

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

**DOKSORUBİSİN UYGULANMASININ SIÇAN BÖBREK
DOKUSUNDA MEYDANA GETİRDİĞİ DEĞİŞİKLİKLER
ÜZERİNE BENFOTİAMİN'İN KORUYUCU ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Feride ÇETİN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Emir DÖNDER**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Emir DÖNDER

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde eğitimime katkıları olan Prof. Dr. Emir DÖNDER, Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. İbrahim Halil BAĞÇECİOĞLU, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Doç. Dr. Bilge AYGİN, Doç. Dr. Ulvi DEMİREL, Doç. Dr. Burak UZ, Yrd. Doç. Dr. Ramazan ULU, Yrd. Doç. Dr. Nevzat GÖZEL, Yrd. Doç. Dr. Kader UĞUR ve Yrd. Doç. Dr. Leyla KILIÇ'a, tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, deneyimlerini, bilgisini ve emeğini esirgemeyen Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan ve uzman olmuş arkadaşlarıma, yan dal asistanlarına, iç hastalıkları servislerinde çalışan tüm hemşire ve personellere teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan ve hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile esirgemeyen sevgili ağabeylerim, ablalarım ve dünya tatlısı yeğenlerime teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında her türlü desteğini esirgemeyen, sevgili sınıf arkadaşım ve değerli dostum Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Emine KAÇAR'a da teşekkür ederim.

ÖZET

Antrasiklin grubunda yer alan doksorubisin, yapılan farklı çalışmalarda deney hayvanlarında önemli nefrotoksisiteye neden olmakta ve insanlarda da benzer toksik etkileri olabilmektedir. Bu çalışmada doksorubisin uygulaması ile böbrek dokusunda meydana gelen apoptotik değişiklikler ve benfotiaminin anti-apoptotik etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada 24 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 14 günlük deney süresince Grup I'e herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup II'ye 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) tek doz doksorubisin, Grup III'e 10 mg/kg i.p tek doz doksorubisin ile birlikte benfotiamin 70 mg/kg/gün oral ve Grup IV'e ise sadece benfotiamin 70 mg/kg/gün oral olarak uygulandı.

Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere bax ve kaspaz-3 immunohistokimyasal boyamaları yapıldı. Elde edilen bulgular incelenerek fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında doksorubisin grubunda bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin bir artış varken, doksorubisin grubuna göre doksorubisin+benfotiamin grubunda ise belirgin olarak azalma izlendi. Doku malondialdehit (MDA) seviyeleri ise immünohistokimyasal bulgularla paralellik göstermekteydi.

Bu çalışma ile doksorubisinin böbrek dokusunda meydana getirdiği apoptotik değişikliklere karşı benfotiaminin anti-apoptotik özellik gösterdiği ve antioksidan etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, böbrek, apoptozis, benfotiamin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF BENFOTIAMIN ON THE ALTERATIONS WHICH REVEALED WITH APPLICATION OF DOXORUBICIN IN THE RAT KIDNEY TISSUES

Doxorubicin is an anthracycline and shown to have nephrotoxic effects in different studies conducted in animal models and also in humans it is thought to have similar effects. In this study, we aimed to investigate the apoptotic changes in the kidney tissue with doxorubicin treatment and the anti-apoptotic effects of benfotiamine.

In this study, 24 adult male Wistar Albino rats were used. Animals were divided into 4 groups as 6 animals in each group. During the 14-day experiment period, no application was executed to Group I. A single dose of doxorubicin in dose of 10 mg/kg (i.p) was administered to Group II; Group III received oral benfotiamine 70 mg / kg / day in addition to doxorubicin and to Group IV only 70 mg / kg / day benfotiamine was given orally.

At the end of the experiment the rats were decapitated and kidney tissues were removed. Routine light microscopy follow-up were performed and tissues were embedded in paraffin blocks. Bax and caspas-3 immunohistochemical stainings were performed to tissue sections from the blocks. The findings examined and photographed.

Light microscope examination of immunohistochemical stained specimens revealed marked increase of bax and caspase-3 immunoreactivity in doxorubicin group in comparison with control group and significant decrease was observed in doxorubicin + benfotiamine group. Tissue MDA levels were in accordance with the immunohistochemical findings.

This study showed that doxorubicin induced apoptosis in kidney tissue and benfotiamine had anti-apoptotic and antioxidant effects against the effects of doxorubicin.

Keywords: Doxorubicin, kidney, apoptosis, benfotiamine.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTAMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Böbrek Anatomisi	2
1.1.1.1. Böbreğin Yerleşimi, Şekil ve Büyüklüğü	2
1.1.1.2. Böbreği Dıştan Saran Yapılar	3
1.1.1.3. Böbreklerin İç Yapısı	3
1.1.1.4. Böbreklerin Damarları ve Sinirleri	4
1.1.2. Böbrek Embriyolojisi	5
1.1.2.1. Pronefroz	6
1.1.2.2. Mezonefroz	6
1.1.2.3. Metanefroz	7
1.1.3. Böbrek Histolojisi	8
1.1.3.1. Nefron	8
1.1.3.2. Böbrek Cisimcikleri ve Kanın Süzülmesi	9
1.1.3.3. Proksimal Kıvrıntılı Tübül	10
1.1.3.4. Henle kulpu	10
1.1.3.5. Distal Kıvrıntılı Tübül	11
1.1.3.6. Toplayıcı Tübül ve Kanallar	11
1.1.4. Böbreklerin İç Yapısı	12
1.1.5. Böbrek Fizyolojisi	12
1.1.5.1. Böbreğin Fonksiyonları	13
1.1.5.1.1. Kan Basıncının Düzenlenmesi	14

1.1.5.1.2. İdrar Oluşması	15
1.1.6. Doksorubisin	16
1.1.6.1. Doksorubisin'in kimyasal yapısı	16
1.1.6.2. Doksorubisin'in farmakokinetiği	17
1.1.6.3. Doksorubisin'in etki mekanizması	17
1.1.6.3.1. Yüksek afinite ile DNA'ya bağlanma	17
1.1.6.3.2. Membranlara bağlanarak membran akışkanlığını ve iyon transportunu değiştirme	18
1.1.6.3.3. Oksijen radikali ve semikinon serbest radikali oluşturma	18
1.1.7. Apoptozis	21
1.1.7.1. Apoptozisin regülasyonu	21
1.1.7.2. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler	23
1.1.7.3. Kaspaz-3 Yöntemi	23
1.1.8. Benfotiamin	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Deney Hayvanları	28
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	29
2.3. Örneklerin Alınması	29
2.4. İmmünohistokimyasal İnceleme	29
2.5. MDA düzeyinin saptanması	31
2.6. İstatistiksel analiz	31
3. BULGULAR	32
3.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi	312
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	32
3.2.1. Bax İmmünreaktivitesi	32
3.2.2. Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi	35
4. TARTIŞMA	39
5. KAYNAKLAR	44
6. ÖZGEÇMİŞ	54

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Apoptozisin yer aldığı patofizyolojik durumlar	23
Tablo 2. Apoptozisin saptanmasında kullanılan yöntemler	23
Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri	28
Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	30
Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi	31
Tablo 6. MDA düzeyleri	32

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Böbrek kan akımı	5
Şekil 2.	Doksorubisinin kimyasal yapısı	16
Şekil 3.	Daunorubisinin kimyasal yapısı	17
Şekil 4.	Benfotiaminin kimyasal yapısı	24
Şekil 5.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda + 1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.	33
Şekil 6.	Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.	33
Şekil 7.	Doksorubisin verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.	34
Şekil 8.	Doksorubisin + benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.	34
Şekil 9.	Bax negatif kontrol.	35
Şekil 10.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi	36
Şekil 11.	Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi	36
Şekil 12.	Doksorubisin verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi.	37
Şekil 13.	Doksorubisin + benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi.	37
Şekil 14.	Kaspaz-3 negatif kontrol.	38

KISALTMALAR LİSTESİ

ADH	: Antidiüretik hormon
AGE	: İlerlemiş glikasyon son ürünleri
AIDS	: Acquired Immune Deficiency Syndrome
ATP	: Adenozintrifosfat
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GFR	: Glomerüler filtrasyon oranı
GSH	: Glutasyon
GSH PX	: Glutasyon peroksidaz
İ.P	: İntraperitoneal
İ.V	: İntravenöz
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid adenzin dinükleotid fosfat
NF-KB	: Nükleer faktör kappa-B proteinleri
NO	: Nitrik oksit
PKC	: Protein kinaz C
RNA	: Ribonükleikasit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon molekülü 1

1. GİRİŞ

Böbrekler, karın boşluğunun arka üst tarafında retroperitoneal olarak yerleşmiş, sağ ve sol olmak üzere omurganın iki yanında bulunan fasulyeye benzeyen koyu kahverengi ve gevrek yapıda olan organlardır (1). Böbreğin temel fonksiyonu, inen aortadan dallanan böbrek arterlerinden gelen kanı süzmektir (2). Kapillerlerden süzerek meydana getirdikleri idrar ile, kandan zararlı metabolizma ürünlerini uzaklaştırır, idrarın yoğunluk ve yapısını değiştirmek suretiyle de organizmanın su ve elektrolit metabolizmasını, asit-alkali dengesini ayarlarlar (3). Çalışmada kullanılan doksorubisin kanser tedavisinde kullanılan etkili ve yan etkileri fazla olan bir kemoterapotik ajandır (4). Çalışmalarda ortaya çıkan bulgular doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde; antioksidan enzimlerde azalmanın, serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunda artmanın rol oynuyor olabileceğini desteklemektedir. Doksurubisin böbrekte tübüllerde atrofi ve glomerüler kapiller permeabilitede artış meydana getirmektedir (5).

Doksorubisin toksisitesinde oksidan hasarın önemli rolü vardır. Doksorubisin gibi ajanların etkisiyle oksijen radikalleri daha fazla üretilerek hücrelerin membranlarında, organellerinde ve hatta genetik materyalinde oksidan hasara yol açmaktadırlar. Bu hasarın en iyi göstergeleri, protein oksidasyonunun ve lipid peroksidasyonunun gösterilmesidir. Antioksidan enzimlerden katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) oksijen radikallerini ortamdan uzaklaştırmada ve bu hasarı engellemeye çalışan önemli olan endojen kaynaklardır. Normalde oksidan sistem ile antioksidan sistem arasında bir denge vardır. Doksorubisin bu dengenin oksidan maddeler lehine bozulmasına yol açar. Oksidan sistemin farklı kaynakları vardır. Bunlardan biri nitrik oksittir (NO). NO hem kendisi radikal üretici hemde serbest radikalleri süpürücü olabilir. NO süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek bir radikal olan peroksinitrite dönüşür. Peroksinitrit hem ortamdan süperoksit anyonunu uzaklaştırmış olur hem de hasar yapıcı bir radikal olmuş olur. Bir diğeri MDA'dır ve lipid peroksidasyonunun göstergesidir. Diğer bir radikal kaynağı da miyeloperoksidaz sistemi ve nötrofillerdir. Miyeloperoksidazın inflamatuvar cevaplarda üretimi artar ve hipoklorit radikalini üreterek hücre hasarına yol açabilir (6).

Bazı çalışmalar benfotiaminin reaktif oksijen ürünleri üzerinde baskılayıcı özellikte olduğunu göstermiştir (7, 8).

İndirgenmiş olan glutatyon (GSH) hücre içerisindeki oksidan ajanların etkisini azaltmaktadır ve hücre içinde etkin görev alan proteinleri oksidasyon reaksiyonuna karşı koruyarak antioksidan özellik göstermektedir. Bunun sonucunda GSH molekülü oksitlenir. GSH molekülünün fonksiyonunu yerine getirebilmesi için yeniden redükte edilmesi gerekir. Bu amaçla nikotinamid adenozin dinükleotid fosfat (NADPH) kullanılmaktadır. NADPH üretiminde pentoz fosfat yolu önemlidir. Bu yolda tiamin etkili görev aldığı için antioksidan olarak kabul edilmektedir (9, 10).

Benfotiamin yağda çözülebilen bir tiamin formudur ve S-Benzoylthiamine-0-monofosfat olarak tanınan eşsiz açık tiyaoil-halkalı bir yapıya sahiptir ki bu yapı onun doğrudan barsak duvarını geçebilmesini ve kolaylıkla hücre membranına ve hücre içine geçmesini sağlar. Bu yapı nedeniyle benfotiamin, S-acyl tiamin grubunun türevi olarak da tanımlanmıştır (11, 12).

Başka bir tanıma göre B1 vitamininin yağda eriyen formuna benfotiamin denir. Normal suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denilir (13).

Bu çalışmada Doksorubisin uygulanmasının sıçan böbrek dokusunda meydana getirdiği değişiklikler üzerine benfotiamin'in koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma ile elde edilecek bulguların, benfotiaminin hasar üzerindeki etkinliğini ortaya koyarak, klinik çalışmalara ışık tutabileceği düşüncesindeyiz.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler, filtrasyon, rezorpsiyon ve ekskresyon fonksiyonları ile günde kendilerine gelen 1700 L kandan 2-2,5 litre idrar oluşturdıklarından 'idrar üreten organ' anlamında 'organa üropoetica' olarak adlandırılır (14).

1.1.1.1. Böbreğin Yerleşimi, Şekil ve Büyüklüğü

Karın boşluğunun arka üst tarafında, periton gerisinde (retroperitoneal) yerleşmiş olan böbrekler, sağ ve sol olmak üzere iki tanedir. 130-150 gr ağırlığında, fasulyeye benzeyen koyu kahverenginde ve gevrek yapıda (karaciğerden daha sertçe) bir organdır (1) . Ortalama ağırlığı erkeklerde 150 gram, kadınlarda 135 gramdır. Sağ böbreğin üst ucu, T12 vertebra seviyesinde, sol böbreğin üst ucu ise T11 vertebra

seviyesindedir. Alt uçları L3 vertebra seviyesinde olup crista iliaca'dan yaklaşık 2,5 cm yukarıdadır. Karaciğer nedeni ile sağ böbrek, soldakinden 2 cm daha aşağıdadır (15). Sağ böbreğin ön yüzü; suprarenal bez, karaciğerin sağ lobu, kolon ascendens, fleksura coli dekstra, duodenumun ikinci parçası (pars descendens) ve jejunum kıvrımları ile komşudur. Sol böbreğin ön yüzü; suprarenal bez, dalak, mide, pankreas gövdesi, splenik damarlar, flexura coli sinistra, kolon descendensin başlangıcı ve jejunum kıvrımları ile komşuluk yapar. Böbreklerin üst-iç yüzleri glandula suprarenalisle komşudur (15). Arka yüz hafif konvektir, diyafragma, m. psoas major, m. quadratus lumborum, m. transversus abdominis, v.a.n. subcostalis, n. iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis'le komşudur (15, 16).

