu bölgeye, boyutuna göre değişiklik göstermektedir. Kanser tedavisinde en çok kullanılan yöntemler; kemoterapi, cerrahi tedavi ve radyoterapidir. Bunların yanı sıra hormon tedavisi ve medikal girişimlerle tümöral oluşum baskılanarak tedaviye devam edilmektedir. Bu yöntemler tek başına kullanılabileceği gibi birkaç yöntem birlikte de kullanılarak tedavi yapılmaktadır (Miller vd., 2019).

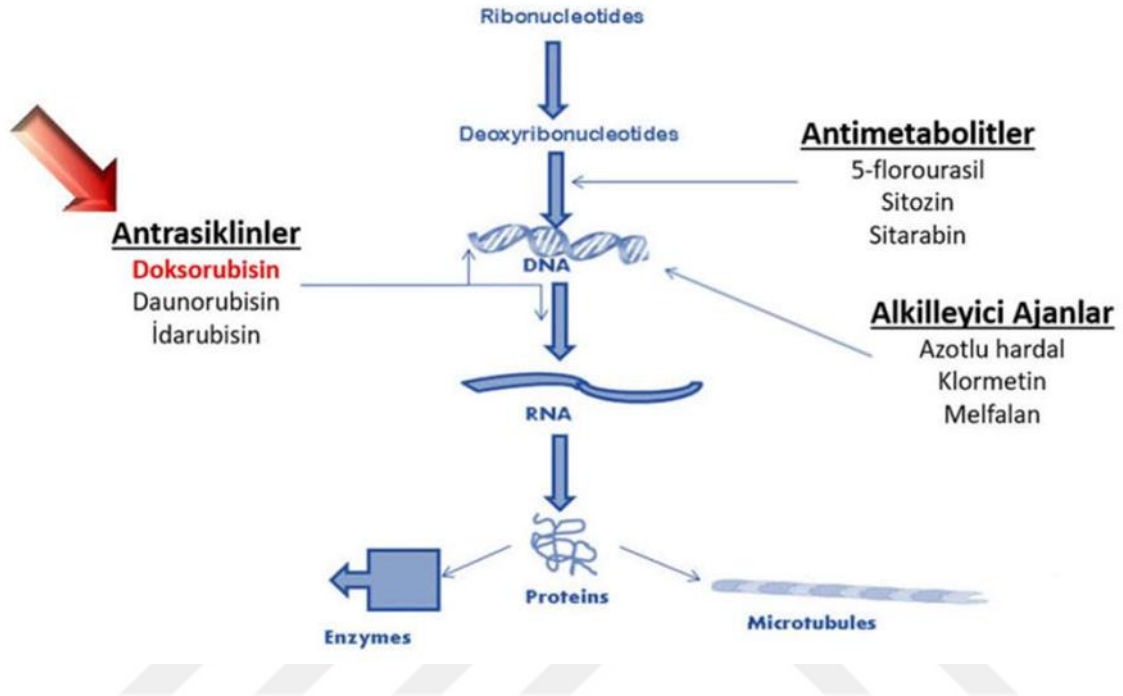
Tedavi amacıyla kullanılan her yöntemin kendi içinde avantajları ve dezavantajları vardır. Bu sebeple kanserin bireye özgü olması, tedavinin bireyler arası farklılıklar göstermesi sebebiyle tedavide kesin ve tek bir yöntem yoktur. Tedavide, hayat kalitesini yükseltmek amacıyla seçilen yöntem yüksek başarı oranına sahip olmalı ve yan etkilerinin de en az olduğu bir yöntem olması gerekir (Çelik ve Bektaş, 2020).

1.2.2. Antikanser İlaçlar

Kanser tedavi yöntemlerinden biri olan kemoterapi; kanserli hücreleri yok etmek amacıyla kemaoteropötik ilaçların uygulanmasını kapsayan bir tedavi yaklaşımıdır (Volkova ve Russel, 2011). Kemoterapi kanserli hücrelerin büyümesini engelleyerek ve yeniden oluşma ihtimalini azaltarak iyileşme sürecine katkıda bulunan yöntemdir (Qin vd., 2017).

Kemoterapilerin olumlu etkilerinin yanı sıra hastalarda bağışıklık sistemi baskılanması, tümör patolojileri gibi istenmeyen etkileri de bulunmaktadır (Muraji vd., 2013; Ghiringhelli ve Apetoh, 2014). Kemoterapi amacıyla kullanılan antikanser ilaçların ortak amacı, hücre metabolizması göz önüne alındığında kanser oluşumunda kritik role

sahip, enzim ve proteinlerin etkinliğini kırarak kanserli hücreleri ortadan kaldırmak ve yeni kanser hücresi oluşumunu baskılamaktır (Huang vd., 2017). Bu amaçla yaygın olarak kullanılan kemoteropötik ilaç grupları Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Bazı kemoterapötik ajanlar ve etki mekanizmaları (Kurreck, 2022'den düzenlenmiştir)

Antikanser ilaç gruplarından olan antimetabolitler, kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup anormal proliferasyona sahip olan kanser hücrelerini, DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir. Kemoterapi amacıyla yaygın olarak aminopterin ve metotreksat kullanılmaktadır (Peters, 2014).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlardan diğeri ise alkilleyici antineoplastik maddelerdir. Bu maddeler DNA'ya bağlanarak iplik ve kromozom kopmalarına sebep olur ve bunun sonucunda hücre ölümüne sebep olarak yada hücre döngüsüne hasar vererek etkisini gösterir. Kanser tedavisinde en yaygın kullanılanları siklofosamid ve mitomisin C'dir (Saffhill vd., 1985; Brookes, 1990; Santos vd., 2005)

Kemoterapi ilaçları kanser tedavilerinde, tek başına yada kombine olarak kullanılmaktadır. Kemoterapi amacıyla kullanılan ilaçlar arasında antrasiklin grubu ilaçlar farklı malignitelerin tedavisinde kullanılan ve oldukça etkili kemoterapötik

ajanlardır (Cai vd., 2019). Lösemi, lenfoma, akciğer kanseri, multiple miyelom, meme kanseri gibi çeşitli katı organ tümörleri ile hematolojik tümörlerde tedavi için kullanılmaktadır (Volkova ve Russell, 2011; Cai vd., 2019).

Antrasiklinlerin tümöral oluşumları yok etmesinin yanında kemik iliğinin baskılanması, saçlarda dökülme, mukozit oluşumu, bulantı ve kusma gibi yan etkileri olmaktadır. Antrasiklin türevleri redoks döngüsüne müdahale ederek reaktif oksijen türlerinin üretilmesiyle DNA hasarına sebebiyet verip çeşitli toksikasyonlara neden olduğu kabul edilmektedir (McGowan vd., 2017). Doxorubicin, daunorubicin, idarubicin ve epirubicin klinik etkileri kanıtlanmış antrasiklinlerdir.

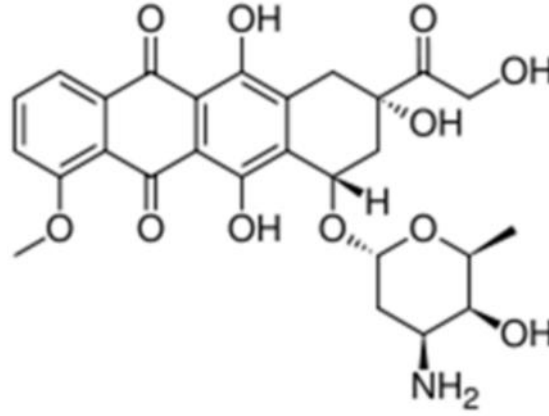
1.2.3. Doxorubicin

Doxorubicinin tarihi 1950 yıllarında İtalyan bir araştırma şirketi tarafından toprak mikroplarından antikanser bileşikleri üretme çalışmalarına dayanmaktadır. DXR streptomyces peucetius kültürlerinden izole edilerek, ilk olarak 1969 yılında bulunmuştur. Hematolojik tümörler, lösemi, meme kanseri gibi çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılmakta olan doxorubicinin tümörlü hücreleri yok ederken böbrek, kalp, kan, testis, karaciğer ve kemik iliği gibi hayati organ ve dokulardaki normal fizyolojik hücrelere de zarar verdiği bildirilmiştir. İstenmeyen toksik yan etkileri ilacın bir antikanser terapötik ajan olarak kullanımını kısıtlanmaktadır. Bu sebeptendir ki kemoterapi tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerini azaltmak maksadıyla yardımcı kimyasal mediyatörlere ihtiyaç duyulmaktadır (Minotti vd., 2004; Malla vd., 2010).

DXR kullanımında hedef, tümör hücreleri olmasına karşın sağlıklı hücrelerin özellikle fizyolojik olarak hızlı bölünüp çoğalma metabolizmasına sahip hücreler üzerinde yan etkilere sahip olduğu ve bu yan etkiler içerisinde de başta nefrotoksisite olmak üzere hepatotoksisite, kardiyotoksisite gibi etkileri bildirilmiş, ayrıca yüksek doz kullanımlarında kardiyak arrest sebebiyle ölümlere yol açtığı rapor edilmiştir (Chen vd., 2016).

Doxorubicin (DXR) kanser tedavilerinde özellikle de hematolojik kanserler (lösemi, lenfoma ve multiple myeloma gibi), solid tümörler ve yumuşak doku sarkomalarında tedavi için kullanılan antrasiklin türevi bir antibiyotiktir. Antrasiklin grubu ilaçlar geniş spektrumlu ve etkili antineoplastik ajanlar olup en yaygın kullanılanları Doxorubicin,

daunorubicin ve idarubicin'dir. Antrasiklinler, antitümör ve sitotoksik etkilerini; hücre döngüsünün replikasyon, transkripsiyon ve rekombinasyon gibi fazlarında DNA yapısını düzenleyen DNA topoizomerez II enzimiyle etkileşerek göstermektedir (Zunino ve Capranico, 1990; Tangpong vd., 2011). DXR kimyasal yapısı Şekil 1.5'de gösterilmiştir.



Şekil 1.5: Doxorubicin'in kimyasal yapısı (McGowan vd., 2017)

Doxorubicin; Adriamisin ticari adıyla piyasada 10, 20, 50, 100, 150 ve 200 mg'lık flakonlarda (2 mg/mL) toz şeklinde ve sıvı çözelti halinde bulunmaktadır. DXR genel uygulama prosedürüne göre 21-28 günde bir 60-75 mg/m² vücut yüzey alanına göre hesaplanarak intravenöz olarak uygulanmaktadır. DXR tedavisinde ilacın damar dışına çıkması bölgesel doku hasarına neden olmaktadır. Yapılan klinik çalışmalara göre uzun süre (kümülatif) DXR uygulanan hastalarda malignitelerin daha sık ortaya çıkabileceğini göstermiştir (Sakemi vd., 1996). DXR ile uzun süreli ya da yüksek dozda tedavinin kardiyotoksisiteye, böbrek ve karaciğer hasarlarına neden olması sebebiyle doz kısıtlayıcı yaklaşımlara gidilmiştir.

1.2.3.1. Doxorubicin'in Metabolizması

Doxorubicin yüksek oranda karaciğer mikrozomal enzimleri aracılığıyla metabolize edilir (Camaggi vd., 1988; Ganey vd., 1988) ve esas metaboliti doxorubicinole ve birkaç hepatotoksik aglikon metabolitine dönüştürülerek (Ballet vd., 1987, Dodion vd., 1987) yaklaşık % 50'si kadar büyük bir kısmı değişmeden vücuttan atılır (Thorn ve ark.,

2011). DXR'nin 2 elektron indirgenmesiyle oluşan sekonder alkol yapısındaki doxorubicinol ana metabolittir (Mordente vd., 2009). DXR'nin karaciğerde metabolizasyonu esnasında karbonil redüktaz 1 (CBR1) enzimi daha aktifken, kalpteki metabolizasyonunda aldoketo redüktaz 1a (AKR1A) enzimi aktiftir (Mordente vd., 2003; Kassner vd., 2008).

Doxorubicinin oksidoredüktazlar ile 1 elektron indirgenmesi sonucu semikinon radikallerinin oluşması da diğer bir yoldur (Minotti, 1989). Bu yolda rol alan enzimler arasında; sarkoplazmik retikulum ve mitokondride yer alan NADH dehidrogenaz (Thornalley ve ark., 1986; Nohl vd., 1998), NADPH dehidrogenaz (Pawlowska vd., 2003), ksantin oksidaz (Gustafson vd., 1991) ve nitrik oksit sentazlar (NOS) görev almaktadır (Vásquez-Vivar vd., 1997; Fogli vd., 2004). Bunun sonucunda oluşan DXR semikinon radikallerinin DXR ile tekrar oksidasyonu, reaktif oksijen türleri ve hidrojen peroksit oluşumuna sebebiyet vermektedir (Minotti vd., 1998). Oksidatif strese neden olan reaktif oksijen radikalleri (ROS), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) ile deaktive edilebilir (Miyamoto vd., 2003).

1.2.3.2. Doxorubicin'in Etki Mekanizması

Yapılan çalışmalar doxorubicinin antikanser özelliğini iki yolla yaptığını öne sürmektedir. Birincisi serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimi; bu radikaller DXR redoks döngüsü tarafından üretilir, ikincisi ise ilacın DNA molekülüne eklenerek topoizomerez II'yi aktive edip DNA zincirinde kırılmalar meydana getirerek yapmaktadır (Kang vd., 1996; Meredith ve Dass, 2016). Güncel literatür DXR'in kalretikülün molekülünü hücre yüzeyine aktardığını ve bu molekülün hücrenin sinyal göndermesine bu sinyal ile de fagosite edilmesine yardımcı olduğunu göstermektedir.

Doxorubicin kemoterapi sürecinde kanserli hücreleri yok ederken organizma üzerinde bazı istenmeyen yan etkilere yol açmaktadır. Nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve fertilité problemlerine sebebiyet verdiği ifade edilmiştir. Bunun yanında ilacın etkisiye mide bulantısı, nefes darlığı, aritmi, kas ağrısı, lökopeni gibi semptomlara ve tıbbi olgulara yol açtığı bilinmektedir (Renu vd., 2018; Prasanna vd., 2020).

1.2.3.3. Doxorubicin Aracılı Nefrotoksisite

Doxorubicin çeşitli organlar üzerinde toksik etki göstermekte, etkilenen organların başında böbrekler gelmektedir. Doxorubicin nefrotoksisitesinin mekanizması tam olarak açıklanamasa da çoğu veride DXR, glomerüllerdeki hemodinamiği değiştirerek inflamatuvar sinyallerin aktivasyonuna, protrombotik anjiyopati ve kristal nefropatisine ve tübüler hasara neden olmuştur (Malyszko vd., 2017). Ayrıca bu toksisitenin oksidan-antioksidan homeostazın bozulması, serbest radikal aşırı üretimi, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu DXR aracılı nefrotoksisiteye katkıda bulunmuştur (Su vd., 2015; Benzer vd., 2018).

DXR ile oluşturulmuş renal hasar dokularda yüksek malondialdehit ve düşük glutatyon düzeyleri ile karakterize edilir. Bunun yanında katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksitdismutaz aktivitelerinin de düştüğü rapor edilmiştir (Periyasamy vd., 2014; Nagai vd., 2018). Böylece oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına neden olarak aşırı serbest radikal üretimi, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile nefrotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (Doroshov, 1983). Oksidatif hasara ek olarak Doxorubicin böbrek dokuları üzerinde inflamatuvar değişikliklere de neden olur. Yapılan araştırmalara göre DXR kılcal damarlarda geçirgenlik artışına, glomerüler ve tübüler atrofiye yol açarak nefrotoksisite gelişmesine sebep olmaktadır (Saad vd., 2001; Periyasamy vd., 2014). Nefrotoksisite plazma kreatinin, üre, ürik asit ve laktat dehidrogenaz aktivitelerinin artması, ayrıca renal Ca^{2+} -ATPaz, Mg^{2+} -ATPaz ve Na^{+} , K^{+} -ATPaz aktivitelerinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Bakker vd., 1987; Öz ve İlhan, 2006).

DXR aracılı, oksidatif strese bağlı gelişen nefrotoksisitenin DNA ile interkalasyon ve hücre membranının parçalanmasıyla oluştuğu ifade edilmiştir (Malyszko vd., 2017; Benzer vd., 2018). DXR uygulanmasıyla böbreğin antioksidan kapasitesi zayıflamakta, akut böbrek yetmezliği gelişmekte, bu tabloyla birlikte böbreğin süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon gibi antioksidan belirteç düzeyleri azalmakta, malondialdehit gibi serbest oksijen radikalleri ve oksidatif strese ilişkin göstergeleri de artmaktadır. Doxorubicin, böbreklerde nefrotoksisiteye yol açarken, antioksidan kapasitesi ve aktivitesi yeterli olmayan diğer organların savunmasız kalmasına ve oksidatif stres nedeniyle fizyolojik işlevlerini sürdürememe, sonrada sekonder sağlık sorunları ve

toksisite hatta hücre, doku ölümlerine kadar uzanan bir tabloyla karşılaşmasına yol açmaktadır (Saad vd., 2001; Rajaprabhu vd., 2007).

Doxorubicinin mitokondriyal membrana bağlanan kreatinin kinazda enzimatik aktivitesinin bozulmasına ayrıca DNA, RNA ve protein sentezinin bastırılmasına neden olduğu bilinmektedir. DXR reaktif oksijen ve nitrojen oluşumunun yanı sıra serbest radikallerin oluşumunu iki yolla stimüle etmektedir. Birincisi hücrel oksidoredüktazların kullanıldığı enzimatik yol, diğeri ise demir (Fe^{3+}) ile kompleksleme yaptığı enzimatik olmayan yoldur (Gille ve Nohl, 1997).

Yaygın olarak kullanılan antrasiklinlerden dauonorubicin ile doxorubicinin karşılaştırıldığı ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada; birbirinden bağımsız olarak uygulandıktan 120 saat sonra böbrek hücrelerinin hiçbirisinde dauonorubicine bağlı immunoreaktivite neredeyse hiç kalmazken doxorubicin uygulananların özellikle distal tübül kanalları olmakla birlikte podosit çekirdeklerinde ve proksimal hücrelerin granüllerinde immunoreaktivitenin güçlü kaldığı ifade edildiğinden (Shin vd., 2010), doxorubicinin yan etkilerini azaltmak için antioksidan savunma sisteminin doğal ve güvenli kaynaklarla desteklenmesi önem arz etmektedir.

Antrasiklin aracılı böbrek hasarına ait bilgilendirme ilk olarak 1970’li yıllarda bildirilmiştir (Lee ve Harris, 2011). Adriamicine bağlı renal hasar ratlarda 1976 yılında (Bucciarelli vd.), farelerde ise 1998 (Chen vd.) yılında yapılmıştır. Burke ve arkadaşları 1977 yılında 78 yaşında bir erkekte Doxorubicin uygulamasına bağlı böbrek yetmezliğini ifade etmişlerdir. Geçmişten günümüze uzanan çalışmalarda hem Doxorubicin nefropatisi aydınlatılmaya çalışılmış hem de buna sebebiyet veren durumlar tespit edilmiştir.

Böbreklerde toksisite meydana geldiğinde doxorubicinin glomerüler podositlere zarar vererek nefropati ve proteinüriye neden olduğu bilinmektedir (Asbell vd., 1972; Park vd., 2003). Doxorubicin kaynaklı nefropati, ilaç mitokondrinin normal işleyişine müdahale ederek mitokondrinin kompleks I ve IV’ünün aktivitesini azalttığında ortaya çıkar. Bu durum trigliserid, süperoksit ve sitrat sentaz seviyelerinin artmasına neden olurken, E vitamini ve antioksidan bileşiklerin seviyelerini azaltır ve lipid peroksidasyonu meydana gelir. Lokal olarak sızan proteinler açıkta kalan böbrek

dokusuyla temas ettiğinde nefron yapısı değişir ve sonuçta glomerüloskleroza yol açar. Glomerülleri etkileyen hastalığın hipertansiyona, steroidlere karşı dirence ve proteinüriye neden olduğu ve sonunda böbrek yetmezliğine yol açtığı bilinmektedir (Carvalho vd., 2009). Karaciğerin aksine, böbreğin yenilenme yeteneği zayıftır. Glomerüller hasar gördüğünde kendilerini iyileştirme yeteneklerini azaltırlar. Glomerüller hasar gördüğünde normal işlevlerini yerine getiremez ve inflamasyon, tübüler dilatasyon ve kılcal damarları etkileyen geçirgenlik gibi glomerüler lezyonlara neden olur (Tacar vd., 2013). Bu durum, kanın kimyasal bileşiminin düzenlenmesi ve sıvı-elektrolit dengesinin ve vücut pH'sının korunmasındaki önemli rolü nedeniyle başta böbreğin kendisi olmak üzere tüm vücudun hasara karşı duyarlılık derecesini artırır.

Yaygın olarak kullanılan Doxorubicin aracılı nefropati, böbrek hasarı modeli oluşturulmasında etkili bir yöntemdir. Mortalite (< %5) ve morbidite (kilo kaybı) kabul edilir düzeyde olmasına rağmen ciddi bir doku hasarı söz konusudur, bu da etkili bir model olduğunu gösterir ki, bu yöntemle ilacın uygulamasından sonraki birkaç gün içinde böbrek hasarı indüksiyonu gerçekleşmektedir. Doxorubicin nefropatisi ratlarda ve farelerde aynı şekilde gelişmekte olduğundan, bu modeli çalışmak için en ideal model kemirgenlerdir. Çünkü kemirgenlerin üreme döngüleri kısadır, kolay temin edilmeleri ve genetik manipülasyonlara imkan tanımalarından dolayı modelin oluşturulması kolay ve avantajlıdır (Lee ve Harris, 2011).

Bu modellemenin dezavantajı ilacın farklı preparatlarının aynı şiddette renal hasarı oluşturamamasıdır. İlacı uygulayan kişilerin tecrübesine bağlı olarak ya kuyruk veninden ya da intraperitoneal olarak uygulanması gerekmektedir. Terapötik indeksi dar olan DXR'in 0,5 mg/kg gibi küçük doz sapmalarında dahi yetersiz renal hasarlanma veya fazla dozdan ölüm şekillenebilmektedir. Bu sebeple DXR aracılı nefrotoksisite modelinde gerek tür içinde gerek türler arasında farklılıklar gözlenmektedir (Lee ve Harris, 2011).