1.1.1.2. Böbreği Dıştan Saran Yapılar

Her bir böbrek, üç katmanlı bir destek ve örtü dokusu ile sarılmıştır. Bu oluşumlar derinden yüzeye doğru fibröz kapsül, adipoz kapsül ve renal fasyadır (1, 14,16).

Fibröz kapsül: Böbreği dıştan sarar (1). Sağlam, genişleme kabiliyeti az, bağ dokusundan yapılmış ve sadece böbreğe ait bir fibröz doku katmanıdır (14, 16).

Her bir ön arka yüzlerini hilum da dahil olmak üzere tamamen örter. Fakat böbrek dokusuna tamamen yapışmadığından kolayca altındaki dokudan sıyrılabilir (1).

Adipoz kapsül: Fibröz kapsülün dış tarafında bulunan yağ tabakasıdır (1). Böbreği darbelere karşı korur (14). Yağ dokusu hilus renalisten içeri girerek sinus renalis'de bulunan oluşumların arasındaki boşlukları doldurur (16).

Renal fasya: Adipoz kapsülün dış tarafındadır (1). Karın duvarındaki ekstra peritoneal yağ dokusunun yoğunlaşması ile oluştuğu kabul edilir (14). Renal fasya ve adipoz kapsül, böbreği adrenal bezle beraber sarmıştır (1).

1.1.1.3. Böbreklerin İç Yapısı

Bir böbreğin frontal (koronal) kesiti yapılırsa iki kısımdan meydana geldiği görülür: 1-Medulla renalis, 2-Korteks renalis (1).

Medulla renalis (Böbrek medullası): En içte bulunan sinus renalis ile dıştaki korteks renalis arasında yer alır. Kırmızımtırak renkte ve çizgilidir. Tepeleri sinusa tabanları ise kortekse uzanan 8-18 kadar koni görülür. Bunlara renal piramitler

denir. Bu piramitlerin tepeleri (papilla renalis) sinusta yer alan küçük kalikslere (calices minores) girer. Renal papillaların içinde porus denilen bir takım delikler bulunur (1). Renal piramitler, nefronun distal borucukları ile toplayıcı borularını içerir. Piramidal borucukların içlerinde bulunan filtre edilmiş materyaldeki suyun geri emilimini (reabsorbsiyon) sağlayarak idrarı konsantre ederler. Toplayıcı borular daha büyük olan duktus papillaris (bellini kanalı)'lere, duktus papillaris'ler de piramitleri tepesindeki foramen papillaris'ler aracılığı ile küçük kalikslere açılırlar (14).

Korteks renalis (böbrek korteksi): Renal piramitlerin tabanı ile böbrek kapsülü arasındaki dış kısımdır. Sarımtırak kırmızı renktedir. Korteks piramitlerin etrafını sararak böbrek sinusuna doğru uzanır (1). Korteks renalis menşeyini nefrojen dokudan alır ve idrar yapan oluşumları ihtiva eder (16). Çok sayıda düz ve kıvrımlı borucuklar, kan damarları ve gözle görülebilen sferik yapılar (corpusculum renale)'dan oluşur. Korteksin böbrek kapsülüne yakın olan dış kısmına zona eksterna, malpighi piramitlerine yakın olan iç kısmına zona interna denir. Malpighi piramitleri arasında da daha koyu renkli kortikal bir doku bulunur. Piramitleri birbirinden ayıran bu kolonlar bertin kolonları (columnae renales) olarak adlandırılır (14).

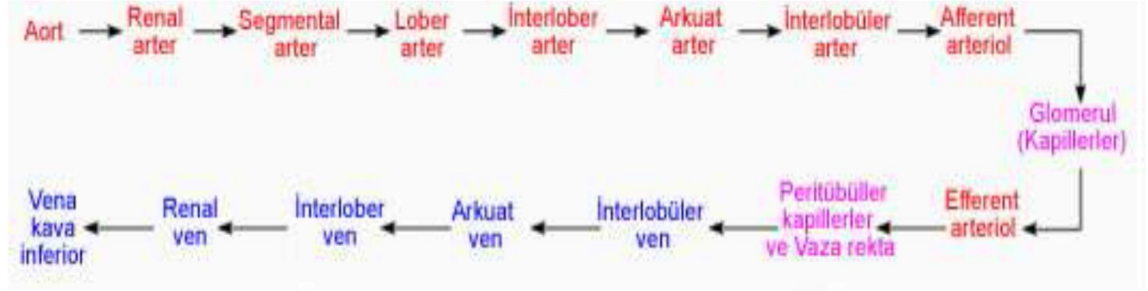
Böbrek lobulusu: Piramitlerin tabanlarından korteks içine doğru bir takım uzantılar olur. Bunlara stria medullaris adı verilir. İki stria medullaris arasında kalan korteks bölümüne bir böbrek lobulusu denir. Her böbrek lobulusu ortasında interlobuler arter ve ven bulunur (1). Bir renal piramid ve etrafını saran kortikal cevhere topluca lobus renalis denir ve sayıları 8 ila 18 arasındadır (1, 14).

Nefron: Böbreğin en küçük fonksiyonel ünitesidir. Üç kısımdan meydana gelir: Glomerül, Bowman kapsülü ve böbrek tübülleri (1).

1.1.1.4. Böbreklerin Damarları ve Sinirleri

Kalp atımının % 20-25'ini kullanan böbrekler dakikada 1,2 litre, günde ise yaklaşık 1700 litre kan alır. Kanımız günde 340 kez böbreklerden geçerek zararlı atık maddelerden arındırılır. Bu işlem esnasında 1700 litre kanın onda biri kadar (yaklaşık 170 litre) glomeruler filtrat, glomeruler filtratın yaklaşık %1'i kadar (1,7-2 litre) idrar oluşur (14). Böbrekler, L1 - L2 vertebralar arası discus seviyesinde, aorta abdominalisten ayrılan a.renalisler tarafından beslenir (15). Aorta

abdominalisten başlayan böbrek arterleri, birçok dallanmadan sonra vas afferens olarak glomerül içine girerler buradan vas efferens olarak çıkan damarlar, renal vende toplanarak sonunda v.cava inferior'a açılırlar (1). Bu dallanma şöyle özetlenebilir.



Şekil 1. Böbrek kan akımı

Böbreklerin lenf damarlarının pek çoğu kan damarları ile beraber hilus renalise doğru ilerleyerek sonunda nodi lymphatici lumbalese dökülürler. Böbreğin yüzeysel lenf damarları ile fibröz kapsüle ait olan lenf damarları adipöz kapsüle ait olan lenf damarları ile birleşerek komşu lenf nodlarına dökülürler. Plexus renalisten çıkan sinir dalları arteria renalisini takip ederek böbreğin renal parankiminin içine sokulur ve nefronların hücrelerine kadar giderler (16). Parasempatikleri n.vagustan, sempatikleri n. splanchnicus minor ve n.splanchnicus minimus aracılığıyla Th10 - Th12 ve L1 segmentlerinden gelir (1).

1.1.2. Böbrek Embriyolojisi

Ürogenital sistem, dorsal aortanın her iki tarafındaki ürogenital kabartı denilen longitudinal bir mezoderm (intermediyer mezoderm) kabartısından gelişir. Ürogenital kabartının üriner sistemi oluşturacak olan bölümüne nefrojenik kabartı adı verilir (15). Gebeliğin 4. haftasında, embriyonun enine kıvrıldığı dönemde, ara mezoderm genital kabartının hemen lateralinde yer alan segmental olarak düzenlenmiş nefrotomları oluşturmak üzere ardışık somitlerden ayrılır (17, 18).

Nefrojenik kordon (nefrojenik kabartı) 'un servikal ve yukarı torasik bölgeleri nefrotom olarak bilinen segmental hücre topluluklarını oluşturur (18, 19). Yani bu yörede ara mezoderm segmentlidir. Nefrojenik kordonun, aşağı torasik, lumbal ve sakral yöreleri ise segmentsizdir. Sırasıyla segmentli yörede pronefroz, segmentsiz

yörelere ise mezonefroz ve metanefroz gelişir (18). İnsanlarda intrauterin yaşam boyunca kranialden kaudale doğru, birbirinden farklı üç böbrek sistemi peş peşe ve kısmen de üst üste binecek şekilde oluşur (20).

- Pronefroz
- Mezonefroz
- Metanefroz

Bu sistemlerden birincisi rudimenter ve işlevsizdir; ikinci sistem intrauterin yaşamın erken döneminde kısa süre fonksiyon görebilir; üçüncü sistemden ise kalıcı böbrekler meydana gelir (20).

1.1.2.1. Pronefroz

Pronefroz geçicidir ve işlev görmez (18). İnsan embriyosunda dördüncü haftanın başında, pronefroz servikal bölgedeki 7-10 adet solid hücre topluluğu tarafından temsil edilir (20). Pronefrik duktus, kaudal olarak uzanır ve kloaka'ya açılır. Rudimenter olan pronefroza ait yapılar, kısa bir süre içinde dejenerasyona uğrarlar ancak, pronefrik duktuslardan çoğunluğu, belirli bir süre kalır ve bir sonraki böbrek sisteminde bunlardan yararlanılır (19).

1.1.2.2. Mezonefroz

İkinci olarak gelişen bu sistem, pronefroza göre daha iyi gelişmiştir. Kalıcı böbrekler gelişene kadar embriyoda geçici olarak görev yapar (15, 18). Dördüncü haftanın başlarında, yani pronefrik sistemin regresyonu sırasında, mezonefroza ait ilk boşaltım tübüleri belirmeye başlar. Bu tübüller boyca hızla uzarlar, S şeklinde bir halka halini alırlar ve medial uzantılarının ucunda bir glomerulus elde ederler. Burada tübüller Bowman kapsülünü oluştururlar. Kapsül ve glomerül birlikte renal korpüskülü meydana getirirler. Tübülüs lateralinden, mezonefrik veya wolffian kanal olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanala girer (20). İkinci ayın ortasında, mezonefroz orta çizginin iki yanında büyük oval organlar olarak dikkati çekerler (18). Bu sırada, gelişmekte olan gonada mezonefrozun medialinde yer aldığından, bu iki organ tarafından oluşturulan doku kabarıklığına ürogenital sırt adı verilir.

Kaudaldeki tübüller farklılaşmaya devam ederken kranial tübüller ve glomerüllerin çoğunluğu dejenere olarak ikinci ayın sonunda tümüyle yok olur.

Erkeklerde kaudal tübüllerin bir kısmı ve mezonefrik kanal genital sistemin oluşumunda yer almak üzere sebat ederken kızlarda tümüyle kaybolur (20).

1.1.2.3. Metanefroz

Kalıcı böbrekler beşinci haftanın başında gelişimine başlarlar ve yaklaşık dört hafta sonra fonksiyonel hale gelirler (15, 19). Kalıcı böbrekler mezoderm kaynaklı iki farklı kökene sahiptirler (17, 19).

- Metanefrik divertikül (üreterik tomurcuk)
- İntermediyer mezodermin metanefrik kitlesi (metanefrojenik blastem)

Metanefrik divertikül mezonefrik duktusun kloakaya giriş yerine yakın, dışa doğru yapmış olduğu bir divertiküldür. Metanefrik mezoderm ise nefrojenik kordonun kaudal kısmından köken almaktadır (19). Metanefrik divertikül (üreter tomurcuğu); mezonefrik kanaldan dışa doğru bir büyüme ile oluşur. Üreterler, pelvis renalisler, kaliksler ve renal toplayıcı sistem gelişir. Metanefrik mezoderm (metanefrojenik blastem)'den böbreğin yapısındaki nefronlar gelişir (15).

Toplayıcı sistemin gelişmesi: Üreter tomurcuğu metanefrik doku içine penetre olur. Penetresyonun ardından üreter tomurcuğu genişleyerek primitif renal pelvisi oluşturur ve gelecekteki major kaliksleri oluşturmak üzere kranial ve kaudal parçalara ayrılır. Kalikslerin her biri metanefrik dokuya penetre olurken iki yeni tomurcuk oluşturur. Bu tomurcuklarda 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmeye devam ederler. Bu sırada 5. ayın sonuna kadar periferde de bir miktar tübül daha oluşur. İkinci jenerasyondaki tübülller genişleyerek, üç ve dördüncü jenerasyona ait tübüleri absorbe ederek renal pelvisin minör kalikslerini oluştururlar. Gelişimin daha sonraki evrelerinde, 5. ve takip eden jenerasyonun toplayıcı tübüleri hatırı sayılır şekilde uzarlar ve minör kalikslerin tepesinde birikerek renal piramitleri meydana getirirler (20).

Nefronun gelişmesi: metanefrik blastem dokusu içinde dallanarak yayılan yeni oluşmuş toplama borularının distal son kısımları metanefrik bir doku şapkası ile örtülüdür. Bu metanefrik doku şapkası içindeki hücreler tübüllerin indükleyici etkisi ile renal vezikül olarak bilinen küçük kesecikleri oluştururlar; daha sonra bunlardan da S biçimli küçük tübüller meydana gelecektir. S'nin bir ucundaki cebin içine doğru büyüyen kapiller damarlar glomerüle farklanırlar. Bu tübüller glomerülleriyle birlikte nefronu veya boşaltım birimini oluştururlar. Her nefronun proksimal ucu, glomerül

tarafından derin şekilde yaylandırılmış bowman kapsülünü oluştururlar. Tübülün distal ucu ise bowman kapsülünden toplayıcı kanallara geçişi sağlayacak şekilde toplayıcı kanallardan biriyle ilişki kurar.

Boşaltıcı tübüllerin uzamaya devam etmesi ile proksimal kıvrıntılı tübüller, henle kulpu ve distal kıvrıntılı tübüller meydana gelir (18, 20).

Kalıcı böbrekler, 9. haftadan başlayarak, fetal hayat boyunca idrarı aktif olarak oluştururlar. Glomerül filtrasyonu 9. haftada başlar. Ancak filtrasyon hızı doğumdan sonra artar. İdrar amniyon boşluğuna salınır ve amniyon sıvısı ile karışır. Bu idrarla karışık amniyon sıvısından ergin fötüs hergün birkaç litre yutar. Sıvı, fötüs barsaklarından emilir, artık ürünler fötüsün kan dolaşımına oradan da temizlenmek için plasenta membranı aracılığı ile anne karnına taşınır. Doğumdan sonra, interstisyel dokunun artmasının yanı sıra, özellikle kıvrıntılı proksimal tübülslerin ve henle kulpunun uzaması sonucu böbrek hacmi artar. Bugün prematüre böbrekler dışında nefron oluşumunun doğumda sona erdiği bilinmektedir. Böbreklerin işlevsel olgunlaşması doğumdan sonra olmaktadır (20).

1.1.3. Böbrek Histolojisi

Her bir böbreğin iç bükey yapılı iç kenarında sinirlerin girdiği, kan ve lenf damarlarının girip çıktığı ve üreterin çıktığı yer olan hilusu ile dış bükey dış kenarı vardır. Üreterin genişlemiş üst kısmı olan böbrek pelvisi, iki ya da üç büyük major kalikse bölünmüştür. Her major kaliksten birkaç küçük minör kaliks dallanır. Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılabilir. İnsanda böbrek medullası 10–18 adet konik ya da piramidal şekilli yapılar olan medüller piramitlerden oluşur. Her bir medüller piramidin tabanında kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri olan, medüller ışınlar çıkar. Her böbrek 1-4 milyon nefron içerir. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, henle kangalının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden ve toplayıcı tübül ve kanallardan oluşmaktadır. Nefron böbreğin işlevsel birimidir (2).

1.1.3.1. Nefron

Böbrek parankiminin fonksiyon ve yapı birimi nefronudur. Nefron geçtiği bölgeye göre düz veya kıvrıntılı seyreden uzun bir borucuktur. Tek katlı epitelden yapılı olan ve beş bölümde incelenen bu tüpçükler glomerül denen kılcal damar

yumağını saran yuvarlak şekilli bir genişlemeyle kör olarak başlar. Bowman kapsülü denen bu çift yapraklı zar glomerülü çevreleyerek birlikte nefronun birinci parçası böbrek cisimciğini (malpighi) yapar. Böbrek cisimcikleri 150-250 µm çapta düzensiz küre şeklinde yapılardır. Nefronun ikinci parçası proksimal tüpçük (tubulus proksimalis) adını alır; kıvrıntılı (pars kontorta) ve düz (pars rekta) bölgeleri vardır.

Nefronun üçüncü bölgesi ince (ara) parçasıdır. Nefronun distal tüpçük (tubulis distalis) olarak adlandırılan dördüncü parçasının da kıvrıntılı, makula densa ve düz bölümleri vardır. Proksimal tüpçüğün düz inen parçası, ince parça ve distal tüpçüğün düz çıkan parçası birlikte Henle kulpu olarak adlandırılır. Beşinci ve son kısım olan bağlayıcı tüpçük toplama borucukları ile bağlantıyı sağlar. Böbrek cisimciği ile proksimal ve distal tüpçüklerin kıvrıntılı kısımları sadece kortekste bulunur. Henle kulpu ise medullada ve medulla uzantılarında bulunur (3, 21).

1.1.3.2. Böbrek Cisimcikleri ve Kanın Süzülmesi

Her böbrek cisimciğinin çapı yaklaşık 200 µm'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelden bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (viseral tabaka) glomerülün kapillerini dış taraftan sarar. Dış tabaka böbrek cisimciğinin dış taraftaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır. Her böbrek cisimciğinde getirici (afferent) arteriyollerin girdiği ve götürücü (efferent) arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu bulunur. Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitelyum, proksimal tübül için tipik olan tek katlı prizmatik yada tek katlı kübik epitele değişir. Embriyonik gelişim sırasında viseral tabaka büyük ölçüde değişime uğrar. Visseral tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bu hücreler ayaklı hücreler (podosit) adını alır. Her bir primer uzantı ayakçık (pedisel) denen glomerülün kapillerlerini saran çok sayıda ikincil uzantı oluşturur (2).

Pencereli glomerül endoteli, ortak bazal lamina ve podositlerin ayakçıkları hep birlikte böbrek cisimciğinin süzücü duvarını oluştururlar; su ve iyonların

geçmesine izin verirken hücrelerin ve büyük protein moleküllerinin geçişini engellerler (21).

1.1.3.3. Proksimal Kıvrıntılı Tübül

Böbrek cisimciğinin idrar kutbunda, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal tübüllerin kübik yada alçak prizmatik epiteli ile devam eder. Bu kısım distal kıvrımlı tübüllerden daha uzundur ve bu yüzden korteks içindeki böbrek cisimciklerinin yanında daha sık görülür. Proksimal kıvrımlı tübüllerin hücreleri çok sayıdaki uzamış mitokondriyumları nedeniyle asidofilik sitoplazmaya sahiptir. Hücrenin tepesinde fırçası kenarı oluşturan yaklaşık 1 mm uzunluğunda, çok sayıda mikrovillus bulunur. Hücrelerin büyük olması nedeniyle her enine kesitte üç ile beş adet küre biçiminde çekirdek bulunur (2).

Üriner sistemin plazma ultrafiltratı, aktif ve pasif mekanizmalarla, süzölmüş su, glukoz, Na^+ , K^+ , Cl^- , ve diğer katıların %70 kadarının geri emildiği proksimal kıvrıntılı tübüllere aktarılır. Proksimal kıvrıntılı tübüller iyonların, Mg^{+2} a bağımlı Na^+ , K^+ aktive olmuş pompa ile aktif taşıması için adenozintrifosfat (ATP) sağlayan hücre zarı kıvrımları arasında yerleşik olan uzun mitokondriyonlar içerir. Bunun yanı sıra endositoz ve küçük proteinlerin aminoasitlere yıkımı için gerekli olan apikal tübüloveziküller ve lizozomlar ihtiva ederler. Üre ve glukozun hücre zarını geçme hareketi bir transpot proteini (taşıyıcı protein) ile gerçekleştirilir. Geri emilen materyal peritübüler kapiller ağına girer (22). Proksimal kıvrıntılı tübül suya çok geçirgen olduğundan, su osmoz ile sıkı bağlantılar arasında (paraselüler yol) yan hücreler arası boşluğa geçer. Hücreler arası bölümdaki hidrostatik basınçtaki bir artış sıvı ve katıları kapiller ağ içine doğru hareket etmeye zorlar (22).

1.1.3.4. Henle kulpu

Henle kulpu, proksimal kıvrıntılı tübüllere yapıca çok benzeyen bir kalın inen kol, bir ince inen kol, bir ince çıkan kol ve bir kalın çıkan koldan oluşan U şeklinde bir yapıdır (2). Proksimal tüpün inen düz kısmından sonra gelen bölümüdür.

Böbreğin medulla kısmında bulunur. Proksimal tüpün tek katlı kübik epiteli birden henle kulpunun tek katlı yassı epiteline değişir (21).

Henle kulpu süzölmüş suyun % 15 kadarını ve NaCl, K⁺, Ca⁺² ve HCO₃⁻ 'ın % 25 kadarını geri emer. Çıkan kol suya geçirgen olmadığından süzölen suyun geri emilimi, çoğunlukla inen kolda, tübüler ve interstisyel sıvı arasındaki osmotik gradyanla gerçekleştirilir (22).

1.1.3.5. Distal Kıvrıntılı Tübul

Henle kangalının çıkan kalın kolu kortekse girer; belli bir yolu katettikten sonra bükölmlenir ve distal kıvrımlı tübüleri oluşturur. Bu tübul çıkan kol gibi tek katlı kübik epitelle döşelidir (2). Distal kıvrımlı tübüller proksimal kıvrımlı tübüllerden fırçamsı kenarlarının ve apikal kanallarının olmaması ve hücrelerin daha küçük olması ile ayrılır. Distal kıvrımlı tübuldeki hücreler iyon geçişinde işlev gösteren daha incelikli bazal membran girintilerine ve bunlara eşlik eden mitokondriumlara sahiptir. Distal kıvrımlı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait böbrek cisimciğinin damar kutbu ile temas halindedir. Bu yakın temas noktasında distal tübul aferent arteriyol gibi farklılaşır. Distal kıvrımlı tübul hücreleri bu jukstaglomerüler bölgede genellikle prizmatik hale dönüşür ve çekirdekleri de bir araya toplanır. Çoğu hücrelerin bazal bölümünde Golgi kompleksi bulunur.

Mikroskobik örneklerde çekirdeklerin yakın yerleşimi yüzünden daha koyu renkli görönen bu distal tübul segmenti maköla densa olarak adlandırılır. Maköla densa hücreleri tübul içi sıvıdaki klorür iyon içeriğine ve su hacmine duyarlıdır, dolaşıma renin salgısını başlatan moleköler sinyaller üretirler.

Distal kıvrımlı tübüllerde aldosteron yoğunluğu yeterince yüksek olduğunda iyon değişimi gerçekleşir; sodyum emilir, potasyum iyonları dışarı verilir. Bu düzenek vücudun toplam su ve tuz içeriğini etkiler. Distal tübul aynı zamanda tübuldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını salar. Bu etkinlik kandaki asit baz dengesinin korunmasında çok önemlidir (2).

1.1.3.6. Toplayıcı Tübul ve Kanallar

Distal kıvrıntılı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük, düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar meduller piramitlerin ucuna yaklaştıkça genişler. Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapları ortalama 40 mm'dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru

indikçe hücrelerin boyu prizmatik olana kadar uzar. Piramitlerin ucuna yakın bölümlerinde toplayıcı kanalın çapı 200 µm'ye ulaşır. Toplayıcı tübüller ve kanallar kat ettikleri bütün mesafe boyunca alışılmış boyalarla zayıf boyanan hücrelerden oluşmuşlardır. Sitoplazmaları az sayıda organel içerir ve elektron geçirgendir. Kortekste bulunan toplayıcı kanallar, her medüller ışını boşaltan birkaç küçük toplayıcı tübül aracılığı ile dik açılarla birbirine bağlanır. Medullada idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar oynar. Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofiz tarafından salgılanan arginin vazopresin yada antidiüretik hormona (ADH) tepki verir. Eğer su alımı sınırlı ise, ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli glomerül süzüntüsünden emilip kan kapillerlerine aktarılan ve böylece vücutta tutulmuş olan suya geçirgen hale gelir. ADH varlığında, lümen zarında yer alan zar içi tanecikler su emilimi için kanallar oluşturabilecek şekilde toplanırlar (2).

1.1.4. Böbreklerin İç Yapısı

Her böbrek, içte medullaya (öz) ve dışta kortekse (kabuk) sahiptir. Korteks, iç ve dış bölgelere ayrılır. Medulla, medulla piramitleri olarak adlandırılan ve tabanları korteks medulla sınırında yerleşik olan koni biçiminde kütlelere ayrılır. Bir medulla piramiti onu kaplayan korteks bölgesi ile birlikte bir böbrek lobunu oluşturur. Bir böbrek lobunun sınırlarını metanefrik blastemdeki pirimitif lobların kaynaşma bölgelerinden arta kalan yapılar olan böbrek sütunları (bertin sütunları), oluşturur. Her böbrek lobunun tepesi bir minor kaliksle çevrelenen bir papillada sonlanır. Her minor kaliks bir papilladan gelen idrarı toplar. Minor kaliksler, major kaliksleri, ardından pelvisi oluşturmak için birleşirler (22).

1.1.5. Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerin en önemli fonksiyonlarından biri dışarıdan alınan veya vücutta metabolizma sonucu oluşan atıklardan vücudu kurtarmaktır. Oldukça kritik olan ikinci görev, vücut sıvılarının hacim ve bileşimini kontrol etmektir. Su ve bütün elektrolitlerin vücuda giren (sindirilmeye veya metabolik yapıya bağlı) ve vücutta açığa çıkan (atılana veya metabolik tüketime bağlı) miktarları arasındaki denge, önemli ölçüde böbrekler tarafından sağlanır. Böbreklerin bu düzenleyici görevi

hücrelerin, değişik aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için gerekli çevrenin sabit tutulmasını sağlar.

Böbrekler, en önemli görevlerini plazmayı filtre ederek ve filtrattan vücudun ihtiyacına göre maddeleri değişik hızda uzaklaştırarak yaparlar. Son olarak, böbrekler gerekli maddeleri kana geri döndürürken istenmeyen maddeleri idrarla atarak filtrattan dolayısı ile kandan uzaklaştırırlar. Böbrekler ayrıca su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, vücut sıvılarının osmolalitesinin ve elektrolit yoğunluğunun düzenlenmesi, asit baz dengesinin düzenlenmesi, yabancı maddelerin ve metabolik atıkların atılması, arteriyel kan basıncının düzenlenmesi, hormonların salgılanması, metabolize edilmesi, atılması ve glukoneogenez gibi önemli görevleri de yerine getirmektedir (23).

1.1.5.1. Böbreğin Fonksiyonları

Böbreğin başlıca fonksiyonları şunlardır;

- Vücut sıvılarının içeriğinin korunması: Böbrekler, vücuttaki sıvı volümünü, ozmolaritesini, elektrolit içeriğini ve konsantrasyonunu, asiditesini düzenler. Bu düzenlemeyi, idrarla atılan su ve iyon miktarını değiştirerek sağlarlar. İdrarla atılan miktarları değiştirmek yoluyla konsantrasyonları korunan elektrolitler arasında sodyum, potasyum, klorür, kalsiyum, magnezyum ve fosfor sayılabilir.
- Metabolik son ürünlerin ve yabancı maddelerin vücuttan uzaklaştırılması: Başta üre olmak üzere sayısız metabolizma ürünü ile çeşitli toksin ve ilaçlar ekskrete edilir.
- Enzimlerin ve çeşitli hormonların sentez ve sekresyonu:

a) Renin anjiyotensinojenden anjiyotensin oluşumunu katalize eden, jukstaglomerüler aparatın granüler hücreleri tarafından salgılanan bir enzimdir.