Doxorubicin aracılı nefropati oluşturulurken; tür, cins, yaş, cinsiyet gibi faktörlere bağlı olarak uygulanacak ilacın dozu değişmektedir. Uygulama yolu olarak literatürde kuyruk veni kullanan çalışmalar olsa da bu yöntem ekstrevasiyonun sebebiyet vereceği cilt nekrozu riskini oluşturmaktadır. İntrakardiyak ve intrarenal uygulama yöntemleri de olmasına karşın deneysel modellerde kullanımları yaygın yöntemler değildir. Uygulama

kolaylığı açısından intraperitoneal enjeksiyon, peritondan emilimin bireylere göre değişiklik göstermesine ve renal hasar oluşumunda bir standardının olmamasına rağmen bu modelleme için en tercih edilen uygulama yöntemidir (Johansen, 1981).

Rodentlerde uygulanan deneysel modelde nefrotik sendrom ve kronik böbrek hasarı oluşumu; kreatinin artması, kreatinin klirensinin azalması, serum albümin seviyesinde azalma, dislipidemi ve idrarla protein atılımının artması gibi böbrek fonksiyonlarında bozulma görülür. Bu hayvanların böbrekleri histopatolojik açıdan incelendiğinde tübüler hasar sonucu lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu görülür (Wang vd., 2000).

1.2.4. Böbrek, Nefron, Nefrotoksisite

Böbrekler, metabolik atıkları dışarı atmak ve ekstraselüler sıvının volüm ve bileşimini ayarlamak gibi iki temel fonksiyona sahiptir. Bunun yanında, bu fonksiyonlar aracılığıyla idrar oluşumunu gerçekleştirir (Reece, 2012).

Böbrekler üst lumbar bölgede, peritoneal katman tarafından dorsoabdominal duvara asılmış ve damarlar tarafından beslenen bir organ çiftidir. Onları çevreleyen periton aracılığıyla abdominal boşluktan ayrıldıkları için retroperitoneal yapılar denilmektedir. Her bir böbreğe arteriyel kan renal arter aracılığıyla getirilir, venöz kan ise renal ven tarafından uzaklaştırılır. Renal arter doğrudan aorttan ayrılır, renal ven ise caudal vena cava içine bırakılır (Reece, 2012).

Böbrek insanda ve çoğu evcil hayvanda fasulye şeklinde bir yapıya sahip olup, atlarda kalp, sığırlarda ise lobuler bir yapıdadır. Böbrekler üç katmandan oluşan bir yapı ile sarılmıştır. Bu oluşumlar en içten dışa doğru; fibröz kapsül, adipoz kapsül ve renal fasiyadır. Böbreği dıştan saran fibröz kapsüldür, bu kapsül genişleme kabiliyeti az, bağ dokudan yapılmış sağlam bir katman olup hilus da dahil böbreğin tüm yüzeyini örter. Ancak böbrek dokusuna tamamen yapışmadığı için altındaki dokudan kolayca ayrılabilir. Adipoz kapsül; fibröz kapsülün dış tarafında bulunan yağ katmanıdır, böbreği travmalara karşı korur. Yağ dokusu renal hilustan içeri girerek sinüs renaliste bulunan yapıların arasındaki boşlukları doldurur. Renal fasiya; adipoz kapsülün dış tarafında olmakla birlikte karın duvarındaki ekstraperitoneal yağ dokusunun yoğunlaşmasıyla oluştuğu kabul edilmektedir. Renal fasiya ve adipoz kapsül, adrenal bez ve böbreği beraber sarmıştır (Kuran, 1983; Yıldırım, 2000).

Böbreğe sagittal bir kesit yapıldığında dış tarafta korteks, iç kısmında medulla bölümleri görülür. Medulla, en içte bulunan sinüs renalis ile dıştaki korteks arasında yer alır. Medulla kırmızımtırak renkte ve çizgili yapıda olup, burada geniş kısımları kortekse daralan kısımları ise sinüs renalise uzanan 8-18 kadar koni bulunur. Bunlar renal piramitler ya da malpighi piramitleri olarak ifade edilir. Piramitlerin üst kısımları (papilla renalis) sinusta yer alan küçük kalikslere girer. Renal piramitler, nefronun distal tübüleriyle toplayıcı kanalları içerir. Piramidal borucukların içerisinde bulunan filtrattaki suyun reabsorbsiyonunu yaparak idrarı konsantre hale getirirler. Toplayıcı kanallar daha büyük olan ductus papillarislere, ductus papillarislerde piramitlerin üst kısımlarındaki foramen papillarislerle küçük kalikslere açılırlar. Korteks, renal piramitlerin geniş kısmı ile böbrek kapsülü arasında kalan kısımdır. Sarımtırak-kırmızı renkte olup piramitlerin etrafını sarıp böbrek sinüsüne uzanır. Korteks bölümü çok sayıda düz ve kıvrımlı tübüller, kan damarları ve makroskopik olarak da görülebilen corpusculum renale'den oluşmaktadır (Kuran, 1983; Yıldırım, 2000).

Kalbin bir dakikada pompaladığı kanın yaklaşık $\frac{1}{4}$ 'ü böbreklere gelir, ortalama 70 kg canlı ağırlığındaki bir canlıda dakikada 1,2 litre, bir günde ise yaklaşık 170 litre kanın filtrasyonunu yapar. Her böbrek abdominal aorttan ayrılan renal arterler aracılığıyla beslenirken, renal arterler böbreğin giriş kısmında dallanma yaparak dörde ayrılır. Bu dallar renal hilusta birleşerek renal veni oluşturarak vena cava inferiora açılır. Böbreğin yapısı loblardan oluşur ve her bir lob renal tüpler ve nefronlardan oluşur (Kaye ve Goldberg, 1982). Böbreğin en küçük fonksiyonel birimi nefron olup glomerulus, bowman kapsülü ve proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı tübüllerden oluşmaktadır. Böbreğin fonksiyonu nefronların aktivitesine göre oluşmaktadır. Süzülme için böbreğe gelen kan afferent arteriyolle glomerulusa gelirken, dolaşıma geri dönecek olan kan efferent arteriyolle taşınmaktadır (David ve Aslan, 2005). Efferent arteriyolün uzaklaştırdığı kan peritübüller kapiller ağı dağıtılıp tüm tübüllerin kan ile beslenmesini sağlar. Glomeruler filtrat, Bowman kapsülünde toplanır ve buradan da tübüllere geçer ve distal tübülden sonra toplayıcı kanala aktarılır. Toplayıcı kanallar renal papillada küçük kalikslerle birleşir, idrar bu küçük kalikslardan büyük kalikslere oradan da renal pelvise gönderilerek üreterler aracılığıyla idrar kesesine taşınır, üretra tarafından boşaltılana kadar burada depolanır (Reece, 2012).

Böbreklerin en önemli görevlerinden biri metabolizma sonucu oluşan maddelerin uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Vücut sıvılarının volüm ve bileşimini kontrol ederek, sıvı-elektrolit dengesini düzenlemek de önemli görevlerinden biridir. Homeostazisin sağlanmasında etkili olan böbrekler; toksik maddelerin atılımı ve sıvı elektrolit dengesinin düzenlenmesinin yanında asit-baz dengesinin sağlanması, kan basıncının düzenlenmesi, hormon salgılanması gibi önemli görevleri de vardır.

Homeostazisin sağlanmasındaki en önemli görevlerinden biri vücut sıvılarının içeriğini korumaktır. Bunu vücuttaki sıvı volümünü, ozmolaritesini, elektrolit dengesini ve içeriğini, yoğunluğunu düzenleyerek yapar. Bu düzenlemeyi idrarla atılan su ve elektrolit miktarını değiştirerek sağlar. Bir diğer fizyolojik fonksiyonu metabolizma sonucu oluşan üre, ürik asit, kreatinin gibi atık ürünlerin vücuttan uzaklaştırılmasını sağlamaktır. Bunların dışında böbrekler enzim ve çeşitli hormonların sentezi ve salgılanmasında rol oynar; renin anjiyotensin aldesteron sistemini juxtaglomeruler aparatın aktive etmesiyle kan basıncının düzenlenmesi sağlanır. Korteksin alt kısmıyla medullanın üst kısmına lokalize olmuş olan peritubuler interstisyel hücreler tarafından sentezlenen eritropoetin hormonu, vücudun ihtiyacı olduğunda salgılanarak kemik iliğini uyarıp eritrosit üretimini stimüle eder. Kalsitriol olarak bilinen D vitamininin aktif formunu (1,25 dihidroksikolekalsiferol), kalsiyum miktarı azaldığı zaman üretilmesini ve kalsiyum fosfor dengesinin düzenlenmesini sağlar. Ayrıca afferent ve efferent arteriyollerin arasında bulunan mezengial hücreler tarafından prostaglandin sentezlenir (Guyton ve Hall, 2017).

Böbreğin temel iş gören birimi olan nefron; bowman kapsülü, glomerulus, proksimal tübül, Henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan oluşur. İnsan ve ortalama canlı ağırlığı 60-70 kg civarındaki hayvansal organizmalarda her böbrekte yaklaşık 1,2 milyon nefron bulunmaktadır (Wallace, 1998).

Böbrek fonksiyonları nefron aktivitesiyle ilişkilendirilir. Filtrasyon için kan afferent arteriyol ile glomerulusa gelir ve efferent olarak dolaşıma geri döner. Glomerüler kılcal damarlarına gelen yüksek basınçlı kan ile filtrat kılcal damar duvarından Bowman boşluğuna geçer. Buradan da nefronun tübüler bölümlerinden geçerek içeriği değişir. Bu geçiş ile tübüler hücreler aracılığıyla lümen içeriğinin bir kısmı reabsorbsiyona uğrar. Vücuttan atılacak olanlar ise süzüntü ile lümen içeriğinde kalarak toplayıcı kanallara ve

oradan üreterler aracılığıyla vesica üriaryaya iletilir, üretra ile vücuttan uzaklaştırılır (Brown vd., 1997).

Böbrekler fizyolojik özellikleri bakımından yüksek perfüzyon hızına sahip olmaları sebebiyle zararlı maddelerin etkilerine maruziyet açısından hassastırlar. Nefronlar arasındaki yapısal farklılıklar toksikasyon durumuna verdikleri cevabın da farklı olmasına neden olur. Bu farklılıklar sebebiyle böbreğin bir kısmı bir ajana duyarlı olurken diğer kısmı aynı ajana direnç gösterebilmektedir. Proksimal tübüller hücre yapıları nedeniyle nefrotoksisite oluşumunda en fazla hasar alan nefron bölümüdür (MacFarlane vd., 1989; Pfaller ve Crowell, 1998). Oysa proksimal tübüllerin ilk kısımları böbreğin diğer iç kısımlarında yer alan bölümlerle karşılaştırıldığında oksidatif hasara karşı daha dirençli olduğu görülmüştür (Guder ve Morel, 1992). Tübül epitel hücrelerinin kendilerini yenileme yetenekleri hızlı olurken, glomerul ve medullada yer alan hücrelerin kendini yenileme kabiliyetleri ya daha yavaştır ya da hiç yoktur. Bu sebeple bu bölgede toksik maddeye sürekli maruziyet kronik böbrek yetmezliğine neden olmaktadır. Toksik maddelerin oluşturduğu hasarı nefronlar belirli bir seviyeye kadar telafi etme yeteneğine sahiptirler. Böbrek hasarının şiddetinin belirlenmesinde glomeruler filtrasyon hızı ve elektrolitlerin emilim miktarındaki değişimler değerlendirilir. Böbrekler için toksisite oluşturması muhtemel maddeler; bütün ilaçlar ve kimyasallar, ağır metaller, hemoglobin, miyogloblin, organik kimyasallar gibi maddelerdir (James vd., 2004; Brown vd., 1997). Böbrek hastalıklarının görülme sıklığı her geçen gün artmakta, böbrek hastalıkları oluşumunda en yüksek risk faktörü nefrotoksik ilaç kullanımı olmaktadır (Liyanage vd., 2015; Seyahi vd., 2017). Nefrotoksik olan ve günümüzde kanser tedavilerinde kullanılan ilaçlar sitotoksik olmaları sebebiyle böbrek hasarı oluşumuna neden olurlar. Bu durum kanser hastalıklarının tedavilerinde problem oluşturmakta aynı zamanda kanser ilaçlarının kullanım dozunu da sınırlamaktadır (Choie vd., 1980; Bazmandegan vd., 2019). Bu sebeple son yıllarda kanser tedavilerinde alternatif preparatlar ve özellikle fitokimyasallar ve bitkisel kaynaklar sıklıkla denenmektedir.

1.2.4.1. Böbrek Fonksiyon Belirteçleri

Böbrekler metabolizma sonucu oluşan atık ürünleri atmakla görevlidir. Böbreklerde meydana gelebilecek herhangi bir hasar sonucunda böbrekler fonksiyonlarını yeterince

yerine getiremez ve atık ürünler vücuttan uzaklaştırılmaz. Böbrekte hasar olduğunda miktarlarında değişim gözlenen birçok parametre vardır. Bunlar arasında böbreklerde hasar tespitinde en çok yaralanılan parametreler, kan üre azotu (BUN), kreatinin ve ürik asittir.

Üre, protein metabolizması ürünü olup karaciğerde amonyaktan sentezlenmektedir. Glomeruluslar tarafından filtrasyona tabi tutulur fakat proksimal ve distal tübüllerde değişik derecelerde (böbrek kan akımı ve idrar miktarına bağlı olarak) pasif şekilde reabsorbsiyona uğrar. Böbrekler tarafından atılımı gerçekleşen üre; protein katabolizması sürecini yansıttığı için kan üre düzeyi açlık, ateş, yanık gibi doku nekrozuna sebebiyet veren durumlarda BUN miktarı azalabilir. Serum düzeyi sabit olmayan üre, yüksek protein içerikli diyet sonrasında artabilir. Filtrasyona tabi tutulan ürenin yaklaşık % 50'si çoğunlukla proksimal tübüllerden reabsorbe edilir. Dolayısıyla proksimal tübüllerde sodyum ve su reabsorbsiyonunu arttıran her türlü uyarı kan üre düzeyini arttırdığı ifade edilmektedir (Carlson, 1990; Yeniçerioğlu vd., 2019).

Kreatinin, beslenme ile alınan hayvansal proteinlerle ve iskelet kasındaki fosfokreatinin metabolizması sonucunda oluşur. Vücuttaki üretimi kas kütlesiyle orantılıdır. Miktarı yaş, cinsiyet ve vücut kitlesine göre değişmektedir. Genelde dolaşıma sabit mikatlarda geçer ve proteine bağlanmaz, glomerullardan serbest bir şekilde filtre edilir, tübüllerden reabsorbsiyona uğramaz, sadece proksimal tübüllerden sekresyona uğrar. Kreatinin sekresyonunun artmasına yada azalmasına sebebiyet veren pek çok durum vardır. Böbrekler tarafından atıldığı için böbrek yetmezliğine sebebiyet veren durumlarda kreatinin miktarında artış gözlenir. Glomeruler filtrasyon hızı düştükçe kandaki kreatinin miktarı da artmaktadır. Kreatinin karaciğerde metilasyona uğradığı için karaciğer hastalıklarında miktarında azalma gözlenir.

Ürik asit, vücut hücrelerinde ve gıdalarda bulunan pürin nükleotidlerinin katabolizması sonu oluşan son üründür. Pürinlerin parçalanmasıyla oluşan ürik asit kanda çözünerek böbreklere gelir ve idrarla dışarı atılır. Serumda bulunan ürik asit miktarı arttığı zaman ürik asit kriztalize olur ve çöker. Ürik asit miktarının artması, renal vazokonstriksiyon, sistemik hipertansiyon, tubulointerstitiyel hasar, nitrik oksit sentaz yapımında azalma ve afferent arterlerde bozulmaya sebebiyet vermektedir (Johnson vd., 2009; Şengül vd., 2011). Sağlıklı bireylerde ürik asit glomeruluslardan tamamı filtre edildikten sonra

proksimal tübüllerden geri Emilimi gerçekleşir ve filtre edilmiş olan ürik asidin yaklaşık %10'u idrarla dışarı atılır. Böbreklerde hasar olduğunda ürik asit miktarlarında artış olur, glomeruler filstrasyonda azalma görülür. Böbreklerde meydana gelen hasar ile ürik asidin atılımı yapılamaz ve biriken ürik asit renal epitel hücrelerinin yüzeyine yapışarak böbrek taşı oluşumuna neden olur (Chaundhary vd., 2013; Su vd., 2014).

Böbrek hasarının tespit edilmesinde güvenilir parametreler olarak değerlendirilen Nötrofil Gelatinöz ilişkili Lipokain (NGAL) ve böbrek hasar molekülü (KIM-1) tübüler hasar için biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Clerico vd., 2012; Tian vd., 2018). Nefronların distal tübül kısmından sentezlenen NGAL, akut nefrotoksisitenin meydana getirdiği tübüler hasar ve inflamasyon tablosunda önemli bir belirteç olduğu ifade edilmektedir (Schmidt-Ott vd., 2007; Devarajan, 2008). KIM-1 ise sağlıklı böbreklerde yok denecek kadar az olan fakat hasar meydana gelmiş böbreklerin tübüler hücrelerinde özellikle proksimal tübüllerinden fazlaca eksprese edilen transmembran bir glikoproteindir (Tian vd., 2018). Renal tübüler hasarın tespit edilmesinde hem NGAL hem de KIM-1 güvenilir olması sebebiyle kullanılmaktadır (Schrezenmeier vd., 2017).

Böbreklerde renal tübüler epitelyumundan suyun geri Emilimini sağlayan yada sekresyonuna izin veren Aquaporinler (AQP), transmembran glikoproteinleridir (Kishore vd., 2000). Memelilerde, 7 ytanesi böbreklerde olmakla birlikte toplam 13 alt tipi bulunmaktadır (Cen vd., 2015). AQP-1 proksimal tübül ve inen Henle kulpundaki epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranlarında ve ayrıca dış medular inen vasa rectanın mikrovasküler endotelinde çok miktarda bulunur (Verkman, 2002). Fizyolojik su dengesinin sağlanmasında önemli rolü olan böbrekler AQP fonksiyonlarının en iyi anlaşıldığı yerdir. AQP'ler nefronların farklı segmentlerinde belirli bir dağılım gösterirler ve suyun geri Emilimiyle idrarın oluşumunda etkin rol oynarlar (Verkman vd., 2001; Nielsen vd., 2002). Böbreklerde meydana gelen hasar durumunda AQP'lerin seviyelerinde azalma görülmektedir (Gao vd., 2006; Kuzu vd., 2018).

1.2.4.2. Oksidatif Stres ve Böbrekler

Serbest oksijen radikalleri (SOR) dış orbitallerinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektron içeren bileşikler olup hücre metabolizmasındaki tepkimeler sırasında ortaya çıkar. Oksijenli solunum yapan organizmalarda sürekli olarak serbest oksijen radikalleri

üretilmektedir. Fizyolojik olarak oksidan üretimi antioksidan mekanizmalar tarafından dengelenmekte ve oksidatif hasar oluşması önlenmektedir (Dündar ve Aslan, 2000). Serbest radikalleri ile bunları tamponlamak için çalışan antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasına oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stres lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA'da mutasyona ve zincir kırılmalarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletiminde bozukluklara sebebiyet vererek hücre hasarı meydana getirmektedir (Atmaca ve Aksoy, 2009; Derviş, 2011).

Antioksidan savunma mekanizmaları hücrelerde meydana gelen oksidatif hasarın önlenmesinde rol oynarlar. Oksidatif stres tablosunda organizma reaktif oksijen radikallerinin üretimini engellemeye çalışır yada bunların sebebiyet verdiği hasara karşı proteinleri onararak karşı koymaya çalışır. Bilinen antioksidan savunma mekanizmaları; enzimatik antioksidanlar (CAT, SOD, GPx) ve nonenzimatik antioksidanlar (GSH, NADPH, E vit, C vit gibi) olarak sınıflandırılmaktadır. Enzimatik antioksidanlardan olan süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. SOD aktivitesinde artış olmasıyla meydana gelebilecek hidrojen peroksit CAT ve GPx enzimlerinin aktivitelerinin artmasıyla kontrol edilir (Dündar ve Aslan, 2000; Koca ve Karadeniz, 2005). CAT, hücrelerde peroksisom organellerinde bulunur. Enzim aktiviteleri dokulara göre farklılık göstermekle birlikte böbrek ve karaciğerde en yüksek düzeyde aktivite gösterdiği bilinmektedir (Dizdaroğlu vd., 2002; Koca ve Karadeniz, 2005). Ortamdaki hidrojen peroksit yoğunluğu arttığında CAT enzim aktivitesinde de artış gözlenir. Eğer ortamda bulunan hidrojen peroksit konsantrasyonu düşük ise diğer antioksidan enzimler dahil olurlar ve hidrojen peroksiti substrat olarak kullanarak ortamdan uzaklaştırılırlar (Dat vd., 2000). CAT ve GPx enzimleri benzer etkileri olmasına karşın hücre içindeki yerleşimleri ve etkileri açısından farklıdırlar. GPx enzimi başlıca sitozol ve mitokondride, CAT enzimi ise peroksisomlarda bulunur (Eşrefoğlu, 2009; Derviş, 2011). Nonenzimatik antioksidanlar grubunda yer alan glutatyon (GSH), karaciğerde glutamik asit, sistein ve glisinden sentezlenmekte, hücrede ise en çok sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunmaktadır. Hücre içi GSH'nın büyük bir kısmı indirgenmiş (tiyol) olarak ki antioksidan özelliğini sağlayan kısımdır, daha az bir kısmı ise okside glutatyon (GSSG) formunda bulunur. GSH hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif

oksijen türlerini temizler ve diğer serbest radikaller ile peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasardan korur (Koca ve Karadeniz, 2005; Eşrefoğlu, 2009).

Lipidler serbest oksijen radikallerine karşı en duyarlı biyolojik moleküllerdendir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, SOR ile kolay bir şekilde tepkimeye girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. SOR'un oluşturduğu bu lipid peroksidasyonu nonenzimatik lipid peroksidasyonu olarak ifade edilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu özellikle üç yada daha fazla çift bağ içerenler, malondialdehit (MDA) oluşturur (Steinberg ve Chait, 1998; Vincent vd., 2004). MDA yağ asidi oksidasyonunda spesifik bir belirteç olmayıp lipid peroksidasyonunun derecesine bağlı olarak seyrederek. Peroksidasyonla oluşan MDA membran bileşenlerinde çapraz bağlanmalara ve polimerizasyona neden olur. Bunun sonucunda ise deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre protein agregasyonu gibi membran özelliklerinin bozulmasına neden olur (Steinberg ve Chait, 1998; Taysi, 2005). Mitokondriyal zar bütünlüğü bozulduğunda daha fazla SOR üretimine yol açabildiği ifade edilmektedir (Smith vd., 2007).

Oksidatif stres birçok dokuda hasar oluşturmaktadır, bu dokulardan birisi de böbreklerdir. Böbreklerde oksidatif stres sonucunda oluşan hasar neticesinde albüminüri, proteinüri, hiperlipidemi, nefrotik sendrom gibi durumlar ortaya çıkmaktadır. Bunlarla birlikte glomerüler filtrasyon hızının düşmesine, glomerüller kapillerlerde hasara, tübüler atrofiye neden olarak böbreklerde fonksiyonel bozulmalar oluşturmaktadır. Böbreklerde bu hasarın oluşmasında serbest radikallerin hücre membranı fosfolipit yapısında peroksidasyon oluşturup membran geçirgenliğinde bozulmalara sebebiyet vermektedir (Dündar ve Aslan, 2000; Alkorlar vd., 2017).

1.2.4.3. Sitokinler ve Böbrekler

Sitokinler, metabolizma, enflamasyon ve kan basıncı gibi çeşitli fizyolojik sürecin kontrolünde kritik öneme sahip küçük proteinlerden oluşan büyük bir gruptur. Hücresel doku ve organizmada homeostazisin sağlanmasında dengeyi sağlayan önemli unsurlardır. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasında dengede meydana gelebilecek bozukluklar, çok sayıda inflamatuvar hastalığın oluşmasına sebebiyet vermektedir (Vilcek ve Feldman, 2004; Lin ve Karin, 2007). Sitokinler farklı hücrelerce üretildikleri ve farklı hücreleri etkiledikleri için işlevlerine ve kaynaklarına göre

kategorize edilmektedirler. Lökositlere etki eden sitokinler interlökin olarak adlandırılır ve lökositleri uyarak farklılaşmalarını, çoğalmalarını sağlarlar. Konak savunması için sitokin yanıtlarının optimize edilmesinde lökositlerle etkileşime giren parankim hücrelerinin de rolü olduğu ifade edilmektedir. Sitokinler lenfositler tarafından sentezlendiğinde lenfokin olarak isimlendirilirken monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenenler monokin olarak tanımlanır. Mevcut literatüre göre lenfokin ve monokin ifadeleri çıkarılmış ve temel işlevleriyle tanımlanan interlökin (IL) ifadesi kabul görmüştür. Fonksiyonlarına göre sitokinler; interferonlar, tümör nekroz faktör (TNF), kemokinler şeklinde sınıflandırılmaktadır (Holdsworth ve Gan, 2015; Carpenter ve Fitzgerald, 2018).

Çok sayıda interlökin bulunmakta olup bu çalışmada değerlendirmeye alınan interlökinler IL-1 β , IL-10, TNF- α , NF- κ B, iNOS ve p38 α MAPK böbrek dokusunda yangı parametleri olarak değerlendirilmiştir. IL-1 endojen pirojen veya lenfosit etkinleştirici faktör olarak da ifade edilmekte, endotel hücreleri, dendritler, astrositler, makrofajlar, nötrofiller ve T ile B lenfositlerde üretilmektedir. IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki gene sahiptir. IL-1 α üretildiği hücrede kalıp, hücre bir başka hücre ile temas ettiğinde etkisini gösterirken IL-1 β eriyebilen aracı bir protein olarak etkisini gösterir. IL-10, sitokin üretimini azaltıcı faktör olarak da ifade edilen, yardımcı T lenfositler, B lenfositler, mast hücreleri, monositler, makrofajlar ve eozinofiller tarafından üretilmektedir. IL-10; interferonlar, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-6 ve TNF- α ve β gibi sitonkinlerin üretilmesini ve makrofajların antijen sunma kabiliyetlerini azalttığı ifade edilmiştir (Quesniaux, 1992; Lalani vd., 1997; Önder ve Keskin, 2006).

Proinflamatuvar sitokinlerden olan TNF- α ve IL-1 β gibi sitokinler aktif makrofajlardan sentezlenerek, inflamatuvar reaksiyonları aktive edici rol oynarlar (Elshopakey ve Elazab 2021). NF- κ B yangı gelişiminde kritik bir rol oynamakta olup TNF- α başta olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin salınımına etki etmektedir. TNF- α salınımı artınca inflamatuvar yanıtın oluşması için gerekli IL-1 β gibi sitokinlerin sentezlenmesini sağlar (Kaygusuzoğlu vd., 2018). İnflamasyon süreci ile ilişkili sinyaller tarafından fosforilasyonla aktive edilen p38 α MAPK sinyal yolağı, böbreklerde inflamasyonun düzenlenmesinde rol alan önemli sinyal yollarından biridir (Tu vd., 2013).

1.2.4.4. Apoptoz ve Böbrekler

Programlı hücre ölümü olarak ifade edilen apoptoz, gen düzeyinde hassas bir şekilde düzenlenip DNA hasarıyla yada gelişim sırasında oluşanlar gibi hasarlı hücrelerin düzenli ve etkili bir şekilde ortadan kaldırılma sürecidir (Fuchs ve Steller, 2011). Karmaşık bir mekanizması olan apoptoz birçok sinyal yolunu içermektedir. Apoptoz bir hücrede kaspaz aracılı ekstrinsik (dış) veya intrinsik (iç) yollar ile tetiklenebilmektedir. Her iki yol da efektör apoptotik kaspazları aktive etmek için birleşir ve sonuçta apoptozun morfolojik ve biyokimyasal özellikleriyle hücresel değişikliklere neden olur (Wong, 2011). Proapoptotik ve antiapoptotik protein düzenleyicileri arasındaki denge, bir hücrenin apoptoza girip girmediğini belirleme açısından kritik bir durumdur.

Apoptotik ölümlerin ortak süreci kaspaz aktivasyonudur. Kaspazlar, proteinleri aspartik kalıntılardan sonra parçalayan sistein proteazlardır. Proenzim olarak üretilip proteolitik parçalanmayla aktive olur. İnflamatuar yanıt, hücre proliferasyonu ve diferensiyasyonu gibi apoptotik olmayan süreçlerde de etkili olduğu bildirilmiştir (Chowdhury vd., 2008). Kaspaz aktivasyonu son bulan mitokondriyal yolak (intrinsik) ve ölüm reseptörü yolağı (ekstrinsik) birbirleriyle bağlantılı olup, bir yolaktaki molekülün diğer yolağı etkilediği ifade edilmiştir (Igney ve Krammer, 2002). Apoptotik kaskadlar farklı yollarla işlevlerini yerine getirmekte olup bazı kaskadlar intrinsik transkripsiyonel programlarla yada ekstrinsik ölüm sinyalleriyle tetiklenir, bazıları da mitokondriyal sitokrom-c salınımı veya proapoptotik faktör birikimi söz konusu olmaktadır.

Mitokondriyal yol olarak da ifade edilen intrinsik yol Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) gen ailesi üyeleri tarafından regüle edilir. İçerdikleri homolog domainlerine göre Bcl-2 ailesi, sağlıklı hücrelerde antiapoptotik mekanizma olan Bax/Bak'ı baskılar. Bcl-2'nin Bax'a oranı apoptotik uyarının, yaşam yada ölüm olarak nasıl devam edeceğini belirler (Oltvai vd., 1993). Apoptotik süreçte ortaya çıkan sitokrom-c gibi proapoptotik proteinler sitozole geçer. Sitozole geçen sitokrom-c, Apaf-1 ile birlikte apoptozom olarak bilinen kaspaz aktive edici kompleksi oluşturur. Bu süreçlerin sonunda DNA, nükleozomal parçalarına ayrılır ve meydana gelen apoptoz bazı yöntemlerle (western blot, Tunel, jel elektroforezi gibi) ölçülerek tespit edilir (Xu vd., 2016).

Ekstrinsik yolun regülasyonun da; istenmeyen yada potansiyel olarak tehlikeli hücrelerin ortadan kaldırılması için TNF (tümör nekroz faktörü) reseptörü ailesine ait hücre yüzey ölüm reseptörleri, sürecin başlangıç aşamasında ölüm ligandlarını tanır.

Ölüm ligandlarıyla ölüm reseptörleri arasında meydana gelen etkileşim spesifik protein-protein bağlantıları ile oluşmaktadır. Bu reseptörler sisteinden zengin hücre dışı bölgeleri ve ölüm bölgesi olarak adlandırılmakta olup yaklaşık 80 aminoasitlik sitoplazmik alana sahiptirler. Bu sitoplazmik alan, apoptozun başlaması için sinyalin hücrenin yüzeyinden hücre içine iletilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Peter ve Krammer, 2003).

Böbreklerde apoptoz oranı en fazla gelişim sırasında görülmektedir (Koseki vd., 1992). Apoptoz, böbrek hasarına sebep olan olgularda böbrek epitel hücrelerinin kaybına neden olmaktadır (Hughes ve Savill, 2005; Lorz vd., 2006). Nefrotoksisite oluşturulan çalışmalarda, apoptozun endoplazmik retikulum (ER) tarafından başlatıldığı ve kalsiyum homeostazisindeki bozukluklar yada yanlış katlanmış proteinlerin birikimiyle tetiklendiği ifade edilmiştir. Bunun sonucunda mitokondriyal yolun da dahil olmasıyla kaspaz bağımlı ve bağımsız yollarla hücre ölümünü başlatmak için ortaya çıkan çoklu sinyal yolları oluşmaktadır (Feri ve Kroemer, 2001; Breckenridge vd., 2003; Xu vd., 2005). Böbrek ve böbrek dışı hücrelerde mitokondriyal membran, stres sırasında intrinsik ve ekstrinsik proapoptotik ve antiapoptotik sinyallerin entegrasyonu için kilit bölge olarak kabul edilmektedir. Proapoptotik ve antiapoptotik mekanizmalar arasındaki denge bozulduğunda hücrelerin dış mitokondriyal membranını açarak, hücrelerin ölüp ölmeyeceğini belirler (Zamzami ve Kroemer, 2001). Mitokondriyal permeabilizasyonu, sayıları az olan Bcl-2 ailesi proteinleri tarafından düzenlenmektedir. Mitokondriyal membranın korunması önemlidir çünkü stres kaynaklı permeabilizasyon sitokrom-c gibi proapoptotik proteinlerin kaspaz bağımlı ve bağımsız yolları aktive etmesine neden olur (Hengartner, 2000). Böbrek epitel hücrelerinde membran geçirgenliğini arttıran Bcl-2 ailesi proteinlerinden Bax ve Bak'tır. Bcl-2 ve Bcl-XL ise Bax ve Bak tarafından gerçekleştirilen membran saldırısını antogonize ederler. Hücre ölümünün birincil belirleyicisi Bax/Bcl-2 oranının artması olarak kabul edilmektedir (Korsmeyer, 1999). Renal hücrelerde meydana gelen iskemi Bax'ı aktive edip Bcl-2'yi azaltmaktadır (Wang vd., 1999; Chien vd., 2005; Havasi vd., 2008).

Doxorubicin apoptotik yolların tetiklenmesinde, serbest radikaller ve oksidatif stresin artmasına sebebiyet vererek çeşitli biyolojik moleküllerde oksidatif hasara ve membran lipid peroksidasyonuna neden olur (Sun vd., 2016).

1.2.5. Cinnamaldehyt

Yaygın olarak bilinen ve kullanılan bir fitokimyasal olan Cinnamaldehyt (CA), yunancadan türetilmiş bir kelime olan cinnamon (tarçın-tatlı odun) bitkisinin biyoaktif kimyasalıdır. Tarçın yaprak dökmeyen tropikal bir ağacın iç kabuğundan elde edilir. Antik çağlardan günümüze kadar gelen, sadece güzel koku ve aroması için değil sağlığa olan yararları için de kullanılan doğal bir maddedir (Shan vd., 2007; Vinitha ve Ballal, 2008).

Bugüne kadar 250 tarçın türünün üretildiği ancak bunlardan yalnızca 4 tanesinin tarçın baharatı üretiminde kullanıldığı bilinmektedir. Çin tarçını olarak bilinen *Cinnamomum cassia* ve gerçek tarçın olarak bilinen *Cinnamomum zeylanicum* (*Cinnamomum verum*) en yaygın bilinen tarçın türleridir. Tarçın üretiminde öncü olan ülke Sri Lanka olup seylan tarçını olarak bilinen *Cinnamomum zeylanicum* tarçının buraya özgü türüdür. Sri Lanka tarçını diğer tarçınlardan ayıran özelliği kumarin içeriğidir. Kumarin güçlü antioksidan olmasına rağmen yüksek dozlarının karaciğerde toksik etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (Ranasinghe vd., 2017). Günümüzde gittikçe önemli hale gelen antioksidan güvenliği göz önüne alındığında Sri Lanka tarçınının kumarin içeriği oldukça düşük miktarlardadır (Blahova ve Svobodova, 2012). Bilinen diğer bir tarçın türü *Cinnamomum cassia* olarak da bilinen Çin tarçınıdır. Ancak Çin tarçını görüntüsü itibarıyla seylan tarçınına benzese de bileşen olarak farklılıkları vardır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin (EFSA) verilerine göre bir günde alınması önerilen kumarin miktarı ortalama 70 kg canlı ağırlığına sahip bireyler için 7 miligramdır. Çin tarçının 1 gramında bulunan kumarin miktarı 3,8 miligramken, aynı miktardaki Seylan tarçınında bulunan kumarin miktarı ise 0,1 miligram olarak ifade edilmiştir. Soygan tarçını ya da Vietnam tarçını olarak ifade edilen *Cinnamomum loureirii* 1 gramında ise 6,8 miligram kumarin bulunmaktadır (EFSA, 2008; Koyu, 2019).

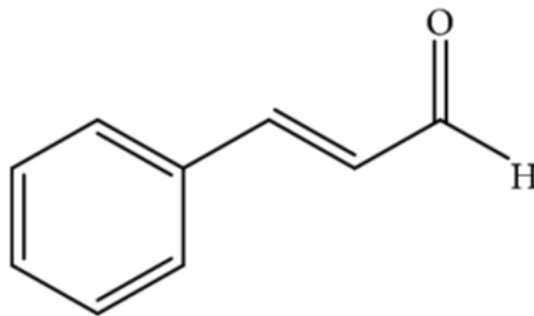
Tarçın; Cinnamaldehyt (CA), trans-cinnamik asit, eugenol, flavonoidler, fenolik bileşikler, terpenoidler gibi çok sayıda bileşik içermektedir (Jain vd., 2015). Cinnamaldehyt miktarları, tarçın türüne göre değişmekle birlikte seylan tarçını olarak bilinen *Cinnamomum zeylanicum*'da % 65-70 oranında, Çin tarçınında ise % 85-90 seviyelerindedir. Bu oranlar tarçının kalitesini belirlemekte ve kalitesine göre değişmekte olduğu bildirilmiştir (Kızılaslan ve Erdem, 2019). Yapılan klinik çalışmalar

Çin tarçınının Seylan tarçınına göre daha etkili olduğunu ve tarçın özütlerinin kabuk tarçınlarına göre etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermiştir (Gruenwald vd., 2000).

Tarçın kabuğu olarak bildiğimiz formu; ağacın dış kabuğunun soyulması ve iç kabuğunun kıvrılıp kurumasıyla olmaktadır. Piyasada kabuk tarçın olarak ve yahut öğütölüp toz haline getirilmiş formuyla bulunmaktadır. Tarçın en çok insülin direnci, tip II diyabet, metabolik sendrom, artrit ve hiperlipidemi gibi çok sayıda klinik durumlarda takviye olarak kullanılmaktadır (Medagama, 2015). Fakat tarçının bileşenlerinin metabolik etkileri üzerine yapılan çalışmalar değışkenlik göstermektedir (Bingöl ve Karabulut, 2012).

Tarçın etken maddelerine bakıldığında zaman içerisinde; CA, kumarin, polifenoller gibi birçok maddenin yanı sıra demir, bakır, kalsiyum, fosfor, iyot, krom, mangan, çinko ve potasyum gibi elementler de içermektedir (Bingöl ve Karabulut, 2012). Yapılan çalışmalarda tarçının etkinliğinin hangi bileşenden ileri geldiği pek bilinmiyorken suda çözönen bileşenleri ayrıştırlarak yapılan son çalışmalarda tarçının etkinliğini bu bileşenlerle gösterdiği ileri sürölmüştür (Anderson vd., 2004).

Tarçına kokusunu ve aromasını veren ve lezzetinin kaynağı olan CA, uçucu bir yağ olup tarçının ana bileşenidir. Cinnamaldehit uçucu yağ Jean-Baptiste Dumas ve Eugène-Melchior Péligot tarafından ilk olarak 1834 yılında izole edilmiş ve 1854 yılında İtalyan kimyager Luigi Chiozza tarafından laboratuvarında kimyasal sentezi yapılmıştır (Ashakirin vd., 2017; Pathirana vd., 2019).



Şekil 1.6: Cinnamaldehit moleköler yapısı (Hajinejad vd., 2020)

Cinnamaldehyt kan şekerini ve kolesterolü düşürücü özellikleriyle bilinmekte ve bu özelliği sebebiyle geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Bernardo vd., 2015). Yapılan çalışmalarda bu özelliklerin yanı sıra antikanserojenik, kemopreventif, antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik, antiviral ve nöroprotektif etkilerinin olduğunu da göstermiştir (Li vd., 2019; Guo vd., 2017; Youn vd., 2008). Ayrıca CA'nın ve diğer bileşenlerinin böbrek, karaciğer, kalp (Mathew ve Abraham, 2006; Noori vd., 2012), beyin ve pankreas (Khasnavis ve Pahan, 2012; Malik vd., 2015) gibi farklı dokular üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir.

Etki mekanizması incelenen Cinnamaldehyt, IL-6 ve TNF gibi inflamasyonu stimüle eden mediyatörlerin baskılanmasını sağladığı bilinmektedir (Chao vd., 2007). İskemik inme modeli oluşturulan bir çalışmada işlem öncesi CA uygulanması sonucunda enflamatuvar moleküllerin salınımını düzenlediği ve iskemi alanıyla nörolojik defisit (kayıp/hasar) skorunu azalttığı rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2016b). Cinnamaldehyt'in COX-1, COX-2, p53, tromboksan A2 oluşumunu azaltıp, trombosit kümelenmesini ve vazokonstriksiyon oluşumunu önlediği de bildirilmiştir (Guo vd., 2017; Huang vd., 2007).

Cinnamaldehyt'in nefroprotektif özelliği üzerine literatürde yeterli bilgi bulunmamakla birlikte yapılan bir çalışmada asetaminofen ile oluşturulmuş nefrotoksisite karşısında tarçın yağının oksidatif stres, apoptoz, ve inflamasyon üzerine iyileştirici etki yaparak böbreği koruduğu bildirilmiştir (Alshahrani vd., 2021).

Siklofosfamid ile oluşturulmuş renal toksisite çalışmasında CA'nın böbrekteki MDA düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ve serum kreatinin ile kan üre azot miktarını önemli düzeyde azalttığı rapor edilmiştir (El Salam vd., 2023).

Sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu düşünülen tarçın, üzerine çalışmalar yapılan önemli bir baharat türü olmuştur. Bu çalışmalar arasında antikanser niteliği üzerine araştırmalar yapılması önem kazanmıştır. Tarçının ana bileşenlerinden olan CA'nın antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerinin olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada cinnamaldehytin hücresele antioksidan gibi davranarak kanserin etkisini azaltmaya yardımcı olduğu bildirilmiştir (Chew vd., 2010; Wang vd., 2015).

Doğal bileşenlerin sentetik ilaçlara göre daha az zararlı olması ve yüksek doz toleransına sahip olması ile bu bileşenler antikanser ilaç geliştirilmesinde önemli kaynak oluşturmaktadırlar. Çeşitli sentetik ilaçlara göre daha güvenilir bir alternatif olabilecekleri göz önüne alınarak bitkiler ve fitokimyasallardan yararlanmaya yönelim artmaktadır. Potansiyel antikanser bileşiğinin en belirgin etkisi kanser hücreleri canlılığında oluşturduğu değişikliklerdir.

Cinnamaldehit'in insan premiyelositik lösemi hücrelerinde sitotoksik ve apoptoz indüksiyonuna etkilerini araştıran bir çalışmada; CA'nın reaktif oksijen üretimi ile apoptoz sinyalini ilettiğini böylece mitokondriyal geçirgenliği ve sitokrom-C salınımını indükleyerek apoptoz indükleyici etkisinin olduğu gösterilmiştir (Chao vd., 2008). Apoptozu indükleme özelliğini gösteren, mesane kanseri hücre hattında *in vitro* olarak yapılmış olan bir diğer çalışmada CA'nın kanserli hücre hattını inhibe etmek için ısı şoku protein transkripsiyon faktörü-1 (HSF-1), epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (ErbB2) ve laktat dehidrojenaz A (LDHA) üzerine etki ederek bu yolları baskıladığı rapor edilmiştir (Aminzadeh vd., 2022).

Moon ve Pack tarafından 1983'te lösemi (L1210) hücre hattında yapılan bir çalışmada Cinnamaldehit'in kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkisinin olduğu bildirildi. Malign hücrelerin büyümesini yarıya indiren etki ortaya koyan CA'nın protein sentezini bloke ederek L1210 hücrelerinin gelişimini inhibe ettiği ifade edilmiştir.

Glioblastom (U87MG) hücre hatları üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise doxorubicin ile birlikte uygulanarak CA'nın etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada CA DXR ile birleştirildiğinde DXR'ın kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkisini önemli ölçüde arttırdığı ifade edilmiştir. CA U87MG hücre hattında apoptozu indüklemek için kaspas-3 ve kaspaz-9 ile Bcl-2 ve Bax genlerinin artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Bunlara ek olarak doxorubicinin etkinliğinin CA varlığında arttığını gözlemlemişlerdir (Abbasi vd., 2020).