Anjiyotensin potent bir vazokonstriktör enzim olup, tuz dengesi ve kan basıncı düzenlenmesinde önemli katkılarda bulunur.

b) Renal kortikal interstisyel hücreler tarafından oluşan eritropoetin, kemik iliğindeki eritrosit olgunlaşmasını uyarır.

c) Vitamin D₃'ün en aktif formu olan 1,25- Dihidroksivitamin D₃, proksimal tüp epitelyum hücrelerince oluşturulur. Bu steroid hormon vücuttaki kalsiyum ve fosfor dengesinin sağlanmasında önemli rol oynar.

- İnsülini parçalar (pankreatista yapılan insülinin yaklaşık % 20'si renal tübüler hücrelerde parçalanır).
- Prostaglandinleri yapar. Prostaglandinler, vücutta pek çok dokuda bulunur. Renal medulla PGA_2 ve PGE_2 yapar, bunlar vazodilatatör etkiye sahiptir (24, 25).

1.1.5.1.1. Kan Basıncının Düzenlenmesi

Böbreklerde bulunan bu sistem kan basıncını, kan hacmini ve glomerül kapillerleri içindeki basıncı düzenler ve dolaylı olarak glomerül filtrasyon hızının düzenlenmesi yönünde çalışan bir sistemdir. Jukstaglomerüler aparat nefronların glomerül yumağına yakın bir yerinde yerleşmiştir (25, 26). Jukstaglomerüler aparat; jukstaglomerüler hücreler, distal tüpün makula densası ve ekstraplomerüler mezengial hücreler tarafından oluşturulur (21). Nefronlarda distal tüpün küçük bir bölümü afferent ve efferent arteriyolün arasındaki bir bölgeden geçer ve arteriyollerle komşu halde bulunur. Distal tüpün afferent arteriyole değdiği bölgede, hem arteriyol hücreleri hemde tübül hücreleri değişime uğramıştır (25). Bu bölgedeki tübül hücrelerine makula densa, afferent arteriyolün orta tabakasındaki değişmiş düz kas hücrelerine ise jukstaglomerüler hücreler denilmektedir (2).

Jukstaglomerül hücreler renin denilen proteolitik bir enzim salgılar. Makula densa hücreleri ise distal tübül içinden geçen sıvının Na^+ ve Cl^- iyon konsantrasyonuna duyarlıdır. Böbrek arterinin daralması veya arteriyel kan basıncının düşmesi sonucu GFR'nin azalması distal tübülden geçen sıvıda Na^+ ve Cl^- azalmasına neden olur. Bu durum makula densa hücrelerini uyarır. Makula densa hücreleri de jukstaglomerül hücrelerinden renin salgılanmasına neden olur. Renin kanda bulunan ve bir polipeptid olan Angiotensinojene etki ederek Anjiotensin I oluşturur. Anjiotensin I de böbreklerde ve akciğerlerde bulunan konverting enzim aracılığı ile Anjiotensin II'ye çevrilir. Anjiotensin II kuvvetli vazokonstriktör etkiye sahip bir maddedir. Efferent arteriyolü kasarak glomerül kapillerlerindeki basıncı yükseltir. Anjiotensin II aynı zamanda sistemik dolaşımdaki arteriyolleri de kasarak kan basıncını yükseltir. Anjiotensin II bu etkilerine ek olarak adrenal korteksten aldosteron salgısını uyarak su ve tuz tutulmasını artırır, hipotalamusa etki ederek ADH salgısını ve susama hissini uyarır. Bütün bunların sonucunda kan basıncı yükseltirilip ekstrasellüler sıvı hacmi artırılmış olur (25, 26).

1.1.5.1.2. İdrar Oluşması

Nefronlarda idrar oluşmasında üç aşama vardır;

- Filtrasyon
- Geri Emilme (reabsorbsiyon)
- Salgilama (ekskresyon = sekresyon)

Filtrasyon = İdrar oluşumunun ilk basamağıdır. Afferent arteriyol ile glomerül kapiller yumağa ulaşan kanın proteinleri ve hücreleri dışındaki tüm elemanları Bowman kapsülü içine süzülür. Süzüntünün içeriği proteinler dışında hemen hemen plazmanın yapısı ile eşdeğerdir. Glomerül kapillerlerindeki filtrasyon hızı, birim zamanda süzülen plazma miktarı olarak tanımlanır. Birimi ml / dk'dır ve glomerüler filtrasyon oranı GFR şeklinde gösterilir. GFR'nin normal değeri 125 ml / dk'dır. Buradan anlaşılan normalde böbreklerin 1 dakikada 125 ml plazmayı filtre ettikleridir. Süzüntünün % 99'u tübülüsleri geçerken geri emilerek tekrar kana verilmektedir. Filtrasyon işleminin olabilmesi için kandan süzülecek maddelerin glomerüler kapiller membran adı verilen üç tabakadan geçmesi gerekir. Bu üç tabakayı şöyle sıralayabiliriz. (1) kapiller endoteli, (2) bazal membran (3) kapiller bazal membranın dış yüzeyini çevreleyen epitelyal hücre (podosit) tabakası (23, 26, 27).

Reabsorbsiyon = Filtrat içindeki su ve suda erimiş maddeler basit difüzyon ve aktif taşınma gibi bilinen taşınma yöntemleri ile önce tübülüs epitel hücrelerine buradan da kana geri emilirler. Maddelerin geri emilmeleri organizmanın gereksinmesi doğrultusunda düzenlenmektedir. Geri emilimin % 90'ı proksimal tübülüs bölgesinde yapılmaktadır. Bu bölgede geri emilen maddeler, yarattıkları ozmotik güç ile bir miktar suyun da geri emilimini sağlarlar. Tübülüslerde geri emilemeyen madde miktarının artması suyun geri emilimini azaltarak diürece neden olur. Diüretik ilaçlar, bazı maddelerin geri emilimini engelleyerek, mannitol ise tübülüslerden reabsorbe olamadığı için diürece neden olmaktadır.

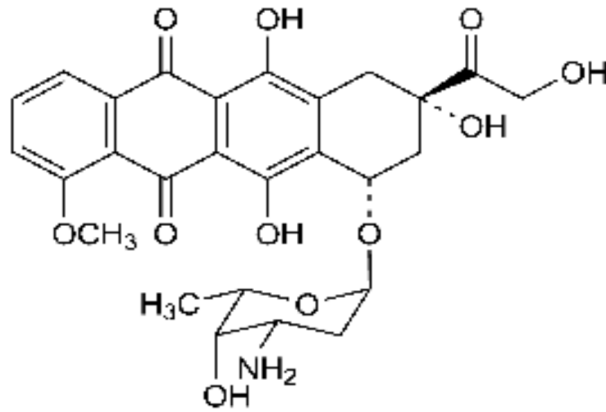
Bazı hormonlar tübülüslerden geri emilecek maddeler üzerine etkilidirler. Bunlardan aldosteron distal tübülüs bölgesine etki ederek Na^+ iyonunun geri emilimini artırırken K^+ iyonunun idrar ile atılmasını hızlandırır. ADH ise toplayıcı kanalların suya olan geçirgenliğini kontrol etmektedir. ADH varlığında toplayıcı kanallarda suyun geri emilimi artar ve konsantre idrar çıkarılır. ADH yokluğunda

idrara ile çıkarılan su miktarının artması ile idrara dilüe olur. Tübülüslerden aktif taşınma ile geri emilen maddeler için bir eşik değeri söz konusudur. Bu duruma en iyi örnek glukoz taşınmasıdır. Kan glukoz konsantrasyonu normal olduğu zaman glomerüllerden filtre olan glukozun hepsi proksimal tübülüs bölgesinde aktif taşınma ile geri emilir ve idrara hiç glukoz çıkmaz. Kan glukoz konsantrasyonu normalden yüksek olduğu zaman aktif taşımada görev alan taşıyıcı moleküllerin doygunluğa erişmesi sonucu glukozun fazlası geri emilemez ve glukoz idrara çıkar. Geri emilemeyip tübülüs sıvısı içinde kalan glukoz fazlası, ozmotik güç yaratarak suyu da beraberinde sürükler. Diyabetli hastalarda poliüri görülmesinin nedeni de budur. Sekresyon = İdrar oluşması sırasında bazı maddeler doğrudan tübülüs epitelyum hücreleri tarafından tübülüsler içine salgılanmaktadır (23, 26).

1.16. Doksorubisin

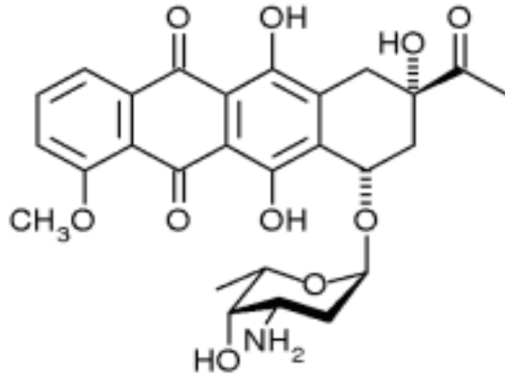
1.1.6.1. Doksorubisin'in kimyasal yapısı

Doksorubisin, kromoforik bir trisiklik halka ile ona bağlı ve birbirinin aynı olan iki pentapeptid halkasından ibaret olan antrasiklin yapısında geniş spektrumlu ve güçlü etkili bir antibiyotiktir (28).



Şekil 2. Doksorubisinin kimyasal yapısı

Doksorubisin toprak mantarlarından '*streptomyces pneucetus*'den elde edilen Daunorubisin adlı antrasiklin türevidir bir antibiyotiğin hidroksi türevidir (28).



Şekil 3. Daunorubisinin kimyasal yapısı

1.1.6.2. Doksorubisin'in farmakokinetiği

Doksorubisin mide barsak kanalından iyi absorbe edilemez, bu nedenle intravenöz (i.v) yolla verilir (28). Doksorubisin beyin dışındaki dokular tarafından hızla alınır (29). Dokulara fazla bağlanıp oradan yavaş salıverildiğinden, karaciğerde hızlı metabolize edilmesine rağmen vücutta kalış süresi ve etkisi uzun sürer; büyük kısmı safra içinde itrah edilir. Karaciğer metastazı veya primer tümörü ya da diğer bir nedenle, karaciğer fonksiyonu bozulmuşsa eliminasyonu yavaşlar ve doz azaltılmazsa vücutta birikir. Hidroliz sonucu vücutta kısmen serbest kalan aglikon kısmı etkinlik göstermez (28). Doksorubisin; alkol türevi, aglikon halka ve diğer türevleri gibi çeşitli daha az aktif veya inaktif ürünlerine dönüşerek elimine olur (30). Eliminasyon yarı ömrü 73 saattir (28).

1.1.6.3. Doksorubisin'in etki mekanizması

Antrasiklinlerin tümör ve organlar üzerine sitotoksik ve sitostatik etkileri başlıca 3 mekanizma ile açıklanmıştır (31, 32).

1- Yüksek afinite ile DNA'ya bağlanma

2-Membranlara bağlanarak membran akışkanlığını ve iyon transportunu değiştirme

3- Oksijen radikali ve semikinon serbest radikali oluşturma (sitokrom P450 aracılığıyla indirgenme reaksiyonuna katılarak)

1.1.6.3.1. Yüksek afinite ile DNA'ya bağlanma

Antrasiklinler DNA ile etkileşerek ribonükleik asit (RNA) sentezi dahil DNA'nın birçok fonksiyonunu bozarlar. Tek ve çift zincir kırılmaları oluşur.

Bu nedenle antrasiklinler mutajenik ve teratojenik etki gösterirler (30). Doksorubisin, kanser kemoterapisinde kullanılan ilk antrasiklin antibiyotiktir. Doksorubisinin sitostatik ve sitotoksik etki mekanizmaları arasında topoizomerez II inhibisyonu, doksorubisin demir kompleksinin DNA ile bağlanması ve DNA baz çiftlerinin ilaç ile etkileşmesi gibi radikale bağlı olmayan mekanizmalar ve serbest radikal üretimi ile DNA hasarı yer almaktadır. Ayrıca antrasiklinlerin apoptotik hücre ölümünü indükledikleri de gösterilmiştir (31, 32).

Doksorubisin, DNA çift zincirini, zincir içinde komşu guanozin-sitozin baz çiftleri arasına enine yerleşmek suretiyle etkiler. DNA çift zinciri içindeki bitişik iki baz çiftinin arasına girerek onlara reversibl şekilde bağlanırlar. Fakat reversibl bağlanma, zamanla irreversibl bağlanmaya dönüşebilir. Aynı DNA çift zincirinde birçok noktada olan bu yerleşme ve bağlanma komşu baz çiftlerinin birbirinden uzaklaşmasına, zincirin uzamasına ve sarmallığın azalmasına yol açar. Sonuçta DNA'nın replikasyonu (DNA sentezi) ve transkripsiyonu (mRNA sentezi) inhibe edilir (33).

1.1.6.3.2. Membranlara bağlanarak membran akışkanlığını ve iyon transportunu değiştirme

Antrasiklinler hücre membranı ile etkileşerek lipid peroksidlerinin oluşumuna ve membran fonksiyonlarının değişimine neden olur ki bu durum hem antitümör etkisinde ve hemde kardiyak toksisitede önemli rol oynar (30). Doksorubisinin neden olduğu lipid peroksidasyonu, membranın iyon geçirgenliğinde artışa, membran potansiyelinde ve akışkanlığında azalmaya ve sonuç olarak hücre ölümüne neden olur (34).