Meme kanseri hücre hattında (MCF-7) yapılan başka bir çalışmada CA'nın sitotoksikite ve kanserli hücrelerin büyüme yeteneği üzerine inhibisyon etkisinin olduğu bildirilmiştir (Poornima ve Deeba, 2020).

Yapılan alışmalar neticesinde CA'nın antikarsinojenik etkisi daha çok *in vitro* alışmalarla gösterilmiş olup *in vivo* alışmalarda böbrekler üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı yeterince bilinmemektedir.



2. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmanın yapılabilmesi için etik onayı Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKUHADYЕК) tarafından 49533702/44 onay numarası ile 14.04.2021 tarihinde alındı. Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklendi (Proje No: 21.SAĞ.BİL.14).

2.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Doxorubicin [Adrimisin 50 mg'lık enjektabl toz içeren flakon (50 mg/25 mL serum fizyolojikte hazırlandı), Saba İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş., TÜRKİYE], Cinnamaldehit (50 mg/10 mL serum fizyolojikte hazırlandı) ise Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)'den temin edilmiştir.

2.2. Hayvan Materyali

Deneyisel çalışma Wistar Albino ırkı, 8-12 haftalık, 200-250 gr ağırlığında 48 adet dişi rat üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş olup çalışma süresince bu merkezde barındırıldı. Çalışma süresince ratlar standart ortam koşullarında (%55-60 nem, $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 12:12 aydınlık-karanlık süresi) muhafaza edildi. Yem ve su *ad libitum* olarak sağlandı.

2.3. Deneyisel Uygulamalar

Çalışmada Doxorubicin (DXR) ve Cinnamaldehit (CA)'in uygulama şekli ve dozu literatürde belirtilen çalışmalardan referans alınarak belirlendi (El-Sherbiny ve El-Sherbiny 2014, Mateen vd., 2019). Çalışma planı 21 gün olacak şekilde yapıldı. DXR (periton içi; İP yolla) ve CA (oral yolla) serum fizyolojik yardımıyla uygun dozajlamaları yapılarak ratlara uygulandı.

48 adet rat rastgele seçilerek altı gruba ayrıldı (n=8);

1.grup/Kontrol grubu: Ratlara 21 gün boyunca serum fizyolojik (SF), haftada 2 kez İP yolla (DXR ile eşit hacimde) ve her gün oral yolla (CA ile eşit hacimde) uygulandı.

2.grup/CA10 grubu: Ratlara 21 gün boyunca CA, günde tek sefer gastrik gavaj yardımıyla oral yolla 10 mg/kg dozunda; SF ise haftada 2 kez İP yolla (DXR ile eşit hacimde) uygulandı.

3.grup/CA20 grubu: Ratlara 21 gün boyunca CA, günde tek sefer gastrik gavaj yardımıyla oral yolla 20 mg/kg dozunda; SF ise haftada 2 kez İP yolla (DXR ile eşit hacimde) uygulandı.

4.grup/DXR grubu: Ratlara 21 gün boyunca SF, günde tek sefer gastrik gavaj yardımıyla oral yolla eşit hacimde uygulandıktan bir saat sonra DXR, haftada 2 kez olmak üzere 3,5 mg/kg dozunda İP yolla uygulandı (Toplam 6 doz; kümülatif 21 mg/kg).

5.grup/CA10 + DXR grubu: Ratlara 21 gün boyunca CA, günde tek sefer gastrik gavaj yardımıyla oral yolla 10 mg/kg dozunda uygulandıktan bir saat sonra DXR, haftada 2 kez olmak üzere 3,5 mg/kg dozunda İP yolla uygulandı (Toplam 6 doz; kümülatif 21 mg/kg).

6.grup/CA20 + DXR grubu: Ratlara 21 gün boyunca CA, günde tek sefer gastrik gavaj yardımıyla oral yolla 20 mg/kg dozunda uygulandıktan bir saat sonra DXR, haftada 2 kez olmak üzere 3,5 mg/kg dozunda İP yolla uygulandı (Toplam 6 doz; kümülatif 21 mg/kg).

Tüm uygulamalar sabah saatlerinde yapılmış olup 21.günkü son uygulamadan bir gün sonra ratlar izofluran anestezisi altında servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi. Çalışır vaziyetteyken kalpten kan alındıktan sonra böbrekler de uygun metotlarla alındı. Kan örnekleri serum için kırmızı kapaklı serum tüplerine alınarak 3000 g'de on dakika santrifüj edildi (Heraeus Megafuge 8 R, ThermoFisher Scientific, MA, ABD). Santrifüj sonrası serum kısımları ayrılarak analiz edilinceye kadar -80°C'de muhafaza edildi.

2.4. Renal Fonksiyon Parametrelerinin Belirlenmesi

Serumdan; kan üre azotu (BUN), kreatinin ve ürik asit ölçümü otoanalizör yardımıyla yapılarak serumdaki düzeyleri Abbott Architect c8000 cihazında Abbott kitleri kullanılarak belirlendi.

2.5. Renal Oksidatif Stres Parametrelerinin Belirlenmesi

Böbrek dokularının bir kısmı 1,15% potasyum klorid solüsyonunda (pH 7.4) [1:9 (w/v)] homojenize edildi (VDI 12 homojenizatör; VWR, PA, ABD). Homojenizasyon işleminden sonra 2100 g'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar analiz edilinceye dek -80°C'de muhafaza edildi.

Böbrek dokularındaki lipid peroksidasyonunun tayini için malondialdehit (MDA) seviyeleri ölçüldü. Bu analiz, bir molekül MDA'nın iki molekül tiyobarbitürik asit ile 95 °C sıcaklıkta ve düşük pH'da (3.5) 60 dakika boyunca reaksiyona girmesine dayanmaktadır. Oluşan pembe rengin ekstraksiyonu için piridin ve n-bütanol karışımı kullanıldı. Absorbans, 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri, çizdirilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplandı. Konsantrasyonlar nmol/g doku olarak ifade edildi (Ohkawa vd., 1979).

İndirgenmiş glutatyon (GSH) seviyeleri Sedlak ve Lindsay'ın (1968) metoduna göre belirlendi. Bu analize göre sülfidril grubu ihtiva eden bileşikler aracılığıyla DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik) asit] indirgenir. Reaksiyon sonucu oluşan sarı renk 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri, çizdirilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplandı. Konsantrasyonlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

Çalışmada total (Cu-Zn ve Mn) Süperoksit Dismutaz'ın (SOD) böbrek dokusundaki aktivitesinin tespit edildiği yöntemin prensibi; nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyonunun, ksantin – ksantin oksidaz sistemi tarafından inhibe edilmesine dayanır. Bir birim SOD, NBT indirgeme oranında %50 inhibisyona neden olan enzim miktarı olarak tanımlandı. Hazırlanan örnekler 560 nm absorbansta okundu ve elde edilen değerler, U/g protein cinsinden ifade edildi (Sun vd., 1988).

Katalaz'ın (CAT) böbrek dokusundaki aktiviteleri, CAT tarafından Hidrojen Peroksit'in (H₂O₂) ayrıştırılma oranlarına göre belirlendi. Reaksiyonu gerçekleştirecek karışım; pH'ı 7.0 olan 50 mM fosfat tamponu ve 10 mM H₂O₂'den oluştu. H₂O₂'nin indirgenme hızı oda sıcaklığında 60 sn boyunca 240 nm'de izlendi. Bu analize göre elde edilen değerler, katalaz/g protein cinsinden ifade edildi (Aebi, 1984).

Böbrek dokusundaki protein miktarları Lowry vd'nin (1951) metoduna göre belirlendi. Bu metoda göre proteinlerin yapısında bulunan peptid bağları, bakır iyonu (Cu⁺²) ile

alkali ortamda bir kompleks oluşturur ve Cu^{+} 'ya indirgenir. İndirgenmiş kompleksin bünyesindeki aminoasitler Folin-Fenol reaktifini indirger ve renk oluşumuna neden olur. Bu rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Hazırlanan örnekler 750 nm absorbansta okunarak protein seviyeleri tespit edildi.

Glutasyon peroksidaz (GP-x; kod no: E1172Ra, Bioassay Technology Laboratory, Zhejiang, Çin) enzim aktiviteleri ile NADPH oksidaz 4 (NOX-4; ürün no: SEB924Ra, Cloud-Clone Corp. CCC, TX, ABD) seviyeleri ise üreticinin talimatlarına göre ticari ELISA kitleri ile belirlendi. Spektrofotometrik ölçümler, Shimadzu 1601 UV - VIS spektrofotometre (Tokyo, Japonya) cihazı kullanılarak yapıldı. ELISA kiti ile yapılan analizler Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo, St. Louis, MO, ABD) cihazı yardımıyla ölçüldü.



Resim 2.1: Oksidatif stres parametrelerinin ölçümü

2.6. Renal İnflamasyon Parametrelerinin Belirlenmesi

İnflamasyon parametreleri için böbrek dokuları PBS tamponu içerisinde [1:9 (w/v)] homojenize edildi. Örnekler 14.000 g'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika santrifüj edildi (Heraeus Megafuge 8 R, ThermoFisher Scientific, MA, ABD). Santrifüj sonrası süpernatant kısımları analiz edilinceye kadar -80°C 'de muhafaza edildi (Qu ve ark 2020). Ölçüm için süpernatantlardan Nükleer Faktör kappa B (NF- κB ; ürün no: SEB824Ra), Tümör Nekroz Faktörü alfa (TNF- α ; ürün no: SEA133Ra), İnterlökin 1 beta (IL-1 β ; ürün no: SEA563Ra), İnterlökin 10 (IL-10; SEA056Ra) ve Nitrik Oksit Sentazın indüklenebilir

izoformu (iNOS; ürün no: SEA837Ra) seviyeleri Cloud-Clone Corp. (CCC, TX, ABD)'den temin edilen kitler ile; mitojenle aktive olan protein kinaz p38 alfa (p38 α MAPK; katalog no: CK-bio-25173), aktivitesi ise Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd (Shanghai, Çin)'den temin edilen kit ile ölçüldü. Analizlerin ölçümü için Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo, St. Louis, MO, ABD) cihazı kullanıldı.



Resim 2.2: İnflamasyon parametrelerinin ölçümü

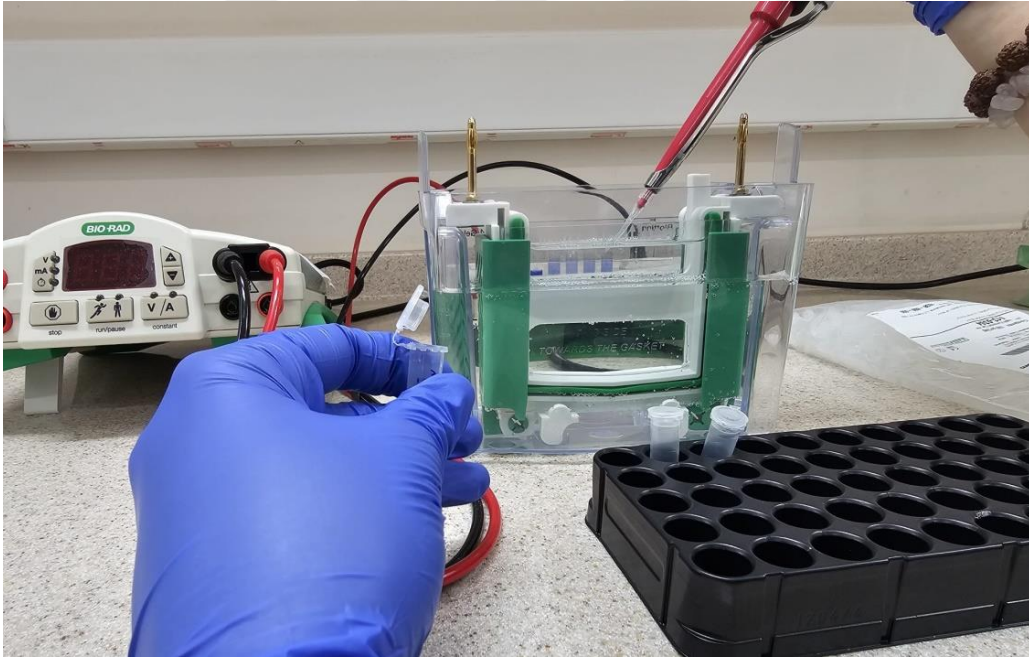
2.7. KIM-1, NGAL ve AQP-1 Seviyelerinin Belirlenmesi

Böbrek dokularında, böbrek hasarı molekülü (KIM-1; ürün no: SEA785Ra), nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL; ürün no: SEB388Ra) ve Aquaporin 1 (AQP-1; ürün no: SEA579Ra) seviyeleri üreticinin [Cloud-Clone Corp. (CCC, TX, ABD)] talimatlarına göre ticari ELISA kitleri ile belirlendi. Yapılan analizler Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo, St. Louis, MO, ABD) cihazı yardımıyla ölçüldü.

2.8. Western Blot Analizleri

Çalışma sonunda ratlardan alınan böbrek dokularının bir kısmı da apoptotik belirteçler için kullanıldı. Böbrek dokusu ratlardan alındıktan hemen sonra PBS tamponu ile arındırıldı ve ardından ivedilikle alüminyum folyo ile sarılıp sıvı azot içerisinde dondurularak analiz yapılınca kadar -80°C'de saklandı. Analiz aşamasında +4°C'de çözündürüldükten sonra xTractor™ tamponu [1:20 (w/v), (Takara Bio, CA, ABD)]

içerisinde; protein stabilizasyonu için ProteoGuard EDTA-Free Protease Inhibitor Cocktail (%1) (Takara Bio, CA, ABD) eklenerek Fisherbrand bead mill 2 mL tube containing 2.4 mm metal beads RNase/DNase free (ThermoFisher Scientific, MA, ABD) tüpleri kullanılarak VWR® 4-Place Mini Bead Mill Homogenizer (VWR, PA, ABD) cihazında homojenize edildi. Homojenizatlar elde edildikten sonra 12.000 g'de +4°C'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar içerisindeki protein miktarı Takara BCA Protein Assay Kiti (Takara Bio, CA, ABD) yardımıyla belirlendi. Her örnek jel üzerinde kuyucuğa 40 µg protein içerecek şekilde PBS ve 4xLaemmli numune tamponu (Bio-Rad, CA, ABD) ile seyreltilti. Proteinlerin denatürasyonu için her örneğin içine 1 µL 2-merkaptoetanol (Bio-Rad, CA, ABD) eklendi, sonrasında örnekler kuru blok ısıtıcıya alınarak (HB120-S, DLAB, Johor, Malezya) 95°C'de 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Örnekler %10'luk Tris/Glisin/SDS tamponu içerisinde jel elektroforezi ile yürütme/koşturma işlemi yapıldı.



Resim 2.3: Western blot analizi için örneklerin jel elektroforezine yüklenmesi

Proteinler, jel üzerinde yürütülmesi işleminin ardından transfer tamponu [Tris/Glisin (%10) + metanol (%20) + distile su (%70)] içerisinde ıslak sistem ile poliviniliden diflorid (PVDF) membranlara aktarıldı. Membrana aktarılma/transfer aşamasından sonra membran 90 dakika boyunca bloklama solüsyonu [(fish gelatin), (Takara Bio, CA,

ABD)] içerisinde oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde inkübasyona bırakıldı. Bloklamayı takiben membrana TBS-Tween tamponu ile 5'er dakika olacak şekilde toplamda 3 kez yıkama işlemi uygulandı. Yıkama işlemini takiben primer antikorlar [(Bax, Bcl-2, Cyt-c, Procaspase-3 ve β -aktin); (1:1000 seyreltme)] bloklama solüsyonu ile seyreltilerek membranın üzerine konuldu ve gece boyunca (yaklaşık 15-17 saat) +4°C'de inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda membrana TBS-Tween ile 3 kez 5'er dakika yıkama işlemi yapıldı. Sonrasında sekonder antikor HRP-conjugated Affinipure Goat Anti-Rabbit IgG(H+L) bloklama solüsyonu ile seyreltilerek (1:2000 seyreltme) membran üzerine döküldü ve çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 90 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda membran yıkama solüsyonuyla bu kez 10'ar dakika olacak şekilde 3 kez yıkandı. Görüntüleme cihazında bantlar BioRad Clarity Max ECL substratı (Bio-Rad, CA, ABD) kullanılarak görüntülendi. Bantların densitometrik analizi ImageLab programı (Bio-Rad, CA, ABD) kullanılarak yapıldı.



Resim 2.4: Western blot analizi yürütme/koşturma aşaması

2.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences ver 20.0 SPSS Inc, Chicago Illinois, ABD) programı kullanıldı. Sonuçlar; normallik analizlerinin

ardından ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilip, gruplar arası karşılaştırmada one-way Anova ve post-hoc test olarak Duncan testi tercih edildi. $p<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.



3. BULGULAR

Ratlarda Doxorubicin ile deneysel olarak oluşturulan nefrotoksisiteye karşı Cinnamaldehit uygulamasının etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada; Kontrol, CA10, CA20, DXR, CA10+DXR ve CA20+DXR şeklinde 6 farklı deney grubu oluşturuldu. Bu deney grupları arasında renal fonksiyon parametrelerinin (BUN, Kreatinin, Ürik Asit), oksidatif stres parametrelerinin (MDA, GSH, SOD, CAT, GPx, NOX-4), inflamatuvar belirteçlerinin (NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , IL-10, iNOS, p38 α MAPK) ve apoptoz parametrelerinin (Bax, Bcl-2, Sitokrom-C, Prokaspaz-3, β -actin) analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen bulgular, deney grupları arasındaki farklılıkları göstermek amacıyla istatistiksel değerlendirmeleri ile birlikte grafik, tablo ve şekil olarak gösterildi.

3.1. CA ve DXR Uygulamalarının Renal Fonksiyon Parametreleri Üzerine Etkisi

DXR uygulanan ratlarda BUN, kreatinin ve ürik asit serum seviyeleri, kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulundu ($p < 0,001$). Buna karşın serumdaki böbrek fonksiyon belirteçlerinin CA10 ve CA20 gruplarında önemli miktarda azaldığı gözlemlendi ($p < 0,001$) (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: CA ve DXR'nin ratlarda serum böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol	CA10	CA20	DXR	CA10 + DXR	CA20 + DXR
BUN (mg/dl)	28,06 $\pm$ 1,00 ^a	31,97 $\pm$ 1,75 ^b	28,82 $\pm$ 1,61 ^a	53,00 $\pm$ 1,74 ^e	43,81 $\pm$ 1,15 ^d	38,66 $\pm$ 0,91 ^c
Kreatinin (mg/dl)	0,39 $\pm$ 0,02 ^a	0,44 $\pm$ 0,02 ^a	0,40 $\pm$ 0,03 ^a	0,72 $\pm$ 0,06 ^d	0,61 $\pm$ 0,03 ^c	0,54 $\pm$ 0,04 ^b
Ürik Asit (mg/dl)	8,45 $\pm$ 0,36 ^a	8,35 $\pm$ 0,32 ^a	8,17 $\pm$ 0,35 ^a	14,17 $\pm$ 1,40 ^d	11,23 $\pm$ 0,52 ^c	9,81 $\pm$ 0,58 ^b

Veriler her grupta sekiz adet sıçan için ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Aynı satırda farklı harflerle (^{a,b,c,d,e}) gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,001$).

3.2. CA ve DXR Uygulamalarının Renal Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Etkisi

CA ve DXR uygulamalarının böbrek dokusundaki MDA, GSH, SOD, CAT, GP-x ve NOX-4 parametreleri üzerine etkisi Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında DXR verilen grupta GSH seviyeleri ile SOD, CAT, GP-x ve NOX-4 aktivitelerinde azalma gözlemlendi ($p < 0,001$). DXR grubundaki MDA ve NOX-4

seviyeleri ise kontrol grubuna göre önemli ölçüde yükseldiği gözlemlendi ($p < 0.001$). CA10 ve CA20 gruplarında, DXR uygulamasına bağlı olarak artan MDA ve NOX-4 seviyelerinin azaldığını; GSH seviyesi üzerinde ise artırıcı etki göstermiştir ($p < 0.001$). Ayrıca CA tedavileri SOD, CAT ve GP-x aktiviteleri üzerinde de artırıcı etki gösterdiği tespit edildi ($p < 0,001$).

Çizelge 3.2: CA ve DXR'nin ratlarda böbrek oksidatif stres parametreleri üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol	CA10	CA20	DXR	CA10 + DXR	CA20 + DXR
MDA (nmol/g doku)	26,02 ± 4,28 ^a	23,29 ± 3,65 ^a	24,83 ± 2,20 ^a	44,05 ± 2,94 ^d	38,48 ± 2,14 ^c	31,70 ± 1,13 ^b
GSH (nmol/g doku)	18,36 ± 0,99 ^d	18,56 ± 0,77 ^d	21,23 ± 1,18 ^e	8,89 ± 0,94 ^a	12,48 ± 0,53 ^b	14,60 ± 0,87 ^c
SOD (U/g protein)	27,66 ± 1,23 ^c	26,21 ± 0,96 ^c	27,30 ± 1,96 ^c	14,01 ± 1,03 ^a	18,17 ± 0,92 ^b	19,21 ± 0,89 ^b
CAT (katalaz/g protein)	15,06 ± 1,00 ^c	16,93 ± 1,81 ^d	17,62 ± 1,13 ^d	5,49 ± 0,63 ^a	9,99 ± 0,76 ^b	11,56 ± 1,15 ^b
GP-x (U/g doku)	48,16 ± 2,95 ^d	49,47 ± 2,93 ^d	53,09 ± 4,52 ^d	26,72 ± 3,17 ^a	34,17 ± 2,20 ^b	40,78 ± 1,91 ^c
NOX-4 (ng/g doku)	2,51 ± 0,35 ^a	3,34 ± 0,38 ^b	2,56 ± 0,30 ^a	6,47 ± 0,50 ^e	5,47 ± 0,33 ^d	4,32 ± 0,53 ^c

Veriler her grupta sekiz adet sıçan için ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Aynı satırda farklı harflerle (^{a,b,c,d,e}) gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,001$).