1.1.6.3.3. Oksijen radikali ve semikinon serbest radikali oluşturma (sitokrom P450 aracılığıyla indirgenme reaksiyonuna katılarak)

Antrasiklinler sitokrom P 450 redüktaz enzimi ile reaksiyona girerek semikinon radikalini ve semikinon radikali ise oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit anyonunu oluşturur. Süperoksit anyonu, hem hidrojen peroksit hem de hidroksil radikali oluşumunda görev alır. Bu radikaller DNA bazlarını okside ederek DNA hasarına yol açar. Serbest radikallerin oluşumu büyük ölçüde doksorubisin demir kompleksi aracılığıyla gerçekleşir (30). Doksorubisin, Fe^{+3} 'e yüksek afinite

gösterir ve in vivo sistemlerde Fe^{+3} ile şelat oluşturur. Doksorubisin- Fe^{+3} kompleksi hidroksil radikali oluşumunu katalizler. Doksorubisin- Fe^{+3} kompleksi, DNA ile bağlanarak üçlü (ternary) kompleksini oluşturur ve bu üçlü kompleksin, doksorubisin- Fe^{+3} kompleksinden daha etkin olduğu gösterilmiştir (35). Doksorubisin döneme özgü olmayan bir ilaçtır; fakat daunorubisin gibi, bu ilacın da S (DNA sentezi veya replikasyon dönemi) dönemindeki hücrelerde etkinliği en fazladır (28). Geniş spektrumlu ve etkin bir antineoplastik olmasına karşın oldukça toksiktir. Tek ilaç veya kombinasyon şeklinde kullanılır. En sık hematolojik malignitelerde, sarkom, lenfoma, prostat karsinomu, tiroid, akciğer ve meme karsinomlarında kullanılır (36).

Kemoterapötik ilaçların kullanımı sırasında en büyük endişe toksisiteleridir. Kullanılan ilaçların toksisite durumlarının bilinmesi ve izlenmesi gerekmektedir (37). Doksorubisin 60-75 mg/m² dozunda i.v. infüzyonla 3 haftada bir uygulanır. Toplam kümülatif dozu 550 mg/m² yi geçmemelidir. Özellikle diğer risk faktörleri varsa (önceden radyoterapi uygulanmış olması, 50 yaşı üzerinde olma, önceden var olan kalp hastalığı gibi) bu sınır daha da düşürülür. Kümülatif doz 450 mg/m² nin üzerine çıktığında hastaların % 10'unda konjestif kalp yetmezliği belirtilerinin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Doksorubisin vezikan bir ilaçtır. Ekstravazasyonu doku nekrozuna neden olur. Teratojenik, mutajenik ve karsinojeniktir. Doksorubisin idrarı geçici olarak kırmızıya boyar ve bunun klinik bir önemi yoktur (28).

Antimetabolitler, antrasiklinler ve alkilleyici ilaçlar en sık nefrotoksisiteye neden olan ilaçların başında gelir (38, 39). Bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organ böbreklerdir. İlaçların metabolitleride böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerüllerde, tübüllerde, damarlarda semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir (37). Antineoplastik ilaçlar başlıca; glomerülü oluşturan endotelial hücreler, podositler, mezenkimal hücreler ve glomerül bazal membranına hasar verir. Endotelial hücreler ve podositler siyaloglikoproteinden zengindir ve glomerül bazal membranının yüksek negatif yükünden sorumludur. Bu hücrelerin hasarı sonucunda glomerül bazal membranın negatif elektrik yükü bozulur. Ayrıca bazı kemoterapi ilaçları glomerüler podositlerin yerinden ayrılmasına neden olur. Podositlerin ayrılması ile glomerül bazal membran

bariyerinin boyutu değişir. Glomerüler bazal membranın negatif elektrik yükünün ve bariyer boyutunun değişmesi sonucunda glomerüler bazal membran geçirgenliği değişir. Buna bağlı olarak idrarda protein atılımı artar ve GFR düşmeye başlar. Doksorubisin proksimal tübül hücrelerinde birikerek akut tübüler nekroza neden olabilmektedir. Ayrıca böbrekte glomerüler kapiller permeabilitede artış ve tübüler atrofi meydana getirmektedir (38, 40). Doksorubisinin akut yan etkileri bulantı, kusma, lökosit sayısında azalma ve sa  dökülmesidir. Ayrıca kalp, böbrek, karaciğer, kemik iliği, beyin ve testis dokularına toksik etkisi mevcuttur (41- 44).

Kalp, böbrek ve karaciğerde lipit peroksidasyonuna neden olur (43). Doksorubisinin, direkt olarak ya da oluşturdugu serbest radikaller aracılığı ile indirekt olarak, DNA sarmallarını ve çeşitli enzimlerin transkripsiyonel veya translasyonel aşamalarda gen ekspresyonunu değiştirdiği ve böylece antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere yol açtığı kabul edilmektedir. Bazı çalışmalarda patogeneze sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve NO'dur. Serbest radikallerin indüklediği MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin de olaya katkısı olduğu CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve SOD gibi antioksidan enzimleri azaltarak kardiyotoksisiteye ve nefrotoksisiteye neden olduğu da gösterilmiştir (45, 46).

Normal şartlarda, aerobik metabolizmanın ürettiği ROS sürekli olarak inhibe edilir. Bu içi, organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri gerçekleştirdiğinden patolojik bir durum gözlenmez. Serbest radikallerin oluşum hızı ile savunma sistemlerinin gücü arasındaki denge bozulmadığı sürece organizma oluşan radikallerden etkilenmez. Bu denge, antioksidan sistemlerin aleyhine bozulduğu zaman, potansiyel bir hasar meydana gelir ve buna "oksidatif stres" adı verilir. Oksidatif hasar, DNA, lipit, protein ve karbonhidrat gibi tüm biyolojik moleküllerde ortaya çıkabilir. Bu radikal saldırısından, başta lipitler olmak üzere tüm biyolojik yapılar zarar görebilir. Doksorubisin serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik nedenlerinden biridir. Oksidan ve antioksidan sistemlerindeki bu karmaşa doku hasarı ile sonuçlanır ki, bu da dokuda protein oksidasyonu ve lipit peroksidasyonu ile görülür. Lipit peroksidasyonu ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür ama antioksidan reaksiyonlar ile sonlandırılabilir. Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde serbest radikal ve

antioksidan enzimlerin rol aldığına ait bulguların belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (47).

1.1.7. Apoptozis

Apoptozis, fizyolojik veya programlanmış hücre ölümü şeklinde adlandırılan ve birçok genle ilgili olan ve Yunancada sonbaharda yaprak dökümü anlamına gelen bir biyoloji ve tıp terimidir (48).

Hücre ölümü genellikle nekroz ve apoptozis olarak iki ana başlık altında sınıflandırılır. Nekroz; her zaman patolojiktir ve pasif, katabolik bir süreçtir. Histolojik bulguları mitokondri ve çekirdeğin şişmesi, organellerin şeklinin bozulması, nükleus etrafında kromatin yoğunlaşması şeklinde devam ederek, DNA'nın çekirdek ve sitoplazma membranında bozulmayla giden bir süreçtir (49, 50).

Apoptozis ise nekrozun aksine, çok hücreli canlılarda fizyolojik gelişen, enerji gerektiren ve gelişimin normal bir parçası olan aktif bir süreçtir (49, 51, 52). Apoptozis farklı hücre ve dokularda oluşabilecek biyokimyasal ve morfolojik seyri ile kompleks bir olaydır (53, 54). Bununla ilgili biyokimyasal yollarda, nöronal yaşam ve ölüm arasındaki dengenin düzenlenmesinde protein faktörlerinin önemli rol oynadıkları gözlenmiştir (55).

Programlı hücre ölümünün mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber hücrelerin genetik olarak hafızalarında olan bu programın oksidatif stres, patofizyolojik olaylar gibi çeşitli uyarılarla aktif hale gelmeye çalıştığı düşünülmektedir (56).

1.1.7.1. Apoptozisin regülasyonu

İnsanlarda apoptozisin regülasyonu, p 53 geni ile başlayan ve kaspazlara kadar uzanan bir olaylar zinciridir. p 53 bir tümör süpresör gen olarak görev yapar ve organizmada bulunmadığında veya mutasyona uğradığında hücre yaşamı uzamaktadır. Kemoterapi ve radyoterapi gibi genotoksik olaylar sonucu oluşan hücre hasarı p 53'ü aktive eder. p 53 protein ürünü, DNA'ya direkt olarak bağlanır ve hasarı tanıdıktan sonra, hücre siklusunun G1 de durmasını sağlayarak onarım için gerekli zamanı kazanır. Eğer hasar fazlaysa hücreyi apoptozise yönlendirir. Buna ek

olarak p 53'ün Bax/Bax, Bax/Bcl-2 ve Bcl-1-2/Bcl-2 gruplarının oranlarının düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmektedir (57).

Apoptozis gelişiminde üç temel grup görev almaktadır, bunlar: ölüm reseptörleri, adaptör proteinler ve proteolitik enzimlerdir (kaspazlar) (58, 59). Genel olarak apoptozisi hücre membranındaki ölüm reseptörlerinin aktivasyonu başlatır. Bu reseptörler Fas, TRAIL ve TNF reseptörlerini içerir (60).

Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu kaspaz-8 ve kaspaz-10 gibi başlatıcı kaspazları aktive eder bu başlatıcı kaspazlar kaspaz-3 gibi efektör kaspazları aktive eder, bunlar da hücre için hayati olan proteinleri ayrıştırır ve hücre ölümüne yol açarlar. Hasarlı mitokondrilerden açığa çıkan sitokrom-c ve diğer bazı proteinler kaspaz-3'ü daha da aktive ederler (61). Hücrelerin apoptozisten korunması için mitokondrial membranın bütünlüğünün korunması şarttır. Bcl-2 ailesi mitokondri membran bütünlüğünü büyük ölçüde kontrol eder (62).

Bcl-2/Bax gen ailesinin ürünleri, homodimer ya da heterodimerler olarak kompleks yaparak işlerini görürler ve çekirdek zarlarında, endoplazmik retikulum zarında ve mitokondriumda bulunurlar (57, 58). Örneğin Bcl-2 ile Bax etkileşiminde Bax fazla miktarda olursa hücre ölümü olur, fakat Bcl-2'nin fazla miktarda olması halinde hücre yaşamaya devam eder (63).

Pasif hücre ölümü, spesifik antijenlerin tanınması, interlökin-2 gibi büyüme faktörleri ve kositimülasyonların devreye girmesi ile önlenabilir. Bu uyarılar Bcl ailesinin anti-apoptotik proteinlerinin ekspresyonunu indükler. Bcl ailesi kompleks bir ailedir ve anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-xl ve Bcl-w) ve pro-apoptotik (Bax, Bid ve Bim) üyeleri bilinmektedir. Bax, Bid, Bad ve Bim gibi hücre ölümünü tetikleyen üyelerin aktive edilmesi sonucu apoptozis başlatılır, Bcl-2 ve Bcl-x'in ise pro-apoptotik proteinlerin serbestlenmesini bloke ederek apoptozisi inhibe ettiği çalışmalarda gösterilmiştir (64, 65).

Son yıllarda, apoptoziste genetik ve biyokimyasal faktörlerin rol aldığı düşünülmektedir. Bunların ortaya çıkarılmasıyla apoptozisin aktivasyonu veya inhibisyonuna yönelik çalışmalar yapılarak; AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome), kanser ve otoimmün hastalıklar gibi birçok hastalıkta yeni tedavi yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır (66).

Tablo 1. Apoptozisin Yer Aldığı Patofizyolojik Durumlar

Malın ve Pre-Malın Durumlar Solid Tümörler B Hücre Lenfomaları, Kronik Lenfositik Lösemi, Prostat Hipertrofisi, Preneoplastik Karaciğer Odakları, Kemoterapiye Direnç.	İmmun Sistem Bozuklukları AIDS, Tip 1 Diyabetes Mellitus, Lupus Eritematozus, Sjogren Sendromu, Glomerülonefritis.
Nörolojik Bozukluklar Felç, Alzheimer Hastalığı, Ataxia Telangiectasia.	İntestinal Bozukluklar Dizanteri, İnflamatuar Bağırsak Hastalıkları, Radyasyon ve HIV Enfeksiyonu ile Oluşan Diare.
Kalp Hastalıkları İskemik Kardiak Hasar, Kemoterapiyle İndüklenen Miyokardial Baskılanma.	Böbrek Hastalıkları Polikistik Böbrek Hastalığı, Anemi / Eritropoezis.

1.1.7.2. Apoptozisin Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

Apoptozisin saptanmasında kullanılan yöntemler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Apoptozisin saptanmasında kullanılan yöntemler (67)

Morfolojik Yöntemler
İmmünohistokimyasal Yöntemler
İmmünolojik Yöntemler
Moleküler Biyolojik Yöntemler

1.1.7.3. Kaspaz-3 Yöntemi

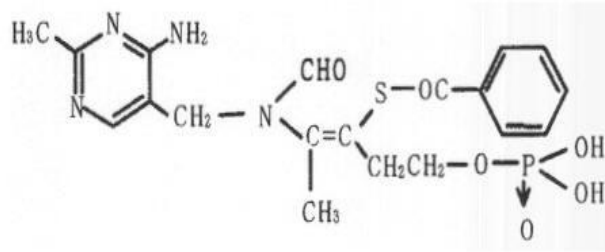
Kaspaz-3 yöntemi ile sadece apoptotik hücrelerde oluşan aktif kaspaz-3 IIIC metoduyla belirlenebilir. Bunun için, dokunun kaspaz-3 eksprese ettiğinin bilinmesi ya da çalışılan dokuda apoptozise yol açan ajanın kaspaz-3’ü kırıp kırmadığının bilinmesi gerekir. Ancak, bu bilirse apoptotik hücreler bu metodla tespit edilebilirler (68).

1.1.8. Benfotiamin

Benfotiamin tiaminin (vitamin B1’in) yağda çözünen formudur. Benfotiamin 1960’larda Japonya’da alkolik nöritin tedavisinde kullanılmak için geliştirilmiştir. Bu vitamin B 1’in metabolik olarak mümkün olabilen en etkili prekürsörüdür (69.)

Görünüm	: Beyaz
KimyasalAdı	:S-[(Z)-2-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methylformylamino]-5- phosphonooxypent-2-en-3-yl] benzenecarbothioate.
Moleküler ağırlığı	: 466,45 g/mol
Cas No	: 22457-89-2
Ticari adları	: S-Benzoylthiamine O-monophosphate (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO. A.B.D.) (70).

White crystals or crystalline powder.
FORMULA: C₁₉H₂₃N₄O₆PS MOLECULAR FORMULA: 466.45



MELTING POINT: about 200°C(with decomposition)

Şekil 4. Benfotiaminin kimyasal yapısı

Tiamin hububatta, bakliyatda, kuru fasulyede, soyada, fındıkta, ekmekte, yağsız ette ve balıkta bulunan suda çözünebilen bir vitamindir. Tiamin, hücresel enerji metabolizmasında karbonhidratların enerjiye dönüştürülmesinde yardımcı olarak önemli bir rol oynar. Tiamin; kasların, kalbin ve sinirlerin normal durumda çalışması için gereklidir ve farklı metabolik bozuklukların tedavisi için faydalıdır (71, 72).

Benfotiamin S-Benzoylthiamine-O-mono fosfat olarak tanınan eşsiz açık tiyaol halkalı bir yapıya sahiptir ve yağda çözülebilen bir tiamin türevidir ve bu yapısı onun doğrudan barsak duvarını geçebilmesini ve kolaylıkla hücre membranına ve hücre içine geçmesini sağlar. Benfotiamin bu yapısı nedeniyle S-acyl tiamin grubunun türevi olarak da tanımlanmıştır (11, 12).

Farklı bir tanıma göre benfotiamin, B1 vitamininin yağda eriyen türüdür. Normal suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen

B1 vitaminine ise benfotiamin denilir (13). Benfotiamin yapısı gereği gerçek tiamine göre çok daha yüksek bir biyoelverişliliğe sahiptir ve bu özelliğiyle benfotiaminin, suda çözülebilen tiamine göre vücutta daha kolay emildiği ve oral uygulamada eşdeğer bir tiamin dozuna göre en az beş kat daha yüksek tiamin plazma konsantrasyonuna ulaşabilme etkinliğine sahip olduğu bildirilmiştir (69, 73, 74, 75).

Bundan dolayı diğer yağda çözülebilen ya da allitiamin ailesindeki lipid tiamin türevlerine göre daha iyi olduğu ve lipitte çözülebilen türevleri içerisinde en güçlüsü olduğu belirtilmiştir (69).

Bazı çalışmalar benfotiaminin ROS üzerinde baskılayıcı özellikte olduğunu göstermiştir (7, 8). Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin (Advanced Glycation Endproduct, AGE) artışını engellediği görülmüştür (10). Redükte olmuş GSH; hücre içerisinde oksidan ajanların etkisini azaltarak hücrenin etkili proteinlerini oksidasyona karşı korur ve antioksidan özellik gösterir. Bu esnada GSH oksitlenir. Bu GSH'ın görevini yerine getirebilmesi için tekrar redükte olması gerekmektedir. Bu amaçla NADPH'lar kullanılır. NADPH için pentoz fosfat yolu önemlidir ve tiamin de bu yola etki ettiği için bir antioksidan olarak kabul edilebilir (9, 10). Benfotiamin tarafından endotel hücrelerinde ve perisitlerde yüksek glukoz maruziyetinden dolayı meydana gelen apoptozisin iki göstergesi olan kaspaz 3 aktivitesi ve deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonu artışı engellenebilir (76). Proteinler yüksek glukoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glukoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur. Glukoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra AGE meydana gelir (71, 77, 78)

Çalışmalar, AGE'lerin reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu artırdığını göstermektedir (79).

Yapılan çalışmalarda serbest radikaller ve AGE'nin, protein kinaz C (PKC)'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, hücre dışı matriks

bileşenlerini, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürülmektedir (80, 81). Benfotiamin transketolazı aktifleştirerek, pentoz fosfat yolunu çalıştırır, PKC hareketini azaltır ve ROS üreten NADPH oksidaz enzimini inaktifleştirir ve böylece oksidatif stresi hem azaltarak hemde önleyerek antioksidan gibi davranır (82, 83).

Yüksek glukoz konsantrasyonu, poliol yolu ile sorbitol üretimine neden olur. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığı için hücre içi NADPH tüketilir. Okside GSH'ın redükte forma dönüştürülebilmesi ve NO sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle sorbitol yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (84). Benfotiamin, poliol metabolik yolunu regüle eden aldoz redüktaz hareketini engelleyerek NADPH tüketilmesini engeller (85). Benfotiamin enzimatik olmayan glikolizlenmeyle, glikolizlenemeyen son ürün formasyonu ile sonuçlanan üridin-difosfat-N-asetilglukozaminin artmasını engeller. Ayrıca AGE'leride azaltır (86, 87). Böbrekteki endotelial hücrelerde AGE oluşumlarını engeller (9, 71). AGE'lerin bazı toksik etkileri vardır, bunlar; proteinlerin yapı ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri ve sonuç olarak nükleer faktör kapa B (NF-KB) gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive etmeleri ve ilgili genlerin (prokoagülan doku faktörü endotelin-1, adhezyon molekülü, VCAM-1 gibi) ekspresyonlarının artışı bulunmaktadır (88, 89).

Benfotiamin NF-KB aktifleşmesinin engellenmesiyle diyabetik retinopati, nöropati, mikroanjyopati ve nefropati gibi diyabetik komplikasyonlarının tedavisinde kullanılır (7, 90, 91). Bunlara ek olarak benfotiaminin periferik nöropati mortalite ve morbiditesinde kullanılmasının hipergliseminin vasküler hücrelere olumsuz etkilerinin yok edilmesinde faydalı olduğu gösterilmiştir (76, 92, 93). Benfotiamin takviyesinin erken evre diyabetik nefropatiyi geri döndürebildiği veya önleyebildiği gösterilmiştir. Deneysel çalışmalar göstermiştir ki tiamin takviyesi sıçanlarda erken evre diyabetik nefropati gelişmesini önleyebilir ve klinik çalışmalarda mikroalbuminüri ve tip 2 diyabetli hastalarda idrarla albumin atılımını azalttığını göstermiştir. Tiamin monofosfat ön ilacı olan benfotiamin deneysel olarak erken evre

nefropatiyi önlediği gösterilmiştir fakat klinik olarak benzer etki sağlanamamıştır (93).

Benfotiaminin streptozotosin bağlı deneysel diyabet hastalığı olan kardiyomiyosit kontraktil disfonksiyonun engellenmesinde, iskemik diyabetik kol ve bacakların iyileşmesinin hızlandırılmasında, endotoksine bağlı üveitin, makro ve mikrovasküler endotelyal disfonksiyon gibi patolojik durumların gelişmesinin önlenmesinde, insan perisit apoptozisinin engellenmesinde, faredeki anjiyogenezis ve sonraki apoptosizin engellenmesinde, ilerlemiş titreşim persepsiyonda, motor fonksiyon ve alkolik polinöropatinin tüm nedenlerinin azaltılmasında, çok yönlü terapötik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (7, 12, 76, 94, 95).

Sonuç olarak araştırma konumuzla ilgili benfotiaminin koruyucu etkisine hiç bakılmamıştır. Tiaminin bir türevi olan ve daha etkin olduğu düşünölen benfotiamin bu alandaki etkisini araştırmak amacıyla kullanıldı.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ile beraber Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmanın yapılabilmesi için gerekli olan etik onay Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alındı.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edilen 8 haftalık Wistar Albino cinsi 24 adet erkek (250 - 350 g) sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Grupların kendi içinde homojen olmasına ve gruplardaki sıçan ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek gruplar oluşturuldu. Çalışmamızda kullanılacak sıçanlar 21° C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutuldu. Özel olarak yaptırılan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler çelik kaplarda, su cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Gruplarda bulunan bütün sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu. Tüm gruplara aynı standart sıçan yemi verildi. Add-libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapıldı. Sıçanlar Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler şeklindeki sıçan yemleriyle beslendi. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Deney hayvanlarının deneysel uygulama yapılincaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri

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

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Toplam 4 deney grubu kullanıldı ve çalışma 24 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Sıçanlar; kontrol (Grup-1), doksorubisin (Grup-2), doksorubisin+benfotiamin (Grup-3) ve benfotiamin (Grup-4) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (Grup-1) (n=6):

On dört günlük çalışma süresince herhangi bir işlem yapılmadı.

İkinci grup (Grup-2) (n=6):

Deneyin 1. günü doksorubisin hidroklorid ($C_{27}H_{29}NO_{11}HCl$) (Doxo Teva 50 mg flakon) 5 cc serum fizyolojikte çözdürüldü ve 10 mg/kg i.p tek doz uygulandı.

Doksorubisin + Benfotiamin grubu (Grup-3) (n=6):

Deneyin 1. günü doksorubisin hidroklorid ($C_{27}H_{29}NO_{11}HCl$) (Doxo Teva 50 mg flakon) 5 cc serum fizyolojikte çözdürüldü ve 10 mg/kg i.p. tek doz uygulandı. Daha sonra on dört gün boyunca günlük 70 mg/kg dozunda benfotiamin orogastrik gavaj yoluyla verildi.

Benfotiamin grubu (Grup-4) (n=6):

Deney boyunca on dört gün günlük 70 mg/kg dozunda benfotiamin orogastrik gavajla verildi.

2.3. Örneklerin Alınması

Bütün gruplardaki sıçanlar deney sonunda ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokuları histolojik çalışma için % 10'luk formol solüsyonunda tespit edildi. MDA için alınan dokular ise çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

2.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

Böbrek dokusunda bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. Boyama metodu aşağıdaki Tablo 4'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 4. İmmünohistokimyasal boyama işlemi

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal blok solüsyonu	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin ALP (Alkalen fosfataz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	Fast Red	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsu	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

Parafin bloklardan 5–6 mm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block solüsyonu ile muameleden sonra primer antikor (Bax mouse monoclonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, sc–7480, California, USA; caspaz 3 Rabbit polyclonal IgG, Abcam, ab2302, London, UK) ile 60 dakika inkübe edildi. Primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biyotinli anti-mouse / rabbit IgG, Diagnostic BioSystems, KP 50A, Pleasanton, USA), Streptavidin ALP (Alkalen fosfataz) ve Fast Red kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline (PBS) kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. PBS ve distile sudan geçirilen

dokular uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N 800 M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 5).

Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

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

2.5. MDA düzeyinin saptanması

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

Hazırlanan karışım 90°C de 120 dak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi.

Tüpler 5 dak. 5000 rpm'de santrifüj edildi ve oluşan süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alındı ve bütanole karşı 532 nm'de okundu (96).

2.6. İstatistiksel analiz

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

3. BULGULAR

3.1. MDA düzeyi

Dokso rubisin verilen grup, kontrol grubu ve benfotiamin verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak artmış bulundu (her biri için $p < 0.05$). Dokso rubisin + benfotiamin verilen grup sadece dokso rubisin verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu (her biri için $p < 0.05$). Tüm bu parametreler Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. MDA Düzeyleri

Grup	MDA (nmol/g)
Kontrol	73,10±5,85
Benfotiamin	67,20± 4,12
Dokso rubisin	94,97± 14,40 ^{a,b}
Benfotiamin+dokso rubisin	62,07± 10,54 ^c

Veriler ortalama ±standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

a) kontrole göre ($p < 0,05$)

b) benfotiamin grubuna göre ($p < 0,05$)

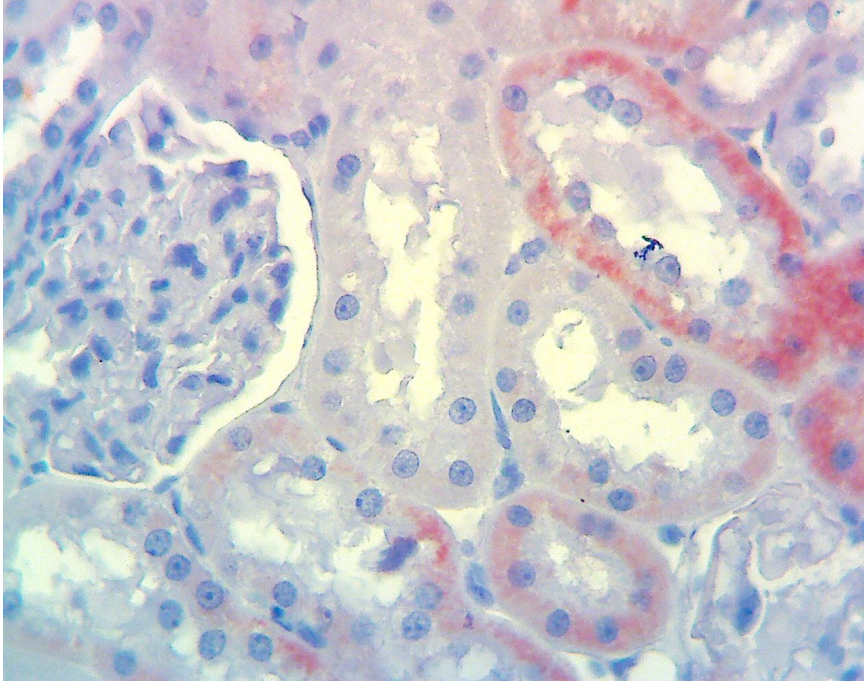
c) Dokso rubisin grubuna göre ($p < 0.05$)