3.3. CA ve DXR Uygulamalarının Renal İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi

CA ve DXR uygulamalarının böbrek dokusundaki NF-κB, TNF-α, IL-1β, IL-10, iNOS ve p38α MAPK parametreleri üzerine etkisi Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre DXR uygulanan ratlarda NF-κB, TNF-α, IL-1β, iNOS seviyeleri ile p38α MAPK aktivitesinin önemli ölçüde artırdığı gözlemlendi ($p < 0.001$). Bu parametrelerin artan seviyeleri CA10 ve CA20 gruplarında önemli ölçüde azaldı ($p < 0,001$). Kontrol grubu ile CA grupları arasında ise anlamlı bir fark görülmedi.

Çizelge 3.3: CA ve DXR'nin ratlarda renal inflamasyon parametreleri üzerine etkileri

Parametreler	Kontrol	CA10	CA20	DXR	CA10 + DXR	CA20 + DXR
NF-κB (ng/g doku)	21,54 ± 1,15 ^b	20,42 ± 0,91 ^{a,b}	18,52 ± 1,02 ^a	43,77 ± 1,75 ^e	38,31 ± 1,63 ^d	30,65 ± 1,36 ^c
TNF-α (ng/g doku)	7,81 ± 0,97 ^a	8,88 ± 0,53 ^a	8,43 ± 0,53 ^a	15,35 ± 1,06 ^c	12,81 ± 0,96 ^b	11,81 ± 0,83 ^b
IL-1β (pg/g doku)	28,93 ± 2,32 ^a	33,48 ± 2,81 ^b	27,73 ± 1,48 ^a	58,61 ± 3,44 ^e	47,86 ± 4,05 ^d	41,49 ± 1,89 ^c
IL-10 (pg/g doku)	39,83 ± 1,93 ^c	39,10 ± 1,96 ^c	43,15 ± 1,71 ^d	14,96 ± 1,96 ^a	26,31 ± 2,78 ^b	28,89 ± 1,71 ^b

iNOS (ng/g doku)	78,99 ± 3,74 ^b	76,09 ± 2,79 ^{a,b}	70,48 ± 3,54 ^a	165,62 ± 8,39 ^e	128,58 ± 4,28 ^d	110,79 ± 5,40 ^c
p38α MAPK (ng/g doku)	2,96 ± 0,33 ^{a,b}	2,86 ± 0,36 ^{a,b}	2,54 ± 0,34 ^a	5,39 ± 0,74 ^d	4,10 ± 0,63 ^c	3,60 ± 0,60 ^{b,c}

Veriler her grupta sekiz adet sıçan için ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Aynı satırda farklı harflerle (^{a,b,c,d,e}) gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,001$).

3.4. CA ve DXR Uygulamalarının KIM-1, NGAL ve AQP-1 Seviyelerinin Belirlenmesi

CA ve DXR uygulamalarının böbrek dokusundaki KIM-1, NGAL ve AQP-1 seviyeleri üzerine etkisi Çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Kontrol grubuna göre DXR uygulanan grupta KIM-1 ve NGAL seviyelerinde önemli ölçüde artış gözlenirken, AQP-1 seviyesinin önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi ($p < 0,001$). CA gruplarında ise DXR uygulamasına bağlı olarak yükselen KIM-1 ve NGAL seviyelerinde önemli ölçüde azalma görülürken, AQP-1 seviyesinde artış gözlemlendi ($p < 0,001$).

Çizelge 3.4: CA ve DXR'nin ratlarda böbrek KIM-1, NGAL ve AQP-1 seviyeleri üzerine etkileri

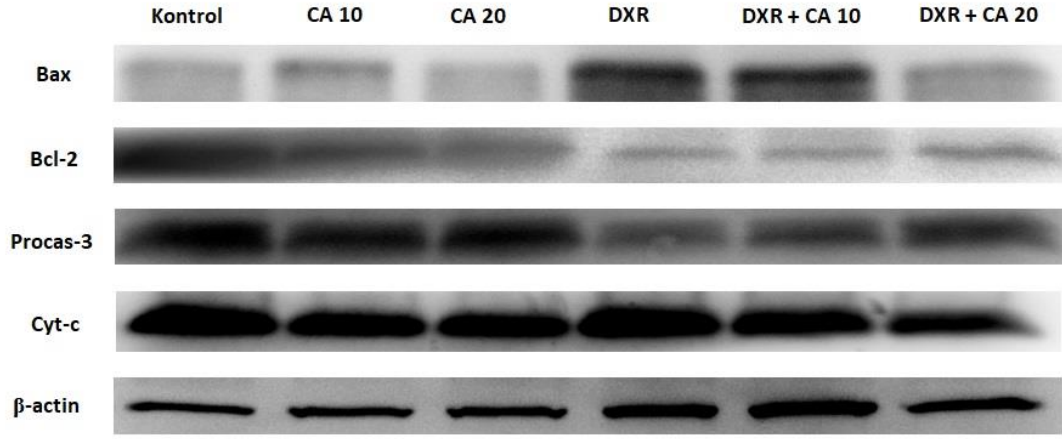
Parametreler	Kontrol	CA10	CA20	DXR	CA10 + DXR	CA20 + DXR
KIM-1 (ng/g doku)	51,36 ± 3,46 ^a	52,97 ± 1,85 ^a	57,71 ± 3,36 ^a	112,73 ± 6,17 ^c	85,09 ± 3,18 ^b	84,97 ± 4,01 ^b
NGAL (ng/g doku)	80,49 ± 3,45 ^a	78,36 ± 4,96 ^a	77,43 ± 3,84 ^a	174,97 ± 6,20 ^d	132,63 ± 2,24 ^c	125,12 ± 4,39 ^b
AQP-1 (pg/g doku)	144,99 ± 4,36 ^d	130,12 ± 5,23 ^c	124,14 ± 4,24 ^c	74,77 ± 3,33 ^a	93,41 ± 3,06 ^b	89,97 ± 5,11 ^b

Veriler her grupta sekiz adet sıçan için ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Aynı satırda farklı harflerle (^{a,b,c,d,e}) gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0,001$).

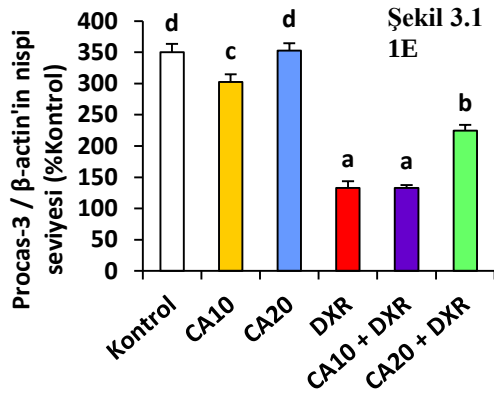
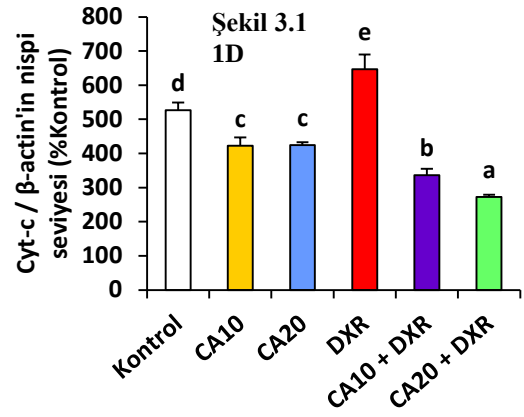
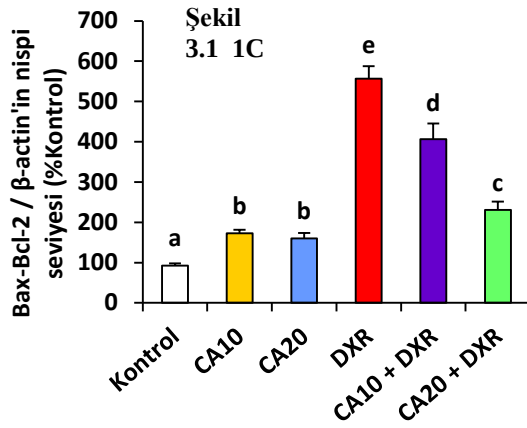
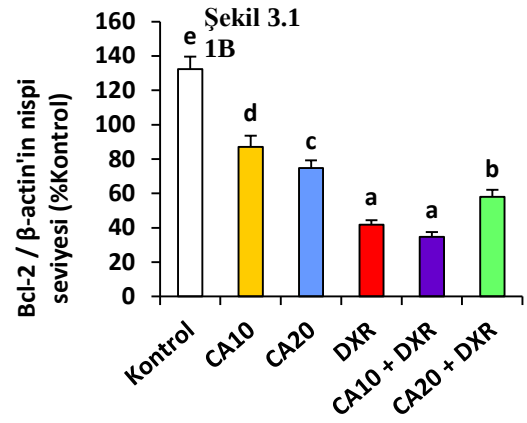
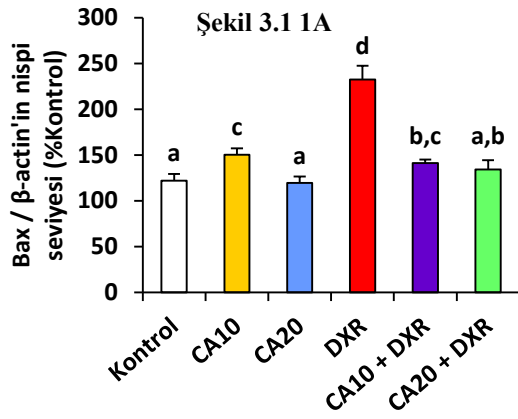
3.5. CA ve DXR Uygulamalarının Apoptoz Üzerine Etkileri

CA uygulamasının böbrek dokusundaki DXR kaynaklı apoptoz üzerindeki antiapoptotik etkilerinin moleküler mekanizmalarını daha ayrıntılı olarak incelemek için pro-apoptotik karakterli Bcl-2-associated X protein (Bax) ile Sitokrom-c (Cyt-c) ve anti-apoptotik karakterli B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) ve Procaspase-3 (Procasp-3)'ün ekspresyon seviyeleri araştırıldı (Şekil 3.1). Apoptozun belirlenmesinde önemli rolü olan Bax/Bcl-2 oranının DXR uygulamaları ile önemli ölçüde arttığı; CA uygulamasıyla bu oranın azaldığı belirlendi (Şekil 3.1 - 1A, 1B, 1C). DXR uygulanan grupta Cyt-c seviyesi önemli ölçüde artarken; CA20+DXR grubunda Cyt-c ekspresyon düzeyinde önemli ölçüde azalma gözlemlendi (Şekil 3.1 - 1D). Procasp-3 seviyelerinde ise DXR ve

CA10+DXR gruplarında kontrol gruplarına göre önemli ölçüde azalma görülürken; bu gruplara kıyasla CA20+DXR grubunda artış gözlemlendi (Şekil 3.1-1E).



Şekil 3.1: CA ve DXR uygulamalarının apoptoz üzerine etkisi



Bax (23kDa), Bcl-2 (26kDa), Cyt-c (15kDa) ve procas-3 (34kDa) protein seviyeleri western blot analizi ile ölçüldü. Kontrol proteini olarak β-actin kullanıldı. Veriler her grupta sekiz adet rat için ortalama ± standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Aynı satırda farklı harflerle (a,b,c,d,e) gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları ifade etmektedir ($p < 0.001$).

4. TARTIŞMA

Adriamicin olarak da bilinen antrasiklin grubu antibiyotiklerden olan Doxorubicin, geniş spektruma sahip kemoterapötik ilaçlardan biridir. Kansere tedavilerinde 40 yılı aşkın süredir hem hematolojik hem de katı tümör hücrelerinde etkinliğini gösteren antitümör ilacıdır (Weiss, 1992; Varela-Lopez vd., 2019). Gıda ve İlaç dairesi (FDA) onaylı kemoterapötik ilaçların en güçlülerinden biri olarak kabul edilmektedir. Hızla bölünen hücrelerle mücadele etme ve hastalığın ilerlemesini yavaşlatma yeteneği yaygın olarak kabul edilmektedir (Tacar vd., 2012). DXR antikanser özelliğini, serbest oksijen radikallerinin üretilmesi ve DNA molekülüne eklenerek topoizomera II'yi aktive edip DNA zincirinde kırılmalar oluşturarak iki şekilde göstermektedir (Kang vd., 1996; Meredith ve Dass, 2016). Antikanser ilaçlar hızlı büyüme potansiyeli gösteren tümör hücreleri üzerinde etkinlik göstermelerinin yanı sıra vücutta hızla büyüyen sağlıklı hücrelere de etki etmektedir (Corrie, 2011).

Tüm kemoterapötik ilaçlarda olduğu gibi antrasiklin grubu kemoterapötik ilaçlardan DXR'inde istenmeyen yan etkilere sahip olduğu, bunlar arasında; nefrotoksisite, kardiyotoksisite ve hepatotoksisite'nin dikkat çektiği, bunların dışında diğer dokular üzerinde de istenmeyen etkilere sebebiyet verdiği gösterilmiştir (Goel ve Aggarwal, 2010).

DXR aracılı nefrotoksisite de böbrekler kan basıncını, elektrolit ve asit-baz dengesini düzenlemede, organizmadan uzaklaştırılması gereken metabolik ürünler, kemoterapötik ajanlar, antibiyotikler gibi çeşitli ilaçların da atılımını (klirens) sağlamak gibi temel fizyolojik işlevlerini yapmakta zorlanırlar (Kandemir vd., 2017). Bu sebeple nefrotoksisite anatomik ve fizyolojik olarak toksik maddelere oldukça duyarlı olan böbrek dokusunda stres ve işlev bozukluklarıyla kendini göstermektedir (Rehman vd., 2012). DXR kanserli hücreleri yok etmesinin yanında böbreklere zarar vererek sıklıkla nefrotoksik bir etki gösterdiğinden; DXR aracılı nefrotoksisite; nefropati, proteinüri, glomerüler hücrelerde hasar oluşumu gibi patolojik sonuçlarla ortaya çıkmaktadır (Troxell vd., 2016). Bu sebeple antikanser ilaçlar özellikle DXR ve içinde yer aldığı gruba ait ilaçların hangi dokular için ne düzeyde toksisiteye sahip olduklarına yönelik yapılmış oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Yaygın bilinen sitotoksik etkilerine karşı DXR uygulamalarında nefrotoksisite gibi istenmeyen yan etkileri azaltabilmek hatta

mümkünse tamamen engelleyebilmek amaçlı olarak son yıllarda çeşitli fitokimyasalların bitkisel kürlerin ve antioksidanların tamamlayıcı tıbbi uygulamalar olarak yada konvansiyonel tıbbın endike kabul ettiği medikasyon seçeneklerine dahil edilebilmesi amacıyla oldukça fazla araştırma yapıldığı dikkat çekmektedir. Bu çalışmalar sonucu raporlanan verilerin neredeyse tamamına yakını henüz bir ilaç formülasyonu haline gelebilmiş değildir. Büyük çoğunluğu gıda desteği niteliğinde ticarileşmiş bu ürünlere her geçen gün yeni araştırılma bulgusu doğrultusunda yenileri eklenmektedir. Folklorik tıpta ve halk elindeki uygulamalarda çayı veya diğer formlarının sıklıkla kullanıldığı tıbbi aromatik bir bitki olan tarçının ana biyoaktif kimyasalı olan CA'da bu kapsamda birçok çalışmaya konu olmuş bir fitokimyasaldır. Ancak kaynak taramalarımızda CA'nın DXR aracılı nefrotoksisite üzerine etkilerine yönelik bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu sebeple tez çalışması DXR aracılı nefrotoksisite olgusunda CA'nın değişik dozlarının etkilerine odaklanmıştır.

Tez çalışması kapsamında DXR'nin böbrek fonksiyon parametreleri üzerine etkileri araştırılmış; BUN, kreatinin ve ürik asit düzeylerinin DXR uygulamasından sonra arttığı görülmüştür (Çizelge 3.1). Böbrek fonksiyonlarının belirlenmesinde miktarı önem arzeden üre, protein metabolizasyonu sonucu açığa çıkan son üründür. Böbrek tübüllerinden proksimal ve distal tübülden reabsorbe olur. Bu dokularda hasar meydana gelmesi durumunda üre geri emilimi azalarak kandaki miktarında artış görülebilir (Ecelbarger vd., 2001). Kas metabolizmasının oluşturduğu organik atık olan kreatininin yükselmesi, böbreklerde meydana gelen hasarın göstergelerinden biridir (Inuwa vd., 2011). Reabsorbe olmayıp böbrekler aracılığıyla atılımı gerçekleşen kreatinin, böbrek fonksiyonlarının yetersiz olması durumunda serumdaki miktarı yükselir. Serum kreatinin miktarının normalin iki kat üzerine çıkması böbrek fonksiyonlarını %50 oranında azaltır (Sandhiutami vd., 2019). Bu çalışmada BUN, kreatinin ve ürik asit göstergelerinde DXR grubunda meydana gelen artış, yapılmış diğer çalışmaların hemen tamamına yakınıyla paralellik gösterdi (Rashid vd., 2013; Heeba ve Mahmoud, 2016). Bu göstergelerdeki artış DXR'in böbrek işlevlerini olumsuz etkilediğini göstermekte ancak bu etkisini hangi mekanizma üzerinden gerçekleştirdiği tam olarak bilinmemektedir. Buna rağmen DXR toksisitesinin glomerüler ve tübül-interstisyel hasar kaynaklı olabileceği, bu hasara ise artmış oksidatif stres ve kırılmış antioksidan savunmanın dolaylı olarak yol açtığına yönelik bildirimler bulunmaktadır (Bou vd.,

2013; Elsherbiny ve Elsherbiny, 2014). Bu durumda DXR grubunda artan BUN, kreatinin ve ürik asit değerlerinin DXR aracılı böbrek hasarını gösteriyor olduğu düşünülmüştür.

DXR uygulanan grupla kıyaslandığında CA10 (10 mg/kg) ve CA20 (20 mg/kg) gruplarında BUN, kreatinin, ürik asit seviyelerinde tespit edilen istatistiksel düzeydeki azalma, bu çalışmada uygulanan miktarlarda CA'nın DXR aracılı böbrek hasarını önlemede veya azaltmada önemli bir antioksidan fitokimyasal olduğunu düşündürmektedir. Bu koruyucu etkinliğin CA20 grubunda daha belirgin olduğu göz önüne alındığında CA'nın artan miktarlarının daha yüksek koruyucu etkiler oluşturabileceğini düşündürmekte ancak güvenli sınırın tespit edilebilmesi için daha yüksek düzeyde dozlarla yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu bulgular CA ile ilgili diğer dokular üzerinde yapılmış çalışma bulgularıyla da büyük oranda uyumluluk göstermekte, bu yönüyle CA'nın DXR aracılı tüm toksisitelerde güvenli, eşik ve tavan dozlarını belirleyecek çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir (El Salam vd., 2023).

Dış orbitallerinde bir yada daha fazla eşlenmemiş elektron içeren serbest oksijen radikalleri, oksijenli solunum yapan organizmalarda sürekli üretildiklerinden, bu serbest radikaller ile bunları ve etkilerini tamponlamaya yönelik olarak çalışan antioksidan savunma arasındaki denge bozulduğunda karşımıza çıkan oksidatif stresin DXR aracılı nefrotoksisite ve diğer sitotoksik süreçlerde de primer veya sekonder role sahip olduğu düşünülmektedir (Sun, 1990). Nefrotoksisite gelişiminde serbest radikallerin hücre membranı fosfolipit yapısında oluşturdukları peroksidasyona bağlı membran geçirgenliği bozunumları etkili olduğu gösterilmiştir (Dündar ve Aslan, 2000). DXR uygulamalarının serbest radikal üretim süreçlerine bağlı olarak oksidatif stresi arttırdığı aynı zamanda antioksidan moleküllerin aktivitesini ve potansiyalini (antioksidan enzimleri baskılaması yoluyla) inhibe ettiği bildirilmiştir (Alkorlar vd., 2017). Bu durumlar göz önüne alındığında bu tez çalışmasında DXR uygulanan ratlarda, antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve GPx'in aktivitesinin istatistiksel anlamda azalmış olması yine doku antioksidan substratlarında GSH'ın miktarının azalmış olması ve bütün bunları destekler mahiyette lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA'nın istatistiksel düzeyde artması (Çizelge 3.2), DXR aracılı nefrotoksisitede oksidatif stresin

önemli rol oynadığını göstermektedir. Bu bulgular, DXR'nin diğer bulgulardaki sitotoksik etkilerine yönelik çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (El Shitany vd., 2008; Mesbah vd., 2010; Benzer vd., 2018).

Oksidatif stres ve oksidatif stres kaynaklı hasar böbreklerde tahribata yol açmakta bunun sonucunda; albüminüri, proteinüri, hiperlipidemi ve nefrotik sendrom ortaya çıkabilmektedir. Ve bu durum glomerüler filtrasyon hızında düşüş, glomerüler kapiller hasar ve tübülotoksisite gibi böbrek işlevselliğine dair bozulmalara yol açmaktadır. Bu sebeple DXR'nin serbest radikal üretimi ve oksidatif strese yol açarak antioksidan etkinliği de kırarak nefropati patogenezinin neden olduğu gösterilmiştir (Badary vd., 2000).

Çalışmada DXR uygulamasının oksidatif hasar oluşturduğuna ilişkin bir diğer belirteç ise NOX-4 seviyesinin istatistiksel önemde artmış olmasıdır. NOX-4 bir NOX izoformu olup oksidan/antioksidan denge bozulduğunda böbrek dokusundan çokça sentezlenerek serbest radikallerin üretimini arttıran bir ajandır (Seddek vd., 2013).

Çalışmada uyguladığımız farklı dozlardaki (10 ve 20 mg/kg) CA ise, DXR'nin düşürdüğü antioksidan SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerini ve GSH seviyesini artırmış, MDA ve NOX-4 seviyelerini azaltmıştır. Bu artış ve azalmaların tümü istatistiksel önemdedir. Bu yönüyle bulgular hem CA'nın güçlü bir antioksidan potansiyel oluşturucu ve artırıcı olduğunu hemde spesifik olarak DXR aracılı oksidatif stresi etkili bir şekilde giderebileceğini ve sonuç olarak DXR aracılı nefrotoksisite ve böbrek hasarını azaltabileceğini göstermektedir. CA'nın antioksidan bir fitokimyasal olduğu kadar, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilere de sahip olduğuna yönelik çalışmalar oldukça fazladır (Li vd., 2019; Guo vd., 2017).

CA gruplarında izlenen antinefrotoksik koruyucu etkinin temel yolağı oksidatif stresi gidermesi (lipid peroksidasyonu göstergesi MDA'yı azaltıp antioksidan enzim aktivitelerini ve GSH potansiyelini artırması) olabilir. Bu mekanizma CA'nın serbest radikal üretimini baskılaması ve antioksidan aktivite ile antioksidan potansiyeli desteklemesinden kaynaklanan iyileştirici bir etki şeklinde çalışmaktadır. Bu durumda CA'nın DXR uygulamasına bağlı olarak gelişen böbrek dokusundaki nefrotoksisiteyi oksidatif süreçleri baskılayarak inhibe ediyor olması mümkündür. Bunu destekler

nitelikte olmak üzere bazı çalışmalar cinnamonun ana bileşiği olan CA'nın antioksidan aktiviteden sorumlu ana bileşik olduğunu, bir fenilpropanoid bileşik olan CA'nın reaktivitesi yüksek olan serbest radikalleri ve oksidanları indüklemeye yeteneğinin yüksek olduğunu bildirmektedir (Chen vd., 2015). Yapılan çalışmada elde ettiğimiz bu sonuçlar asetaminofen ile oluşturulmuş böbrek hasarına karşı CA'nın oksidatif hasarı azaltıcı etkisinin araştırıldığı araştırma bulgularıyla da uyumludur (Abdeen vd., 2019). Ayrıca sisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksisiteye karşı da CA'nın oksidatif hasarı azaltarak nefrotoksik etkileri azaltıcı rolü rapor edilmiş, bu bulgulara çalışmadaki sonuçları desteklemektedir (El-Sayed vd., 2013). Bu tez çalışmasında elde edilen oksidatif stres ve antioksidan göstergelere benzer bulgular literatürde yer alan veriler doğrultusunda da desteklenmektedir. DXR uygulamasının serbest radikal artışına sebep olduğu artan serbest radikallerin nefron proteinleri ile reaksiyona girerek böbrek tübüllerinde ve glomerüllerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (Khames vd., 2019).

Oksidatif stresteki artış ve endojen antioksidan savunmanın tükenmesi bağışıklık tepkisini de etkilediği bilinmektedir. Oksidatif stresin oluşturduğu hasara ek olarak DXR kaynaklı nefrotoksisitenin, böbreklerde inflamatuvar değişikliklerle ilişkili olduğu bulunmuştur (Zordoky vd., 2011). Yapılan çalışmalar inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile birlikte inflamatuvar sitokinlerin doku içeriğinin arttığını bildirmiş ve inflamasyonun DXR kaynaklı böbrek hasarında önemli bir rol oynadığını vurgulamıştır (Aluise vd., 2011; Tu vd., 2013). TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler tipik olarak aktif makrofajlar tarafından sentezlenir ve inflamatuvar reaksiyonlar üzerinde aktive edici bir etkiye sahiptir (Elshopakey ve Elazab 2021). En önemli transkripsiyon faktörlerinden biri olan NF- κ B, oksidatif strese duyarlı olduğu bilinen önemli bir transkripsiyon faktörüdür ve yangı gelişiminde kritik öneme sahiptir. NF- κ B, başta TNF- α olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarır. Salınımı artan TNF- α , inflamatuvar yanıt için gerekli olan IL-1 β gibi sitokinlerin sentez sürecini aktive eder (Kaygusuzoğlu vd., 2018). Renal inflamasyonun düzenlenmesinde inflamasyonla ilişki sinyal yollarının rol aldığı bilinmektedir. Bu yollardan biri olan p38 α MAPK sinyal yolağı, inflamasyon stresıyla ilişkili sinyaller tarafından fosforilasyon yoluyla aktive edilmektedir (Tu vd., 2013). Çalışmada DXR uygulamasının NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , iNOS ve p38 α MAPK seviyelerini kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde artırdığı ve

IL-10 seviyelerini ise azalttığı görüldü. Her iki CA grubunda ise bu inflamasyon parametrelerini DXR grubuna göre anlamlı derecede azaltırken IL-10 seviyesini artırmıştır (Çizelge 3.3). Siklofosamid ile böbrek hasarı oluşturulan bir çalışmada CA tedavisinin böbrek dokularında NF- κ B ekspresyonu ve TNF- α seviyelerinde aşağı regülasyon görülürken, hasar grubuna kıyasla IL-10 konsantrasyonlarını yükselttiği bildirilmiştir ve bu bulgular çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (El Salam vd., 2023). CA'nın antiinflamatuvar etki mekanizmasının, SOD, CAT ve GPx gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırması ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) protein ekspresyonunu inhibe etmesi üzerinden gerçekleşiyor olduğu bildirilmiştir (Liao vd., 2012).

Renal tübüler epitelyumundan suyun absorpsiyonuna ya da sekresyonuna izin veren Aquaporinler (AQP), transmembran glikoproteinler olarak böbrek fizyolojik işlevleri ve böbrek patolojilerinde 2000'li yılların başından beri dikkat çeken göstergelerdir (Kishore vd., 2000; Kuzu vd., 2018). AQP'lerin memelilerde, 7'si böbrekte olmak üzere toplam 13 alt tipi bulunmaktadır (Kortenoeven vd., 2014; Cen vd., 2015). AQP-1 proksimal tübül ve Henle kulpunun inen kolundaki epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranlarında ve ayrıca dış medular inen vasa rectanın mikrovasküler endotelinde bol miktarda bulunur (Verkman, 2002). Fizyolojik sıvı-elektrolit dengesinin ve pH'nın düzenlenmesinden sorumlu temel tampon sistemlerden birisi olan böbrekler (renal sistem) AQP'lerin en yaygın bulunduğu ve işlevlerinin en iyi anlaşıldığı dokudur. Bu bakışla AQP'ler nefronların farklı segmentlerinde farklı dağılım gösterirler ve suyun geri Emilimi ve idrar oluşumunda spesifik role sahiptirler (Verkman vd., 2001; Nielsen vd., 2002; King vd., 2004). Renal toksisite durumunda meydana gelen hasarın, AQP'lerde de olumsuz etkisi sebebiyle AQP düzeylerini ve işlevlerini azalttığı bildirilmiştir (Gao vd., 2006; Kuzu vd., 2018). Bu çalışmada elde edilen veriler, DXR'nin renal hasar oluşturarak AQP-1 seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda azalmaya sebep olduğunu göstermiştir (Çizelge 3.4). CA grubunda ise CA'nın nefrotoksositeye karşı koruyucu etkilerinin göstergesi olarak AQP-1 seviyelerini DXR uygulanan gruba göre önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir. Kandemir ve arkadaşlarının (2018) böbrek hasarı oluşturdukları çalışmalarında hasar grubunda AQP-1 seviyelerinin azaldığı yönündeki bildirimleri hem genel literatürle hem de bu çalışmadaki bulgularla aynı yöndedir.

Renal hasarın tespitinde güvenilir parametre olarak değerlendirilen NGAL, nefrotoksisiteyi takiben tübüler hücrelerden salınır (Clerico vd., 2012). Ayrıca distal nefrondan sentezlendiği bilinen NGAL'in, akut nefrotoksisiteyi takiben hızlı ve güçlü bir şekilde salgılandığı ve tübüler hasar ve inflamasyonda hassas bir belirteç olduğu ifade edilmiştir (Schmidt-Ott vd., 2007; Devarajan, 2008). Böbrek hasar belirteçlerinden bir diğeri olan KIM-1, sağlıklı böbreklerde neredeyse tespit edilemeyen, ancak hasarlı böbreklerin tübüler hücrelerinden (özellikle de proksimal tübüllerinden) bol miktarda eksprese edilen transmembran bir glikoproteindir (Tian vd., 2018). Hem NGAL hem de KIM-1, renal tübüler hasarın teşhis edilmesinde güvenilir parametreler olarak kabul edilmektedir (Schrezenmeier vd., 2017). Çalışmada DXR grubunda NGAL ve KIM-1 seviyelerinde gözlemlenen artış, DXR'nin renal hasar oluşturduğunu göstermektedir. Buna karşın CA gruplarında NGAL ve KIM-1 seviyelerinin, DXR grubuna kıyasla önemli ölçüde düştüğü tespit edildi. DXR ile oluşturulan bir nefrotoksisite çalışmasında NGAL sonuçlarının hasar grubunda yüksek olması elde edilen verilerle paralellik göstermiştir (Mostafa vd., 2021). DXR nefrotoksisitesinin oluşturulduğu bir diğer çalışmada ise KIM-1 seviyesinin hasar grubunda yükseldiği ve bu sonuçların yapılan çalışmayla uyumlu olduğu bulunmuştur (Abdelrahman vd., 2020). Renal iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan bir çalışmada, CA uygulamasının böbrek hasar belirteçleri NGAL ve KIM-1 seviyelerini hasar grubuna kıyasla etkili şekilde düşürdüğünü bildirmiş olup CA'nın böbrek dokusu ve hücrelerinde iyileştirici etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir (Chen vd., 2023).

DXR, apoptotik yolların tetiklenmesinde hayati bir işleve sahip olan serbest radikallerin ve oksidatif stresin artmasına yol açarak çeşitli biyolojik makromoleküllerin oksidatif hasarına ve membran lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Sun vd., 2016). Çalışmalar DXR kaynaklı toksisitelerde mitokondriyal sürecin, ortaya çıkan ana sinyal yolu olduğunu göstermiştir (Ryter vd., 2007; Xiao vd., 2012). Serbest radikallerin yoğun salınımı mitokondriyal membranın hasar görmesine ve dolayısıyla intrinsik apoptotik mekanizmanın devreye girmesine neden olur (Kalyanaraman vd., 2002). Mitokondriyal membranın hasar görmesiyle Cyt-c sitozole salınır ve bir kompleks oluşturur, bu kompleks kaspaz-3'ün aktive olmasına neden olur (Thornberry vd., 1998; Sabbah vd., 2000). Proapoptotik Bax ve antiapoptotik Bcl-2'nin de içinde yer aldığı Bcl-2 ailesi mitokondriyal yolu düzenlemekte görev alırlar. Bax/Bcl-2 oranının

artmasıyla mitokondriyal membran geçirgenliği artar ve apoptotik olayların başlamasına neden olur (İbrahim vd., 2020). Çalışma bulguları DXR uygulamasının Bax, Cyt-c ve kaspaz-3'ü aktive ederek böbrek dokusunda hücre ölümüne neden olduğunu ve Bcl-2 seviyesini ise düşürdüğünü göstermiştir (Şekil 3.1). CA uygulamalarının ise Bax ve Cyt-c apoptotik proteinlerini baskıladığı, antiapoptotik Bcl-2 ile Procas-3 protein seviyelerini ise istatistiksel önemde yükselttiği görüldü. CA'nın bu antiapoptotik etkisinin CA20 grubunda (20 mg/kg) daha belirgin olduğu görüldü. Literatürde yaygın olarak karşılaştığımız bildirimler de bu doğrultuda olup, CA uygulamalarının apoptozu önleyici etkilerinin olduğunu göstermekte, çalışmamız bu yöndeki bulgularla paralellik arz etmektedir (Alshahrani vd., 2021; El Salam vd., 2023).



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kemoterapötik ajanların nefrotoksisite başta olmak üzere diğer dokularda da istenmeyen yan etkileri sorun olmaya devam etmektedir. Bu kapsamdaki olumsuz etkileri en aza indirmek için normal hücreleri etkilemeyen tümör hücrelerini etkileyen terapi modülleri geliştirilmekte ancak mevcut klasik yöntemler uygulanırken istenmeyen yan etkileri azaltacak güvenilir ilaç yada takviye edici doğal bitkisel ürünler ve fitokimyasallara ihtiyaç bulunmaktadır. Yapılan çalışma DXR uygulamasının ratların böbrek dokularında antioksidan, inflamatuvar ve apoptotik sistem üzerinden hasara yol açtığını göstermektedir. DXR ile indüklenmiş nefrotoksisite karşısında CA'nın böbrek dokusu üzerine koruyucu etkinliği olabileceği görülmektedir. DXR'in neden olduğu oksidatif hasarı, inflamasyonu ve apoptozu baskılama kapasitesi; DXR aracılı gelişen nefrotoksisitenin etkisini azaltacak potansiyel antidotların araştırılması sürecine güvenilir olabileceği düşünülen yeni bilgiler sağlamıştır. Bulgularımıza göre CA'nın koruyucu etkinliği CA20 grubunda daha belirgindir. Bu bulgu CA'nın artan miktarlarının daha yüksek koruyucu etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Ancak güvenli sınırın tespit edilebilmesi için daha yüksek düzeyde dozlarla yapılacak CA uygulamaları ile ilgili çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Sonuç olarak; CA'nın antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik aktivitelerinin istatistiksel düzeyde ölçümlenerek gösterildiği bu çalışma, klinik kullanım için önemli bir literatür desteği sağlayabilecektir.

6. KAYNAKLAR

- Abbasi A, Hajialyani M, Hosseinzadeh L, Jalilian F, Yaghmaei P, Jamshidi Navid S, Motamed H. (2020). Evaluation of the cytotoxic and apoptogenic effects of cinnamaldehyde on U87MG cells alone and in combination with doxorubicin. *Res Pharm Sci.* 20;15(1):26-35. doi: 10.4103/1735-5362.278712.
- Abd El Salam ASG, Samaha MM, Abd Elrazik NA. (2023). Cytoprotective effects of cinnamaldehyde and adipoRon against cyclophosphamide-induced cardio-renal toxicity in rats: Insights into oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Int Immunopharmacol.* 124(Pt B):111044. doi: 10.1016/j.intimp.2023.111044.
- Abdeen A, Abdelkader A, Abdo M, Wareth G, Aboubakr M, Aleya L, Abdel-Daim M. (2019). Protective effect of cinnamon against acetaminophen-mediated cellular damage and apoptosis in renal tissue. *Environ Sci Pollut Res Int.* 26(1):240-249. doi: 10.1007/s11356-018-3553-2.
- Abdelrahman AM, Al Suleimani YM, Manoj P, Ashique M, Ali BH, Schupp N. (2020). Effect of infliximab, a tumor necrosis factor-alpha inhibitor, on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 393(1):121-130. doi: 10.1007/s00210-019-01719-x.
- Aebi H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121-6. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3.
- Akolkar G, da Silva Dias D, Ayyappan P, Bagchi AK, Jassal DS, Salemi VMC, Irigoyen MC, De Angelis K, Singal PK. (2017). Vitamin C mitigates oxidative/nitrosative stress and inflammation in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1;313(4):H795-H809. doi: 10.1152/ajpheart.00253.2017.
- Alshahrani S, Ashafaq M, Hussain S, Mohammed M, Sultan M, Jali AM, Siddiqui R, Islam F. (2021). Renoprotective effects of cinnamon oil against APAP-Induced nephrotoxicity by ameliorating oxidative stress, apoptosis and inflammation in rats. *Saudi Pharm J.* 29(2):194-200. doi: 10.1016/j.jsps.2021.01.002.
- Aluise CD, Miriyala S, Noel T, Sultana R, Jungsuwadee P, Taylor TJ, Cai J, Pierce WM, Vore M, Moscow JA, St Clair DK, Butterfield DA. (2011). 2-Mercaptoethane sulfonate prevents doxorubicin-induced plasma protein oxidation and TNF- α release: implications for the reactive oxygen species-mediated mechanisms of chemobrain. *Free Radic Biol Med.* 1;50(11):1630-8. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.009.
- Aminzadeh Z, Ziamajidi N, Abbasalipourkabir R. (2022). Anticancer Effects of Cinnamaldehyde Through Inhibition of ErbB2/HSF1/LDHA Pathway in 5637 Cell Line of Bladder Cancer. *Anticancer Agents Med Chem.* 22(6):1139-1148. doi: 10.2174/1871520621666210726142814.

- Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB. (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res.* 25(9):2097-116. doi: 10.1007/s11095-008-9661-9.
- Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM, Schmidt WF, Khan A, Flanagan VP, Schoene NW, Graves DJ. (2004). Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agric Food Chem.* 14;52(1):65-70.
- Antar SA, Abd-El Salam M, Abdo W, Abdeen A, Abdo M, Fericean L, Raslan NA, Ibrahim SF, Sharif AF, Elalfy A, Nasr HE, Zaid AB, Atia R, Atwa AM, Gebba MA, Alzokaky AA. (2023). Modulatory Role of Autophagy in Metformin Therapeutic Activity toward Doxorubicin-Induced Nephrotoxicity. *Toxics.* 16;11(3):273. doi: 10.3390/toxics11030273.
- Ardıç C, Mollamehmetoğlu B. (2023). Birinci basamakta üriner sisteme ait renal hastalıkların değerlendirilmesi. Sarı O, editör. Birinci Basamakta Üriner Sistem Hastalıklarına Yaklaşım. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; p.68–71.
- Arıncı K. ve Elhan A. (1995). Anatomi. 4.baskı. *Güneş Tıp Kitapevi*, Ankara, s: 311-321.
- Asbell MA, Schwartzbach E, Bullock FJ, Yesair DW. (1972). Daunomycin and adriamycin metabolism via reductive glycosidic cleavage. *J Pharmacol Exp Ther.* 182(1):63-9.
- Ashakirin SN, Tripathy M, Patil UK., Majeed ABA. (2017). Chemistry and bioactivity of cinnamaldehyde: a natural molecule of medicinal importance. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(6), 2333–2340. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.8(6).2333-40.
- Atmaca E, Aksoy A. (2009). Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 79 - 83 DERLEME. ISSN: 1017-8422; e-ISSN: 1308-3651.
- Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. (2000). The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology.* 7;143(3):219-26. doi: 10.1016/s0300-483x(99)00179-1.
- Bakker WW, Kalicharan D, Donga J, Hulstaert CE, Hardonk MJ. (1987). Decreased ATPase activity in adriamycin nephrosis is independent of proteinuria. *Kidney Int.* 31(3):704-9.
- Ballet F, Vrignaud P, Robert J, Rey C, Poupon R. (1987). Hepatic extraction, metabolism and biliary excretion of doxorubicin in the isolated perfused rat liver. *Cancer Chemother Pharmacol.* 19(3):240-5. doi: 10.1007/BF00252979.
- Bazmandegan G, Amirteimoury M, Kaeidi A, Shamsizadeh A, Khademalhosseini M, Nematollahi MH, Hassanipour M, Fatemi I. (2019). Sumatriptan ameliorates renal injury induced by cisplatin in mice. *Iran J Basic Med Sci.* 22(5):563-567.
- Benzer F, Kandemir FM, Kucukler S, Comaklı S, Caglayan C. (2018). Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating

inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Arch Physiol Biochem.*124(5):448-457.

- Benzer F, Kandemir FM, Kucukler S, Comaklı S, Caglayan C. (2018). Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Arch Physiol Biochem.* 124(5):448-457. doi: 10.1080/13813455.2017.1422766.
- Bernardo MA, Silva ML, Santos E, Moncada MM, Brito J, Proença L, Singh J, de Mesquita MF. (2015). Effect of Cinnamon Tea on Postprandial Glucose Concentration. *J Diabetes Res.* 2015:913651. doi: 10.1155/2015/913651.
- Bingöl FN, Akbulut G. (2012). Tip 2 diabetes mellitus ve tarçın. *Bozok Medical Journal.* 3:39-46.
- Blackadar CB. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World J Clin Oncol.* 10;7(1):54-86. doi: 10.5306/wjco.v7.i1.54.
- Blahová J, Svobodová Z. (2012). Assessment of coumarin levels in ground cinnamon available in the Czech retail market. *ScientificWorldJournal.* 2012:263851. doi: 10.1100/2012/263851.
- Bou Matar RN, Klein JD, Sands JM. (2013). Erlotinib preserves renal function and prevents salt retention in doxorubicin treated nephrotic rats. *PLoS One.* 8(1):e54738. doi: 10.1371/journal.pone.0054738.
- Bradley GK. (2020). Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology. Veteriner Fizyoloji. Çeviri Ed: Gülay MŞ. 6th ed., Elsevier, Inc. 30.
- Breckenridge DG, Germain M, Mathai JP, Nguyen M, Shore GC. (2003). Regulation of apoptosis by endoplasmic reticulum pathways. *Oncogene.* 24;22(53):8608-18. doi: 10.1038/sj.onc.1207108.
- Brown SA., Crowell WA., Brown CA., Barsanti JA., Finco DR. (1997). Kidney function. In Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML., *Clinical biochemistry of domestic animals.* Elsevier, Amsterdam, 441-484.
- Brookes P. (1990). The early history of the biological alkylating agents, 1918-1968. *Mutat Res.* 233(1-2):3-14. doi: 10.1016/0027-5107(90)90145-t.
- Bucciarelli E, Binazzi R, Santori P, Vespasiani G. (1976). Sindrome nefrosica nei ratti da adriamicina cloridrato [Nephrotic syndrome in rats due to adriamycin chlorhydrate]. *Lav Ist Anat Istol Patol Univ Studi.* Perugia. 36(2):53-69.
- Burke JF Jr, Laucius JF, Brodovsky HS, Soriano RZ. (1977). Doxorubicin hydrochloride-associated renal failure. *Arch Intern Med.* 137(3):385-8.
- Cai F, Luis MAF, Lin X, Wang M, Cai L, Cen C, Biskup E. (2019). Anthracycline-induced cardiotoxicity in the chemotherapy treatment of breast cancer: Preventive strategies and treatment. *Mol Clin Oncol.* 11(1):15-23. doi: 10.3892/mco.2019.1854.