3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

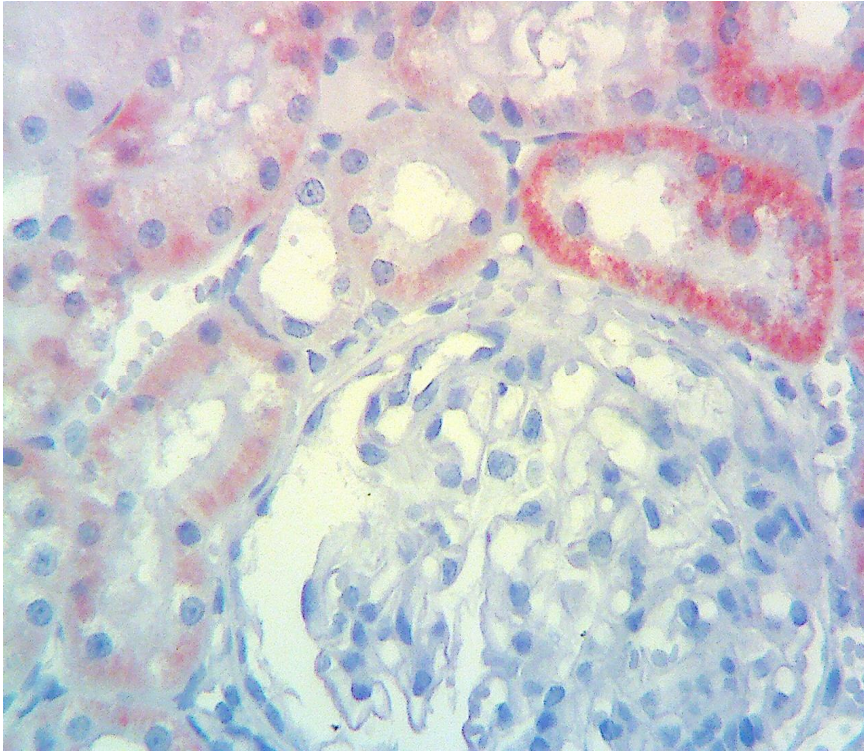
3.2.1. Bax İmmünreaktivitesi

Bax immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; bax immünreaktivitesi kontrol ve benfotiamin gruplarında +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 5, 6). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Dokso rubisin grubunda bax immünreaktivitesinde belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 7). Benfotiamin'in tedavi olarak verildiği dokso rubisin + benfotiamin grubunda ise dokso rubisin grubuna göre bax immünreaktivitesinin belirgin azaldığı, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve

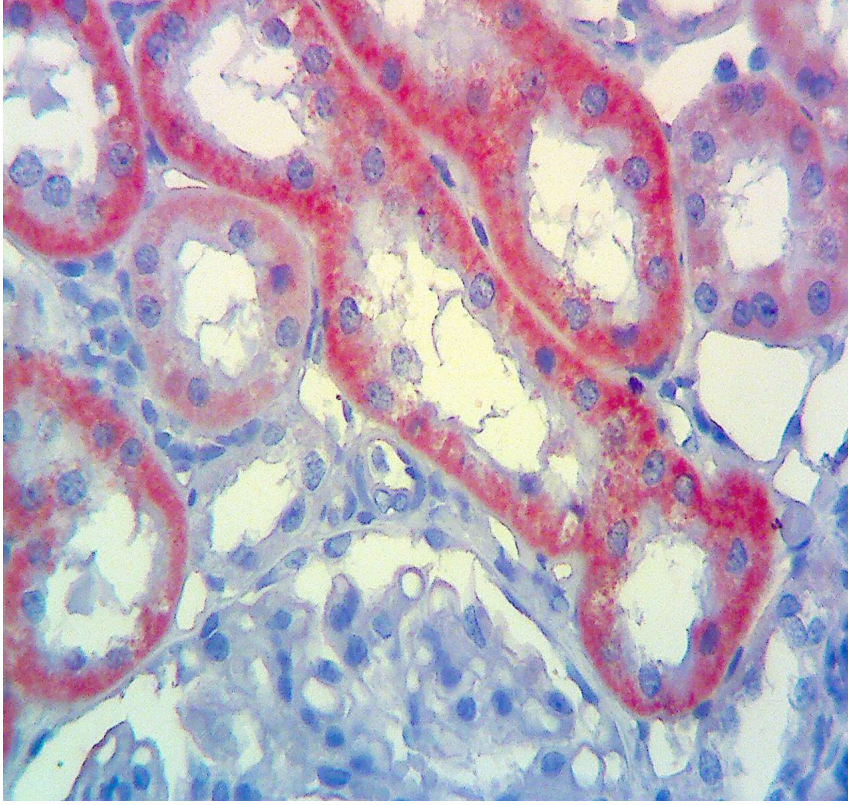
+2 olarak değerlendirildi (Şekil 8). Negatif kontrolde herhangi bir boyanma saptanmadı (Şekil 9).



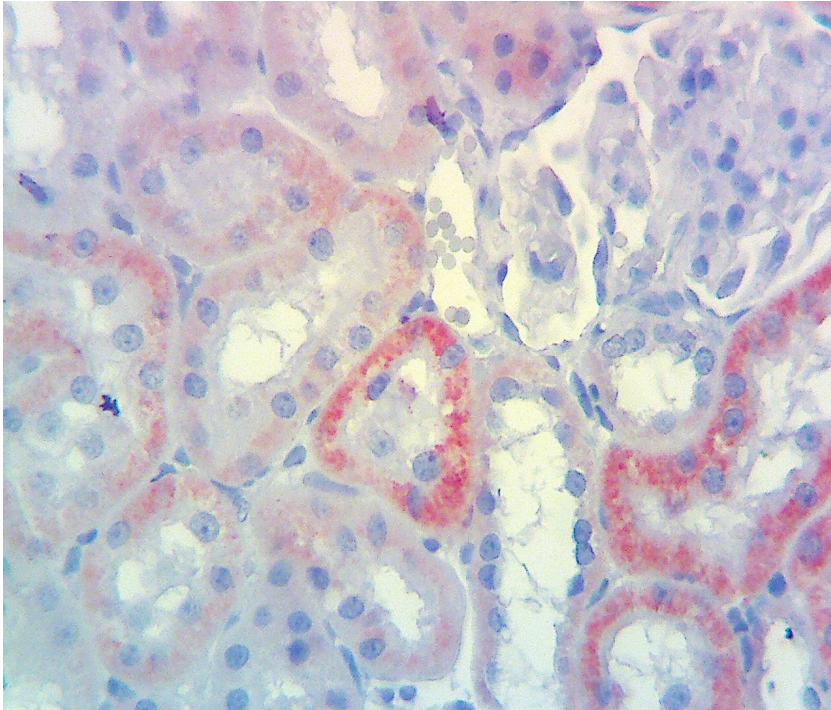
Şekil 5. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.



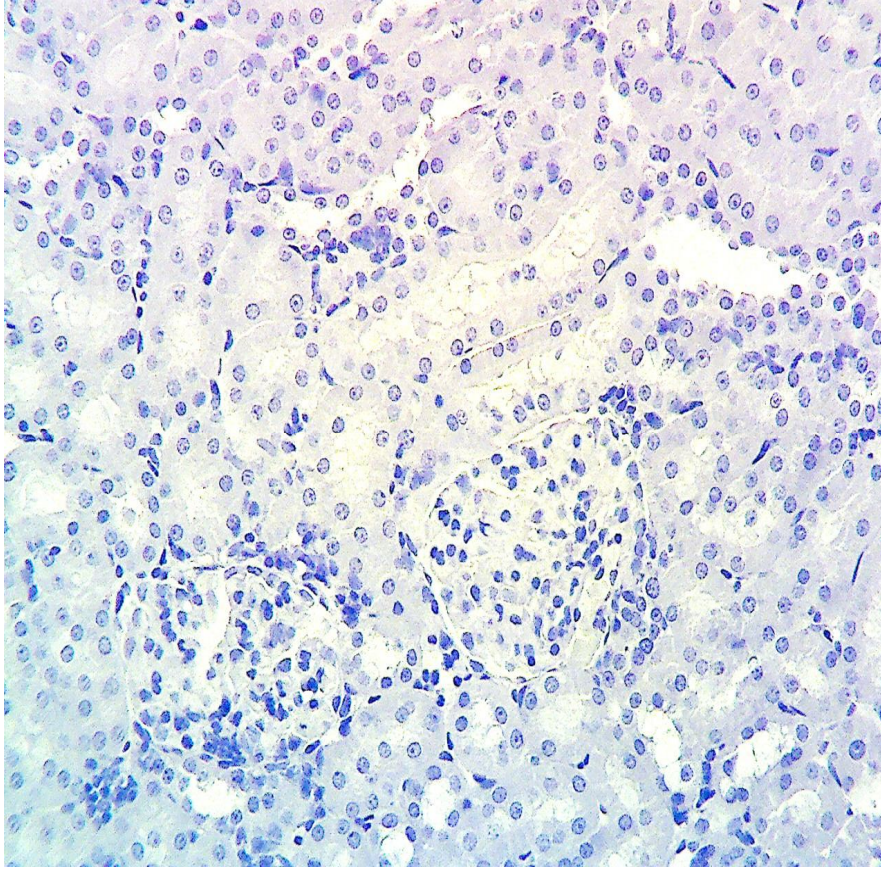
Şekil 6. Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.



Şekil 7. Doksorubisin verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.



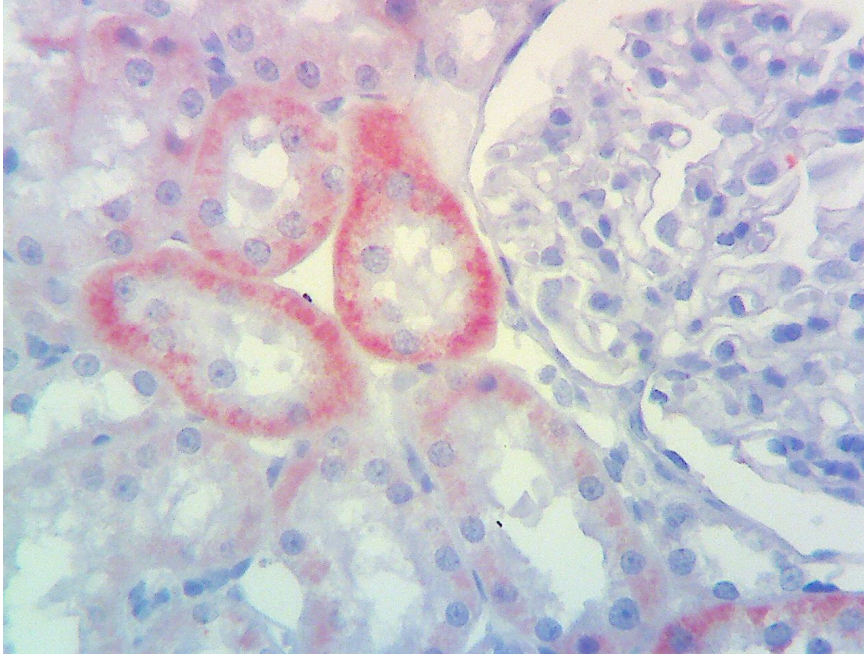
Şekil 8. Doksorubisin + benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında bax immünreaktivitesi.



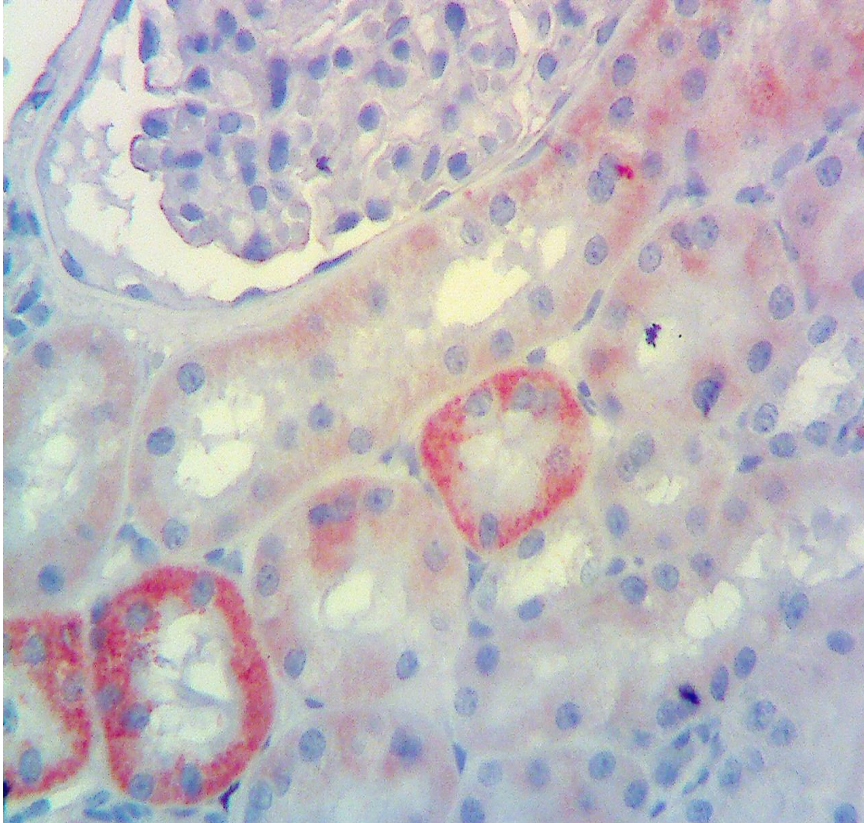
Şekil 9. Bax negatif kontrol.

3.2.2. Kaspaz-3 İmmünreaktivitesi

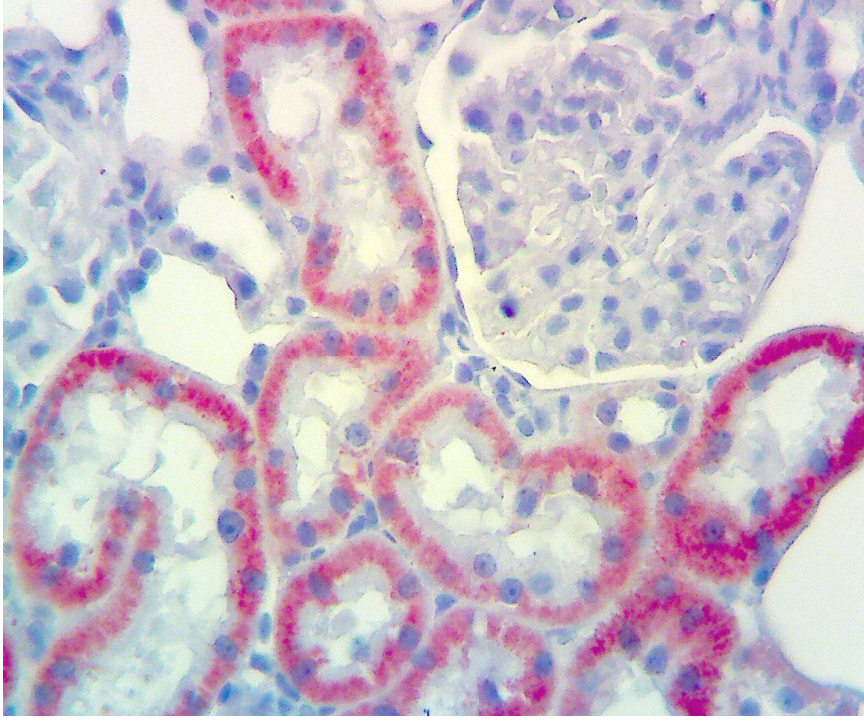
Kaspaz-3 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kaspaz-3 immünreaktivitesi kontrol ve benfotiamin gruplarında +1 yaygınlığında gözlendi (Şekil 10, 11). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Doksorubisin grubunda Kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 12). Benfotiamin'in tedavi olarak verildiği Doksorubisin + benfotiamin grubunda ise Doksorubisin grubuna göre Kaspaz-3 immünreaktivitesinde belirgin azalmanın, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 13). Negatif kontrolde herhangi bir boyanma saptanmadı (Şekil 14).