- Camaggi CM, Comparsi R, Strocchi E, Testoni F, Angelelli B, Pannuti F. (1988). Epirubicin and doxorubicin comparative metabolism and pharmacokinetics. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 21, 221–228 doi:10.1007/BF00262774.
- Cannon CM. (2015). Cats, Cancer and Comparative Oncology. *Vet Sci.* 30;2(3):111-126. doi: 10.3390/vetsci2030111.
- Carlson GP. (1990). Clinical chemistry tests. In: Smith BP. (Editor). Large Animal Internal Medicine 3rd Edition, St. Louis: Mosby Co 2002: 375-397.
- Carpenter S, Fitzgerald KA. (2018). Cytokines and Long Noncoding RNAs. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 1;10(6):a028589. doi: 10.1101/cshperspect.a028589.
- Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, Correia S, Oliveira PJ, Santos MS, Moreira PI. (2009). Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Curr Med Chem.* 16(25):3267-85. doi: 10.2174/092986709788803312.
- Cen J, Nie M, Duan L, Gu F. (2015). Novel autosomal recessive gene mutations in aquaporin-2 in two Chinese congenital nephrogenic diabetes insipidus pedigrees. *Int J Clin Exp Med.* 15;8(3):3629-39.
- Chao LK, Hua KF, Hsu HY, Cheng SS, Lin IF, Chen CJ, Chen ST, Chang ST. (2008). Cinnamaldehyde inhibits pro-inflammatory cytokines secretion from monocytes/macrophages through suppression of intracellular signaling. *Food Chem Toxicol.* 46(1):220-31. doi: 10.1016/j.fct.2007.07.016.
- Chaudhary K, Malhotra K, Sowers J, Aroor A. (2013). Uric Acid - key ingredient in the recipe for cardiorenal metabolic syndrome. *Cardiorenal Med.* 3(3):208-220. doi: 10.1159/000355405.
- Chen A, Sheu LF, Ho YS, Lin YF, Chou WY, Chou TC, Lee WH. (1998). Experimental focal segmental glomerulosclerosis in mice. *Nephron.* 78(4):440-52.
- Chen L, Yuan J, Li H, Ding Y, Yang X, Yuan Z, Hu Z, Gao Y, Wang X, Lu H, Cai Y, Bai Y, Pan X. (2023). Trans-cinnamaldehyde attenuates renal ischemia/reperfusion injury through suppressing inflammation via JNK/p38 MAPK signaling pathway. *Int Immunopharmacol.* 118:110088. doi: 10.1016/j.intimp.2023.110088.
- Chen X, Zhang Y, Zhu Z, Liu H, Guo H, Xiong C, Xie K, Zhang X, Su S. (2016a). Protective effect of berberine on doxorubicin-induced acute hepatorenal toxicity in rats. *Mol Med Rep.* 13(5):3953-60. doi: 10.3892/mmr.2016.5017.
- Chen YF, Wang YW, Huang WS, Lee MM, Wood WG, Leung YM, Tsai HY. (2016b). Trans-Cinnamaldehyde, An Essential Oil in Cinnamon Powder, Ameliorates Cerebral Ischemia-Induced Brain Injury via Inhibition of Neuroinflammation Through Attenuation of iNOS, COX-2 Expression and NFκ-B Signaling Pathway. *Neuromolecular Med.* 18(3):322-33. doi: 10.1007/s12017-016-8395-9.
- Chen W, Golden DA, Critzer FJ, Davidson PM. (2015). Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde, Carvacrol, and Lauric Arginate against Salmonella Tennessee in a

- Glycerol-Sucrose Model and Peanut Paste at Different Fat Concentrations. *J Food Prot.* 78(8):1488-95. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-599.
- Chew EH, Nagle AA, Zhang Y, Scarmagnani S, Palaniappan P, Bradshaw TD, Holmgren A, Westwell AD. (2010). Cinnamaldehydes inhibit thioredoxin reductase and induce Nrf2: potential candidates for cancer therapy and chemoprevention. *Free Radic Biol Med.* 1;48(1):98-111. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.
- Chien CT, Chang TC, Tsai CY, Shyue SK, Lai MK. (2005). Adenovirus-mediated bcl-2 gene transfer inhibits renal ischemia/reperfusion induced tubular oxidative stress and apoptosis. *Am J Transplant.* 5(6):1194-203. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.00826.x.
- Choie DD, del Campo AA, Guarino AM. (1980). Subcellular localization of cis-dichlorodiammineplatinum(II) in rat kidney and liver. *Toxicol Appl Pharmacol.* 15;55(2):245-52.
- Chowdhury I, Tharakan B, Bhat GK. (2008). Caspases - an update. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 151(1):10-27. doi: 10.1016/j.cbpb.2008.05.010.
- Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C. (2012). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clin Chem Lab Med.* 15;50(9):1505-17. doi: 10.1515/cclm-2011-0814.
- Coleman C. (2017). Early Detection and Screening for Breast Cancer. *Semin Oncol Nurs.* 33(2):141-155. doi: 10.1016/j.soncn.2017.02.009.
- Corrie, P. G. (2011). Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine*, 39(12), 717-722.
- Çelik F, Bektaş H. (2020). Onkolojide yeni bir tedavi yöntemi: elektrokemoterapi uygulaması. *Koç Üniversitesi Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi.* 7: 194-8.
- Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van Montagu M, Inzé D, Van Breusegem F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci.* 57(5):779-95. doi: 10.1007/s000180050041.
- David J. ve Aslan D. (2005). Basic Principles in Clinical Chemistry. Klinik Kimyada Temel İlkeler. *Palme Yayıncılık*, Ankara.
- Demirci U, Benekli M, Büyükberber S, Coskun U. (2010). Late side effects of cancer therapy. *Int J Hematol.* 32: 250-261.
- Derviş E. (2011). Derleme: Oral Antioksidanlar. *Dermatoz* 2(1) : 263-267.
- Devarajan P. (2008). NGAL in acute kidney injury: from serendipity to utility. *Am J Kidney Dis.* 52(3):395-9. doi: 10.1053/j.ajkd.2008.07.008.
- Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med.* 1;32(11):1102-15. doi: 10.1016/s0891-5849(02)00826-2.

- Dodion P, Bernstein AL, Fox BM, Bachur NR. (1987). Loss of fluorescence by anthracycline antibiotics: effects of xanthine oxidase and identification of the nonfluorescent metabolites. *Cancer Res.* 15;47(4):1036-9.
- Doroshov JH. (1983). Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Canc Res.* 43(2):460e72.
- Dündar Y, Aslan R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, Oxidative Stress and Antioxidants in Medicine. Afyon Kocatepe Üniversitesi. ISBN: 9789757150299.
- Ecelbarger CA, Sands JM, Doran JJ, Cacini W, Kishore BK. (2001). Expression of salt and urea transporters in rat kidney during cisplatin-induced polyuria. *Kidney Int.* 60(6):2274-82. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00048.x.
- EFSA (European Food Safety Authority). (2008). Coumarin in flavourings and other food ingredients with flavouring properties - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC). *EFSA Journal.* 6(10):793.
- El-Sayed el-SM, Abd El-Raouf OM, Fawzy HM, Manie MF. (2013). Comparative study of the possible protective effects of cinnamic acid and cinnamaldehyde on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 27(12):508-14. doi: 10.1002/jbt.21515.
- Elsherbiny NM, El-Sherbiny M. (2014). Thymoquinone attenuates Doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats: Role of Nrf2 and NOX4. *Chem Biol Interact.* 5;223:102-8. doi: 10.1016/j.cbi.2014.09.015.
- El-Shitany NA, El-Haggar S, El-desoky K. (2008). Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol.* 46(7):2422-8. doi: 10.1016/j.fct.2008.03.033.
- Elshopakey GE, Elazab ST. (2021). Cinnamon Aqueous Extract Attenuates Diclofenac Sodium and Oxytetracycline Mediated Hepato-Renal Toxicity and Modulates Oxidative Stress, Cell Apoptosis, and Inflammation in Male Albino Rats. *Vet Sci.* 6;8(1):9. doi: 10.3390/vetsci8010009.
- Eşrefoğlu M. (2009). Derleme:Hücre hasarı ve ölümü: Oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 29(6):1660-76.
- Evaluation of certain food additives and contaminants. (1990). Thirty-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *World Health Organization Technical Report Series.* 789:1-48.
- Ferri KF, Kroemer G. (2001). Organelle-specific initiation of cell death pathways. *Nat Cell Biol.* 3(11):E255-63. doi: 10.1038/ncb1101-e255.
- Fuchs Y, Steller H. (2011). Programmed cell death in animal development and disease. *Cell.* 11;147(4):742-58. doi: 10.1016/j.cell.2011.10.033.

- Fogli S, Nieri P, Breschi MC. (2004). The role of nitric oxide in anthracycline toxicity and prospects for pharmacologic prevention of cardiac damage. *FASEB J.* 18(6):664-75. doi: 10.1096/fj.03-0724rev.
- Ganey PE, Kauffman FC, Thurman RG. (1988). Oxygen-dependent hepatotoxicity due to doxorubicin: role of reducing equivalent supply in perfused rat liver. *Mol Pharmacol.* 34(5):695-701.
- Gao J, Wang X, Chang Y, Zhang J, Song Q, Yu H, Li X. (2006). Acetazolamide inhibits osmotic water permeability by interaction with aquaporin-1. *Anal Biochem* 350(2):165–170. doi.org/10.1016/j.ab.2006.01.003.
- Ghiringhelli F, Apetoh L. (2014). The interplay between the immune system and chemotherapy: emerging methods for optimizing therapy. *Expert Rev Clin Immunol.* 10(1):19-30. doi: 10.1586/1744666X.2014.865520.
- Ghosh S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem.* 88:102925. doi: 10.1016/j.bioorg.2019.102925.
- Gille L, Nohl H. (1997). Analyses of the molecular mechanism of adriamycin-induced cardiotoxicity. *Free Radic Biol Med.* 23(5):775e82.
- Goel A, Aggarwal BB. (2010). Curcumin, the golden spice from Indian saffron, is a chemosensitizer and radiosensitizer for tumors and chemoprotector and radioprotector for normal organs. *Nutr Cancer.* 62(7):919-30. doi: 10.1080/01635581.2010.509835.
- Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C. (2000). PDR for Herbal Medicine, 2nd edition. *Medical Economics Company*, Montale, NJ, USA.
- Guder WG, Morel F. (1992). Biochemical characterization of individual nephron segments. In: *Handbook of Physiology. Section 8: Renal Physiology*, London, doi:10.1002/cphy.cp080246.
- Guo X, Sun W, Huang L, Wu L, Hou Y, Qin L, Liu T. (2017). Effect of Cinnamaldehyde on Glucose Metabolism and Vessel Function. *Med Sci Monit.* s:9;23:3844-3853. doi: 10.12659/MSM.906027.
- Gustafson DL, Swanson JD, Pritsos CA. (1991). Role of xanthine oxidase in the potentiation of doxorubicin-induced cardiotoxicity by mitomycin C. *Cancer Commun.* 3(9):299-304.
- Guyton ve Hall. (2017). Tıbbi Fizyoloji. Çevirenler: Yeğen Ç.B. 13.baskı. *Güneş Tıp Kitabevi*, Ankara.
- Hajinejad M, Ghaddaripouri M, Dabzadeh M, Forouzanfar F, Sahab-Negah S. (2020). Natural Cinnamaldehyde and Its Derivatives Ameliorate Neuroinflammatory Pathways in Neurodegenerative Diseases. *Biomed Res Int.* 14;2020:1034325. doi: 10.1155/2020/1034325.

- Hardman J.G. (2001). Limbird L.E. Drugs used in the chemotherapy of malaria. The Goodman and Gilman's pharmacological bases of therapeutics. 10th ed. New York, USA: McGraw-Hill. 1069-100.
- Havasi A, Li Z, Wang Z, Martin JL, Botla V, Ruchalski K, Schwartz JH, Borkan SC. (2008). Hsp27 inhibits Bax activation and apoptosis via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanism. *J Biol Chem. May.* 2;283(18):12305-13. doi: 10.1074/jbc.M801291200.
- Heeba GH, Mahmoud ME. (2016). Dual effects of quercetin in doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats and its modulation of the cytotoxic activity of doxorubicin on human carcinoma cells. *Environ Toxicol.* 31(5):624-36. doi: 10.1002/tox.22075.
- Hengartner MO. (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature.* Oct 12;407(6805):770-6. doi: 10.1038/35037710.
- Hill BT. (2019). Etiology of Cancer. In: Singh A., Damato B. (eds). *Clinical Ophthalmic Oncology.* Springer. s11-17.
- Holdsworth SR, Gan PY. (2015). Cytokines: Names and Numbers You Should Care About. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7;10(12):2243-54. doi: 10.2215/CJN.07590714.
- Huang CY, Ju DT, Chang CF, Muralidhar Reddy P, Velmurugan BK. (2017). A review on the effects of current chemotherapy drugs and natural agents in treating non-small cell lung cancer. *Biomedicine (Taipei).* 7(4):23. doi: 10.1051/bmdcn/2017070423.
- Huang J, Wang S, Luo X, Xie Y, Shi X. (2007). Cinnamaldehyde reduction of platelet aggregation and thrombosis in rodents. *Thromb Res.* 119(3):337-42. doi: 10.1016/j.thromres.2006.03.001.
- Hughes J, Savill JS. (2005). Apoptosis in glomerulonephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 14(4):389-95. doi: 10.1097/01.mnh.0000172728.82993.4e.
- Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. (2003). Radical causes of cancer. *Nat Rev Cancer.* 3(4):276-85. doi: 10.1038/nrc1046.
- Ibrahim KM, Mantawy EM, Elanany MM, Abdelgawad HS, Khalifa NM, Hussien RH, El-Agroudy NN, El-Demerdash E. (2020). Protection from doxorubicin-induced nephrotoxicity by clindamycin: novel antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic roles. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 393(4):739-748. doi: 10.1007/s00210-019-01782-4.
- Igney FH, Krammer PH. (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer.* 2(4):277-88. doi: 10.1038/nrc776.
- Inuwa, H., Aina, V., & Ja, L. (2011). Determination of nephrotoxicity and hepatotoxicity of monosodium glutamate (MSG) consumption. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2, 148–153.

- Jain S, Sangma T, Shukla SK, Mediratta PK. (2015). Effect of *Cinnamomum zeylanicum* extract on scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Nutr Neurosci*. 18(5):210-6.
- James CW, Steinhaus MC, Szabo S, Dressier RM. (2004). Tenofovir-related nephrotoxicity: case report and review of the literature. *Pharmacotherapy*. 24(3):415-8.
- Johansen PB. (1981). Doxorubicin pharmacokinetics after intravenous and intraperitoneal administration in the nude mouse. *Cancer Chemother Pharmacol*. 5(4):267-70.
- Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, Shafiu M, Segal M, Glassock RJ, Shimada M, Roncal C, Nakagawa T. (2009). Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr Rev*. 30(1):96-116. doi: 10.1210/er.2008-0033.
- Kalyanaraman B, Joseph J, Kalivendi S, Wang S, Konorev E, Kotamraju S. (2002). Doxorubicin-induced apoptosis: implications in cardiotoxicity. *Mol Cell Biochem*. May-234-235(1-2):119-24.
- Kandemir FM, Kucukler S, Eldutar E, Caglayan C, Gülçin İ. (2017). Chrysin Protects Rat Kidney from Paracetamol-Induced Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and Autophagy: A Multi-Biomarker Approach. *Sci Pharm*. 26;85(1):4. doi: 10.3390/scipharm85010004.
- Kandemir FM, Yildirim S, Kucukler S, Caglayan C, Mahamadu A, Dortbudak MB. (2018). Therapeutic efficacy of zingerone against vancomycin-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis and aquaporin 1 permeability in rat kidney. *Biomed Pharmacother*. 105:981-991. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.048.
- Kang YJ, Chen Y, Epstein PN. (1996). Suppression of doxorubicin cardiotoxicity by overexpression of catalase in the heart of transgenic mice. *J Biol Chem*. 24;271(21):12610-6.
- Kassner N, Huse K, Martin HJ, Gödtel-Armbrust U, Metzger A, Meineke I, Brockmöller J, Klein K, Zanger UM, Maser E, Wojnowski L. (2008). Carbonyl reductase 1 is a predominant doxorubicin reductase in the human liver. *Drug Metab Dispos*. 36(10):2113-20. doi: 10.1124/dmd.108.022251.
- Kaye, K.W. ve Goldberg, M.E. (1982) Applied Anatomy of the Kidney and Ureter. *The Urologic Clinics of North America*, 9, 3-13.
- Kaygusuzoglu E, Caglayan C, Kandemir FM, Yıldırım S, Kucukler S, Kılınç MA, Sağlam YS. (2018). Zingerone ameliorates cisplatin-induced ovarian and uterine toxicity via suppression of sex hormone imbalances, oxidative stress, inflammation and apoptosis in female wistar rats. *Biomed Pharmacother*. 102:517-530. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.119.

- Khames A, Khalaf MM, Gad AM, Abd El-Raouf OM, Kandeil MA. (2019). Nicorandil combats doxorubicin-induced nephrotoxicity via amendment of TLR4/P38 MAPK/NFκ-B signaling pathway. *Chem Biol Interact.* 25;311:108777. doi: 10.1016/j.cbi.2019.108777.
- Khasnavis S, Pahan K. (2012). Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons. *J Neuroimmune Pharmacol.* 7(2):424-35. doi: 10.1007/s11481-011-9286-3.
- King LS, Kozono D, Agre P. (2004). From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 5(9):687-98. doi: 10.1038/nrm1469.
- Kintzel, P.E. (2001). Anticancer drug-induced kidney disorders. *Drug Safety*, doi: 10.2165/00002018-200124010-00003.
- Kishore BK, Krane CM, Di Iulio D, Menon AG, Cacini W. (2000). Expression of renal aquaporins 1, 2, and 3 in a rat model of cisplatin-induced polyuria. *Kidney Int.* 58(2):701-11. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00216.x.
- Kizilaslan N, Erdem NZ. (2019). The Effect of Different Amounts of Cinnamon Consumption on Blood Glucose in Healthy Adult Individuals. *Int J Food Sci.* 4;2019:4138534. doi: 10.1155/2019/4138534.
- Koca N, Karadeniz F. (2005). Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. *Gıda*, 30(4).
- Korsmeyer SJ. (1999). BCL-2 gene family and the regulation of programmed cell death. *Cancer Res.* 1;59(7 Suppl):1693s-1700s.
- Kortenoeven ML, Fenton RA. (2014). Renal aquaporins and water balance disorders. *Biochim Biophys Acta.* 1840(5):1533-49. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.12.002.
- Koseki C, Herzlinger D, al-Awqati Q. (1992). Apoptosis in metanephric development. *J Cell Biol.* 119(5):1327-33. doi: 10.1083/jcb.119.5.1327.
- Koyu EB. (2019). Diyabette kullanılan bitkisel desteklerin etkinliği ve güvenilirliği. *Beslenme ve Diyet Dergisi.* 47:110-7.
- Kuran O. (1983) Sistemik Anatomi. *Filiz Kitapevi*, İstanbul
- Kurreck, J. (2022). Silencing-Technologien zur Analyse von Genfunktionen. In Bioanalytik (pp. 997-1012). *Springer Spektrum*, Berlin, Heidelberg.
- Kuzu M, Kandemir F M, Yildirim S, Kucukler S, Caglayan C, Turk E. (2018). Morin attenuates doxorubicin-induced heart and brain damage by reducing oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Biomed Pharmacother.* 106:443–453. doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.161.
- Lalani I, Bhol K, Ahmed AR. (1997). Interleukin-10: biology, role in inflammation and autoimmunity. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 79(6):469-83. doi: 10.1016/S1081-1206(10)63052-9.

- Lee VW, Harris DC. (2011). Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* (Carlton). 16(1):30-8.
- Lewandowska AM, Rudzki M, Rudzki S, Lewandowski T, Laskowska B. (2019). Environmental risk factors for cancer – review paper. *Ann Agric Environ Med*. 26(1): 1–7. doi: 10.26444/aaem/94299.
- Li W, Zhi W, Zhao J, Li W, Zang L, Liu F, Niu X. (2019). Cinnamaldehyde attenuates atherosclerosis via targeting the $\text{I}\kappa\text{B}/\text{NF-}\kappa\text{B}$ signaling pathway in high fat diet-induced $\text{ApoE}(-/-)$ mice. *Food & Function*. 0(7):4001-9.
- Liao JC, Deng JS, Chiu CS, Hou WC, Huang SS, Shie PH, Huang GJ. (2012). Anti-Inflammatory Activities of Cinnamomum cassia Constituents In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2012:429320. doi: 10.1155/2012/429320.
- Lin W-W, Karin M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 117: 1175–1183.
- Liyanage T, Ninomiya T, Jha V, Neal B, Patrice HM, Okpechi I, Zhao MH, Lv J, Garg AX, Knight J, Rodgers A, Gallagher M, Kotwal S, Cass A, Perkovic V. (2015). Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review. *Lancet*. 16;385(9981):1975-82.
- Lorz C, Benito-Martin A, Justo P, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Santamaria B, Egido J, Ortiz A. (2006). Modulation of renal tubular cell survival: where is the evidence? *Curr Med Chem*. 13(4):449-54. doi: 10.2174/092986706775527956.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 193(1):265-75.
- MacFarlane M, Foster JR, Gibson GG, King LJ, Lock EA. (1989). Cysteine conjugate beta-lyase of rat kidney cytosol: characterization, immunocytochemical localization, and correlation with hexachlorobutadiene nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol*. 98(2):185-97.
- Malik J, Munjal K, Deshmukh R. (2015). Attenuating effect of standardized lyophilized Cinnamomum zeylanicum bark extract against streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 26(3):275-85. doi: 10.1515/jbcpp-2014-0012.
- Malla S, Niraula NP, Singh B, Liou K, Sohng JK. (2010). Limitations in doxorubicin production from Streptomyces peucetius. *Microbiol Res*. 20;165(5):427-35. doi: 10.1016/j.micres.2009.11.006.
- Malyszko J, Kozłowska K, Kozłowski L, Malyszko J. (2017). Nephrotoxicity of anticancer treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 1;32(6):924-936.
- Mateen S, Shahzad S, Ahmad S, Naeem SS, Khalid S, Akhtar K, Rizvi W, Moin S. (2019). Cinnamaldehyde and eugenol attenuates collagen induced arthritis via reduction of free

- radicals and pro-inflammatory cytokines. *Phytomedicine*. 53:70-78. doi: 10.1016/j.phymed.2018.09.004.
- Mathew S, Abraham ET. (2006). Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*. 94(4):520-528.
- Matthews HK, Bertoli C, de Bruin RAM. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 23(1):74-88. doi: 10.1038/s41580-021-00404-3.
- McGowan JV, Chung R, Maulik A, Piotrowska I, Walker JM, Yellon DM. (2017). Anthracycline Chemotherapy and Cardiotoxicity. *Cardiovasc Drugs Ther*. 31(1):63-75. doi: 10.1007/s10557-016-6711-0.
- Medagama AB. (2015). The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials. *Nutr J*. 16;14:108.
- Meredith AM, Dass CR. (2016). Increasing role of the cancer chemotherapeutic doxorubicin in cellular metabolism. *J Pharm Pharmacol*. 68(6):729-41. doi: 10.1111/jphp.12539.
- Mesbah L, Kheira B, Wided K, Mohamed A. (2010). Polyphenolic fractions of Algerian propolis reverses doxorubicin induced acute renal oxidative stress. *Afr J Pharm Pharmacol*. 4:712–720.
- Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, Rowland JH, Yabroff KR, Alfano CM, Jemal A, Kramer JL, Siegel RL. (2019). Cancer treatment and survivorship statistics. *CA Cancer J Clin*. 69(5):363-385. doi: 10.3322/caac.21565.
- Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. (2004). Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev*. 56(2):185-229. doi: 10.1124/pr.56.2.6.
- Minotti G, Recalcati S, Mordente A, Liberi G, Calafiore AM, Mancuso C, Preziosi P, Cairo G. (1998). The secondary alcohol metabolite of doxorubicin irreversibly inactivates aconitase/iron regulatory protein-1 in cytosolic fractions from human myocardium. *FASEB J*. 12(7):541-52.
- Minotti G. (1989). Reactions of adriamycin with microsomal iron and lipids. *Free Radic Res Commun*. s;7(3-6):143-8. doi: 10.3109/10715768909087936.
- Misdorp W. (1996). Veterinary cancer epidemiology. *Vet Q*. 18(1):32-6. doi: 10.1080/01652176.1996.9694610.
- Miyamoto Y, Koh YH, Park YS, Fujiwara N, Sakiyama H, Misonou Y, Ookawara T, Suzuki K, Honke K, Taniguchi N. (2003). Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses. *Biol Chem*. 384(4):567-74.
- Mohan M, Kamble S, Gadhi P, Kasture S. (2010). Protective effect of *Solanum torvum* on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol*. 48(1):436-40. doi: 10.1016/j.fct.2009.10.042.

- Mohan, P., ve Rapoport, N. (2010). Doxorubicin as a molecular nanotheranostic agent: effect of doxorubicin encapsulation in micelles or nanoemulsions on the ultrasound-mediated intracellular delivery and nuclear trafficking. *Molecular pharmaceutics*. 7(6), 1959-1973.
- Mollazadeh, H. and Hosseinzadeh, H. (2016). Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 19 (12), 1258.
- Moon KH, Pack MY. (1983). Cytotoxicity of cinnamic aldehyde on leukemia L1210 cells. *Drug Chem Toxicol*. 6(6):521-35. doi: 10.3109/01480548309017807.
- Mordente A, Meucci E, Silvestrini A, Martorana GE, Giardina B. (2009). New developments in anthracycline-induced cardiotoxicity. *Curr Med Chem*. 16(13):1656-72.
- Mordente A, Minotti G, Martorana GE, Silvestrini A, Giardina B, Meucci E. (2003). Anthracycline secondary alcohol metabolite formation in human or rabbit heart: biochemical aspects and pharmacologic implications. *Biochem Pharmacol*. 15;66(6):989-98. doi: 10.1016/s0006-2952(03)00442-8.
- Mostafa RE, Morsi AH, Asaad GF. (2021). Anti-inflammatory effects of saxagliptin and vildagliptin against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats: attenuation of NLRP3 inflammasome up-regulation and tubulo-interstitial injury. *Res Pharm Sci*. Aug 19;16(5):547-558. doi: 10.4103/1735-5362.323920.
- Muraji M, Sudo T, Iwasaki S, Ueno S, Wakahashi S, Yamaguchi S, Fujiwara K, Nishimura R. (2013). Histopathology predicts clinical outcome in advanced epithelial ovarian cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy and debulking surgery. *Gynecol Oncol*. 131(3):531-4. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.09.030.
- Nagai K, Fukuno S, Otani K, Nagamine Y, Omotani S, Hatsuda Y, Myotoku M, Konishi H. (2018). Prevention of Doxorubicin-Induced Renal Toxicity by Theanine in Rats. *Pharmacology*. 101(3-4):219-224.
- Nielsen S, Frøkiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. (2002). Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev*. 82(1):205-44. doi: 10.1152/physrev.00024.2001.
- Nohl H, Gille L, Staniek K. (1998). The exogenous NADH dehydrogenase of heart mitochondria is the key enzyme responsible for selective cardiotoxicity of anthracyclines. *Z Naturforsch C J Biosci*. 53(3-4):279-85.
- Noori S, Azmat M, Mahboob T. (2012). Study on antioxidant effects of cinnamon and garlic extract in liver, kidney and heart tissue of rat. *Medicine, Environmental Science*. 9(1): 17-22.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 95(2):351-8. doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3.

- Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. (1993). Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*. 27;74(4):609-19. doi: 10.1016/0092-8674(93)90509-o.
- Oz E, İlhan MN. (2006). Effects of melatonin in reducing the toxic effects of doxorubicin. *Mol Cell Biochem*. 286(1-2):11-5. doi: 10.1007/s11010-005-9003-8.
- Önder F, Keskin E. (2006). İnterlökinlerin biyolojik etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 9(1), 127-138.
- Park ES, Kim SD, Lee MH, Lee HS, Lee IS, Sung JK, Yoon YS. (2003). Protective effects of N-acetylcysteine and selenium against doxorubicin toxicity in rats. *J Vet Sci*. 4(2):129-36.
- Pathirana H, Wimalasena SHMP, Benthota de Silva CJ, Hossain S, Heo GJ. (2019). Antibacterial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and cinnamaldehyde against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Indian Journal of Fisheries*. 66(2),86–92. doi:10.21077/ijf.2019.66.2.85023-12.
- Pawłowska J, Tarasiuk J, Wolf CR, Paine MJ, Borowski E. (2003). Differential ability of cytostatics from anthraquinone group to generate free radicals in three enzymatic systems: NADH dehydrogenase, NADPH cytochrome P450 reductase, and xanthine oxidase. *Oncol Res*. 13(5):245-52.
- Periyasamy L, Jambhulkar S, Deshiredy S, Jestadi DB. (2014). Quercetin attenuating doxorubicin induced hepatic, cardiac and renal toxicity in male albino Wistar rats. *Am J Phytomed Clin Ther*. 2:985–1004.
- Peter ME, Krammer PH. (2003). The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ*. 10(1):26-35. doi: 10.1038/sj.cdd.4401186.
- Peters GJ. (2014). Novel developments in the use of antimetabolites. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 33(4-6):358-74. doi: 10.1080/15257770.2014.894197.
- Pfaller W, Gstraunthaler G. (1998). Nephrotoxicity testing in vitro-what we know and what we need to know. *Environ Health Perspect*. 106: 559-569.
- Poornima BN, Deeba F. (2020). Activities of Cinnamaldehyde from *Boswellia Serrata* on MCF-7 Breast Cancer Cell Line. *Journal For Innovative Development in Pharmaceutical and Technical Science*. 3(08). doi: 10.13140/RG.2.2.11932.10883.
- Prasanna PL, Renu K, Valsala Gopalakrishnan A. (2020). New molecular and biochemical insights of doxorubicin-induced hepatotoxicity. *Life Sci*. 1;250:117599. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117599.
- Qin SY, Zhang AQ, Cheng SX, Rong L, Zhang XZ. (2017). Drug self-delivery systems for cancer therapy. *Biomaterials*. 112:234-247. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.016.

- Quesniaux VF. (1992). Interleukins 9, 10, 11 and 12 and kit ligand: a brief overview. *Res Immunol.* 143(4):385-400. doi: 10.1016/s0923-2494(05)80071-9.
- Qu, S., Dai, C., Hao, Z., Tang, Q., Wang, H., Wang, J., & Zhao, H. (2020). Chlorogenic acid prevents vancomycin-induced nephrotoxicity without compromising vancomycin antibacterial properties. *Phytotherapy Research.* 34(12), 3189-3199.
- Rajaprabhu D, Rajesh R, Jeyakumar R, Buddhan S, Ganesan B, Anandan R. (2007). Protective effect of Picrorhizakurroa on antioxidant defense status in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *J Med Plants Res.* 1:80e5.
- Ranasinghe P, Galappaththy P, Constantine GR, Jayawardena R, Weeratunga HD, Premakumara S, Katulanda P. (2017). Cinnamomum zeylanicum (Ceylon cinnamon) as a potential pharmaceutical agent for type-2 diabetes mellitus: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 29;18(1):446. doi: 10.1186/s13063-017-2192-0.
- Rashid S, Ali N, Nafees S, Ahmad ST, Arjumand W, Hasan SK, Sultana S. (2013). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. *Toxicol Mech Methods.* 23(5):337-45. doi: 10.3109/15376516.2012.759306.
- Reece, W.O. (2012). Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals. Evcil Hayvanların Fonksiyonel Anatomisi ve Fizyolojisi. Çevirenler: Çötelioglu Ü., Özcan M. 4th ed., Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 312-353.
- Rehman MU, Tahir M, Ali F, Qamar W, Lateef A, Khan R, Quaiyoom A, Oday-O-Hamiza, Sultana S. (2012). Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of Ellagic acid. *Mol Cell Biochem.* 365(1-2):119-27. doi: 10.1007/s11010-012-1250-x.
- Renu K, V G A, P B TP, Arunachalam S. (2018). Molecular mechanism of doxorubicin-induced cardiomyopathy - An update. *Eur J Pharmacol.* 5;818:241-253. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.10.043.
- Roy PS, Saikia BJ. (2016). Cancer and cure: A critical analysis. *Indian J Cancer.* 53(3):441-442. doi: 10.4103/0019-509X.200658.
- Ryter SW, Kim HP, Hoetzel A, Park JW, Nakahira K, Wang X, Choi AM. (2007). Mechanisms of cell death in oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 9(1):49-89. doi: 10.1089/ars.2007.9.49.
- Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC. (2001). The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. *Pharmacol Res.* 43(3):211-8.
- Sabbah HN. (2000). Apoptotic cell death in heart failure. *Cardiovasc Res.* 45(3):704-12. doi: 10.1016/s0008-6363(99)00348-x.
- Saffhill R, Margison GP, O'Connor PJ. (1985). Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochim Biophys Acta.* 17;823(2):111-45. doi: 10.1016/0304-419x(85)90009-5.

- Sakemi T, Ohtsuka N, Tomiyoshi Y, Morito F. (1996). Sex difference in progression of adriamycin-induced nephropathy in rats. *Am J Nephrol.* 16(6):540-7. doi: 10.1159/000169057.
- Sandhiutami NMD, Arozal W, Louisa M, Rahmat D, Mandy T. (2019). Comparative Effect of Curcumin and Nanocurcumin on Nephroprotection at Cisplatin-induced Rats. *J Pharm Bioallied Sci.* 11(Suppl 4):S567-S573. doi: 10.4103/jpbs.JPBS_208_19.
- Santos-Mello R., Deimling L.I., Lauer Júnior C., Carvalho, TRD. (2005). Chemoprotective effect of cysteamine against the induction of micronuclei by methylmethanesulfonate and cyclophosphamide. *Genetics and Molecular Biology*, 28(1),156-160.
- Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, Barasch J. (2007). Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol.* 18(2):407-13. doi: 10.1681/ASN.2006080882.
- Schrezenmeier EV, Barasch J, Budde K, Westhoff T, Schmidt-Ott KM. (2017). Biomarkers in acute kidney injury - pathophysiological basis and clinical performance. *Acta Physiologica (Oxf).* 219(3):554-572. doi: 10.1111/apha.12764.
- Sedeek M, Nasrallah R, Touyz RM, Hébert RL. (2013). NADPH oxidases, reactive oxygen species, and the kidney: friend and foe. *J Am Soc Nephrol.* 24(10):1512-8. doi: 10.1681/ASN.2012111112.
- Sedlak J, Lindsay RH. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 24;25(1):192-205. doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4.
- Selçuk EB, Korkmaz Y. (2023). Birinci basamakta üre kreatinin yüksekliğine yaklaşım. Sarı O, editör. Birinci Basamakta Üriner Sistem Hastalıklarına Yaklaşım. 1. Baskı. Ankara: *Türkiye Klinikleri*; p.35–8.
- Seyahi N, Ateş K, Süleymanlar G. (2017). Türkiye’de renal replasman tedavilerinin güncel durumu: Türk Nefroloji Derneği kayıt sistemi 2015 yılı özet raporu. *Turk Neph Dial Transpl.* 26(2):154-60.
- Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *J Agric Food Chem.* 11;55(14):5484-90.
- Shin M, Matsunaga H, Fujiwara K. (2010). Differences in accumulation of anthracyclines daunorubicin, doxorubicin and epirubicin in rat tissues revealed by immunocytochemistry. *Histochem Cell Biol.* 133(6):677-82.
- Sigerist HE. (1960). The historical development of the pathology and therapy of cancer. Edited by Marti-Ibáñez Félix. *On the history of medicine MD Publications*, New York. 59-65.
- Silver KI, Patkar S, Mazcko C, Berger EP, Beck JA, LeBlanc AK. (2023). Patterns of metastatic progression and association with clinical outcomes in canine osteosarcoma: A necropsy study of 83 dogs. *Vet Comp Oncol.* 21(4):646-655. doi: 10.1111/vco.12927.

- Smith C, Marks AD, Lieberman M. (2007). Oksijen toksisitesi ve serbest radikal örsentisi. Marks temel medikal biyokimyası, 2. Baskı. Ankara, *Güneş Tıp Kitapevleri*; 439-457.
- Steinberg FM, Chait A. (1998). Antioxidant vitamin supplementation and lipid peroxidation in smokers. *Am J Clin Nutr*. 68(2):319-27. doi: 10.1093/ajcn/68.2.319.
- Su J, Wei Y, Liu M, Liu T, Li J, Ji Y, Liang J. (2014). Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of Rhizoma Dioscoreae septemlobae extracts and its main component dioscin via regulation of mOAT1, mURAT1 and mOCT2 in hypertensive mice. *Arch Pharm Res*. 37(10):1336-44. doi: 10.1007/s12272-014-0413-6.
- Su Z, Ye J, Qin Z, Ding X. (2015). Protective effects of madecassoside against Doxorubicin induced nephrotoxicity in vivo and in vitro. *Sci Rep*. 14;5:18314. doi: 10.1038/srep18314.
- Sun J, Sun G, Cui X, Meng X, Qin M, Sun X. (2016). Myricitrin Protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Counteracting Oxidative Stress and Inhibiting Mitochondrial Apoptosis via ERK/P53 Pathway. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016:6093783. doi: 10.1155/2016/6093783.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*. 34(3):497-500.
- Sung H., Ferlay J., Siegel RL., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
- Şengül E, Şengül E, Binnetoğlu E, Binnetoğlu E, Yılmaz A, Yılmaz A. (2011). Kronik Böbrek Hastalarında Serum Ürik Asit Düzeyi ile Glukoz, HbA1c, Lipid Profili, Vücut Kitle İndeksi ve Kan Basıncı Arasındaki İlişki. *DEU Tıp Derg*. 25(3):163-8.
- Tacar O, Sriamornsak P, Dass CR. (2013). Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *J Pharm Pharmacol*. 65(2):157-70. doi: 10.1111/j.2042-7158.2012.01567.x.
- Tangpong J, Miriyala S, Noel T, Sinthupibulyakit C, Jungsuwadee P, St Clair DK. (2011). Doxorubicin-induced central nervous system toxicity and protection by xanthone derivative of Garcinia mangostana. *Neuroscience*. 23;175:292-9. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.11.007.
- Taysi S. (2005). Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. *Clin Nutr*. 24(3):385-9. doi: 10.1016/j.clnu.2004.12.001.
- Thorn CF, Oshiro C, Marsh S, Hernandez-Boussard T, McLeod H, Klein TE, Altman RB. (2011). Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects. *Pharmacogenet Genomics*. 21(7):440-6.
- Thornalley PJ, Bannister WH, Bannister JV. (1986). Reduction of oxygen by NADH/NADH dehydrogenase in the presence of adriamycin. *Free Radic Res Commun*. 2(3):163-71.

- Thornberry NA, Lazebnik Y. (1998). Caspases: enemies within. *Science*. 28;281(5381):1312-6. doi: 10.1126/science.281.5381.1312.
- Tian M, Tang L, Wu Y, Beddhu S, Huang Y. (2018). Adiponectin attenuates kidney injury and fibrosis in deoxycorticosterone acetate-salt and angiotensin II-induced CKD mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1;315(3):F558-F571. doi: 10.1152/ajprenal.00137.2018.
- Troxell ML, Higgins JP, Kambham N. (2016). Antineoplastic Treatment and Renal Injury: An Update on Renal Pathology Due to Cytotoxic and Targeted Therapies. *Adv Anat Pathol*. 23(5):310-29. doi: 10.1097/PAP.0000000000000122.
- Tu Y, Sun W, Wan YG, Che XY, Pu HP, Yin XJ, Chen HL, Meng XJ, Huang YR, Shi XM. (2013). Huangkui capsule, an extract from *Abelmoschus manihot* (L.) medic, ameliorates adriamycin-induced renal inflammation and glomerular injury via inhibiting p38MAPK signaling pathway activity in rats. *J Ethnopharmacol*. 20;147(2):311-20. doi: 10.1016/j.jep.2013.03.006.
- Ünver SA. (1938). Türk Tıp Tarihinde Kanser ve Tedavisine Dair. İstanbul Üniversitesi, *Tip Fakültesi Mecmuası*. 1(5); 673-8.
- Vásquez-Vivar J, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Pritchard KA Jr, Kalyanaraman B. (1997). Endothelial nitric oxide synthase-dependent superoxide generation from adriamycin. *Biochemistry*. 23;36(38):11293-7.
- Verkman AS. (2002). Renal concentrating and diluting function in deficiency of specific aquaporin genes. *Exp Nephrol*. 10(4):235-40. doi: 10.1159/000063697.
- Verkman, A.S., Jiang, L., Zhanh, D., Zang, B., Ma, T., Manley, G.T., Song, Y. (2001). Phenotype analysis of aquaporin transgenic mice. *Bull. Mol. Med*. 7–8, 3–16.
- Vilcek J, Feldmann M. (2004). Historical review: Cytokines as therapeutics and targets of therapeutics. *Trends Pharmacol Sci* 25: 201–209.
- Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocr Rev*. 25(4):612-28. doi: 10.1210/er.2003-0019.
- Vinitha M, Ballal M. (2008). In vitro anticandidal activity of *Cinnamomum verum*. *J Med Sci*. 8:425–8.
- Volkova M, Russell R. (2011). Anthracycline cardiotoxicity: prevalence, pathogenesis and treatment. *Curr Cardiol Rev*. 7(4):214-20. doi: 10.2174/157340311799960645.
- Wallace M.A. (1998). Anatomy and physiology of the kidney. *AORN J*, 68(5), p: 800-821.
- Wang F, Pu C, Zhou P, Wang P, Liang D, Wang Q, Hu Y, Li B, Hao X. (2015). Cinnamaldehyde prevents endothelial dysfunction induced by high glucose by activating Nrf2. *Cell Physiol Biochem*. 36(1):315-24. doi: 10.1159/000374074.

- Wang Y, Knowlton AA, Christensen TG, Shih T, Borkan SC. (1999). Prior heat stress inhibits apoptosis in adenosine triphosphate-depleted renal tubular cells. *Kidney Int.* 55(6):2224-35. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00476.x.
- Wang Y, Wang YP, Tay YC, Harris DC. (2000). Progressive adriamycin nephropathy in mice: sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney Int.* 58(4):1797-804.
- Weiderpass E. (2010). Lifestyle and cancer risk. *J Prev Med Public Health.* 43(6):459-71. doi: 10.3961/jpmph.2010.43.6.459.
- Weiss RB. (1992). The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin? *Semin Oncol.* 19(6):670-86.
- Wong RS. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res.* 26;30(1):87. doi: 10.1186/1756-9966-30-87.
- Xiao J, Sun GB, Sun B, Wu Y, He L, Wang X, Chen RC, Cao L, Ren XY, Sun XB. (2012). Kaempferol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in vivo and in vitro. *Toxicology.* 6;292(1):53-62. doi: 10.1016/j.tox.2011.11.018.
- Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. (2005). Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest.* 115(10):2656-64. doi: 10.1172/JCI26373.
- Xu YZ, Kanagaratham C, Youssef M, Radzioch D. (2016). New Frontiers in Cancer Chemotherapy — Targeting Cell Death Pathways. In: Kanagaratham C, editor. *Cell Biology - New Insights*. Rijeka: InTech; p. Ch. 4.
- Yener N. (1973). Meme kanseri. *Ankara Hastanesi Dergisi.* 8(1): 5-13.
- Yeniçerioglu Y., Güngör Ö., Arıcı M. (2019). Temel Nefroloji. *Güneş Tıp Kitabevleri*. ISBN: 978-975-277-778-1. 33-35.
- Yıldırım M. (2000) İnsan Anatomisi. 5.baskı. *Nobel Tıp Kitapevi*, İstanbul
- Youn HS, Lee JK, Choi YJ, Saitoh SI, Miyake K, Hwang DH, Lee JY. (2008). Cinnamaldehyde suppresses toll-like receptor 4 activation mediated through the inhibition of receptor oligomerization. *Biochem Pharmacol.* 15;75(2):494-502.
- Zamzami N, Kroemer G. (2001). The mitochondrion in apoptosis: how Pandora's box opens. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2(1):67-71. doi: 10.1038/35048073.
- Zordoky BN, Anwar-Mohamed A, Aboutabl ME, El-Kadi AO. (2011). Acute doxorubicin toxicity differentially alters cytochrome P450 expression and arachidonic acid metabolism in rat kidney and liver. *Drug Metab Dispos.* 39(8):1440-50. doi: 10.1124/dmd.111.039123.
- Zunino F, Capranico G. (1990). DNA topoisomerase II as the primary target of anti-tumor anthracyclines. *Anticancer Drug Des.* 5(4):307-17.