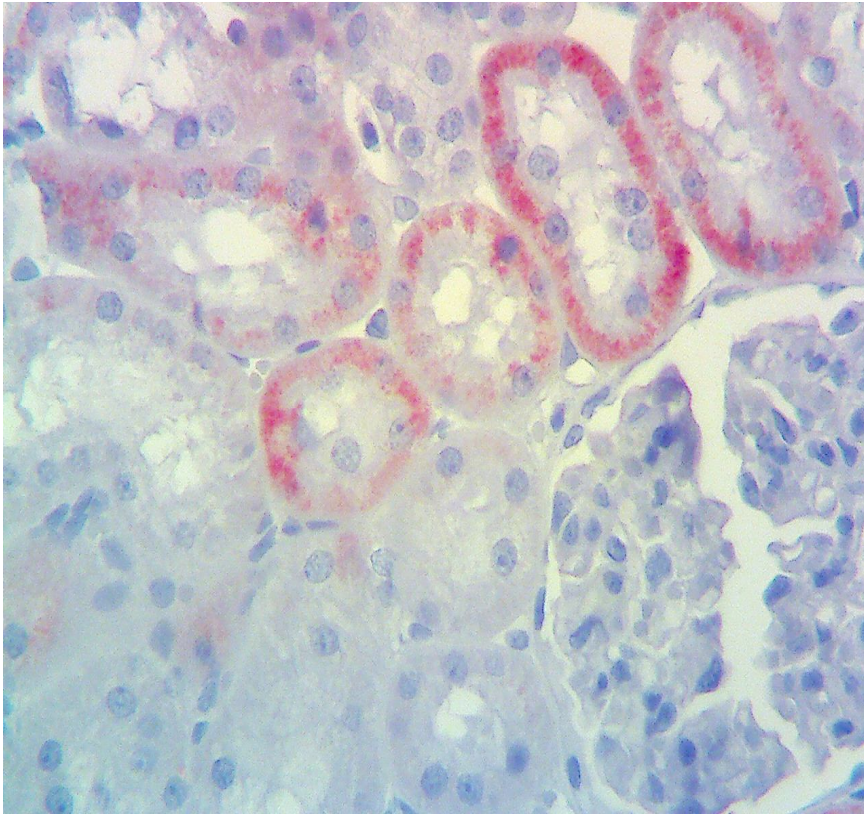
Şekil 10. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi



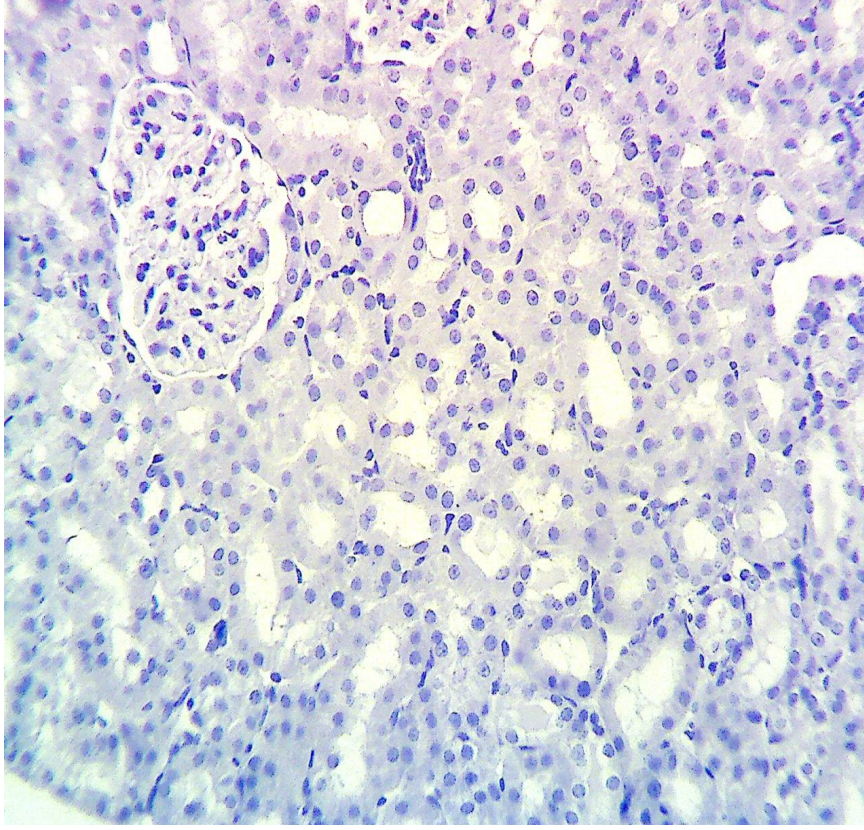
Şekil 11. Benfotiamin verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi



Şekil 12. Dokсорubisin verilen gruba ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi.



Şekil 13. Dokсорubisin+benfotiamin grubuna ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında Kaspaz-3 immünreaktivitesi.



Şekil 14. Kaspaz-3 negatif kontrol.

4. TARTIŞMA

Kanser, gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan ölümcül bir hastalıktır. Hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren bir hastalıktır. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların çoğu sitotoksik etkileri ile malign hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını önlerler ve onların ölümüne neden olurlar (97). Günümüzde kanser tedavisinde yaygın kullanılan kemoterapotik ajanların etkinliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak için yapılan çalışmalar artarak devam etmektedir. Bazı ajanlar kanser tedavisinde oldukça yaygın kullanılmalarına rağmen sıklıkla tümör dışındaki diğer dokuları da etkiledikleri için ciddi yan etkilere neden olmaktadır (98). Doksorubisinde kanser tedavisinde kullanılan ve yan etkileri fazla olan etkili bir kemoterapotik ajandır (4, 99). Doksorubisin toprak mantarlarından '*streptomyces pneucetus*'den elde edilen Daunorubisin adlı antrasiklin türevi bir antibiyotiğin hidroksi türevidir ve mide barsak kanalından iyi absorbe edilemez. Bu nedenle i.v yolla uygulanır (28). Amino şeker ve bir antrasiklin halka içerir. İlaç molekülünün aglikon kısmı, DNA ve RNA'nın arasına girer. Moleküldeki iyonik şeker yapısı, interkelasyonu (DNA'nın çift sarmalı arasına giriş) stabilize etmek için iyonik olarak bağlanır. Sonuç olarak, DNA ve RNA'nın sentez sırasında şekli bozulur ve bu etki döneme özgü değildir, fakat S dönemindeki hücrelere etkinliği fazladır (28, 29).

Doksorubisin ayrıca demir ile güçlü bir biçimde şelat oluşturup DNA'ya ve hücre membranlarına bağlanabilir. DNA'yı ve hücre membranlarını kolayca parçalayabilen serbest radikaller üretebilir (28, 29). Geniş spektrumlu ve etkin bir antineoplastik olmasına karşın oldukça toksiktir. Tek ilaç veya kombinasyon şeklinde kullanılır. En sık hematolojik malignitelerde, sarkom, lenfoma, prostat karsinomu, tiroid, akciğer ve meme karsinomlarında kullanılır (36). Kemoteropötik ilaçların kullanımı sırasında en büyük endişe toksisiteleridir. Kullanılan ilaçların toksisite durumlarının bilinmesi ve izlenmesi gerekmektedir (37). Antimetabolitler, antrasiklinler ve alkilleyici ilaçlar en sık nefrotoksisiteye neden olan ilaçların başında gelir (38, 39). Bir çok kemoterapi ilacının atıldığı organlar böbreklerdir. İlaçların metabolitleride böbrekleri duyarlı hale getirebilmektedir. Glomerüllerde, tübüllerde, damarlarda semptomatik olmayan kreatinin yüksekliğinden, diyaliz gerektiren akut

böbrek yetmezliğine kadar uzanan düzeyde böbrek fonksiyon bozukluğu oluşabilmektedir (37). Doksorubisin proksimal tübül hücrelerinde birikerek akut tübüler nekroza neden olabilmektedir. Ayrıca böbrekte glomerüler kapiller permeabilitede artış ve tübüler atrofi meydana getirmektedir (38).

Doksorubisin kalp, böbrek ve karaciğerde anlamlı derecede lipid peroksidasyonuna neden olur ve bunun en önemli göstergelerinden biri olan MDA seviyeleri artmış olarak bulunur (43).

El Sheikh ve ark. (100) yaptıkları çalışmada tek doz i.p 15 mg/kg doksorubisin uygulamasından 8 gün sonra renal hasar oluştuğunu göstermişlerdir.

Lahoti ve ark. (101) yaptıkları çalışmada doksorubisinin i.p 12 mg/ kg verildikten 8 gün sonra serum üre ve kreatinin düzeylerinin nefrotoksik düzeyde arttığını göstermişlerdir .

Ayrıca El-Shitany ve ark. (102) yaptıkları çalışmada, 10 mg/kg doksorubisin kullanımından 30 gün sonra renal tübüler hasar geliştiğini saptamışlardır.

Bizimde yaptığımız çalışmada 10 mg/kg i.p doksorubisin uygulandı ve böbrek dokularında immünohistokimyasal olarak boyanmada pre-apoptotik olarak bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde ve lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde belirgin artış görüldü.

Doksorubisinin, direkt olarak ya da oluşturduğu serbest radikaller aracılığı ile indirekt olarak, DNA sarmallarını ve çeşitli enzimlerin transkripsiyonel veya translasyonel aşamalarda gen ekspresyonunu değiştirdiği ve böylece antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere yol açtığı kabul edilmektedir. Bazı çalışmalarda patogeneze sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve NO'dur. Serbest radikallerin indüklediği MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin de olaya katkısı olduğu CAT, GSH GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzimleri azaltarak kardiyotoksisiteye ve nefrotoksisiteye neden olduğu da gösterilmiştir (45, 46).

Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol aldığına ait bulguların belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (47).

Tulubas ve ark. (103) yaptıkları çalışmada doksorubisinin böbrek üzerine toksik etkisi ve bu toksik etkiye omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisini

araştırmışlar. Doksorubisin 30 mg/kg tek doz i.p vermişler ve kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında sıçanlarda serum, KC ve böbrek dokularında GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerinde azalma ve MDA düzeylerinde ise artış tespit etmişler. Doksorubisin ve omega-3 yağ asitleri verilen grup sadece doksorubisin verilen grupla karşılaştırıldığında sıçan serum, böbrek ve KC dokularında MDA seviyelerinde anlamlı azalma görülürken, GSH, SOD ve GSH-Px düzeylerinde ise anlamlı bir artış tespit etmişler.

Kalaiselvi ve ark. (104) yaptıkları benzer bir çalışmada, 10 mg/kg i.v doksorubisin uygulaması sonrasında enzimatik antioksidan seviyelerinde (SOD, CAT, GSH Px, GSH redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve GSH-S-transferaz) önemli derecede düşüş ve MDA seviyesinde ise artış görmüşlerdir.

Koul ve ark. (105) yaptıkları çalışmada doksorubisinin indüklediği nefrotoksisiteyi göstermek için böbrek dokularında, lipid peroksidasyon göstergeleri olan GSH, GSH Px, GSH redüktaz ve CAT aktivitelerinde önemli bir azalma bulmuşlar. Doksorubisin grubuyla kıyaslandığında domatesten üretilen likopen verilen grupta GSH düzeylerinde belirgin artış ve antioksidan düzeyini yansıtan CAT, GSH-Px ve GSH redüktaz düzeylerinde belirgin artış izlemişlerdir. Sonuç olarak, likopenin doksorubisin kaynaklı nefrotoksisiteyi azaltabileceği görülmüştür.

Antioksidanlar hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve zincir oluşturan radikalleri daha az reaktif türlere çevirirler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki çiftleşmemiş elektronun yer değiştirmesiyle stabilize olur. Bundan dolayı antioksidan moleküller yapılarında genelde fenolik fonksiyon taşırlar. Antioksidanlar, lipid peroksidasyonu, proteinlerin çapraz bağlanması ve DNA mutasyonu ile etkileşip, doku hasarını önlerler. Serbest radikaller, kansere de neden olduklarından, çoğu antioksidanlar kanseri başlangıçta durdurur ve tümör gelişimini önlerler (106).

Suda çözülebilen B1 vitaminine tiamin, özel yağda çözülebilen B1 vitaminine ise benfotiamin denilir (13). Benfotiamin yapısı gereği gerçek tiamine göre çok daha yüksek bir biyoelverişliliğe sahiptir ve bu özelliğiyle benfotiaminin, suda çözülebilen tiamine göre vücutta daha kolay emildiği ve oral uygulamada eşdeğer bir tiamin dozuna göre en az beş kat daha yüksek tiamin plazma konsantrasyonuna ulaşabilme etkinliğine sahip olduğu bildirilmiştir (69, 73, 74, 75).

Bundan dolayı diğ er yağda   z lebil en ya da allitiamin ailesindeki lipid tiamin türevlerine göre daha iyi olduğu ve lipitte   z lebil en türevleri içerisinde en güçlüsü olduğu belirtilmiştir (69).

Bazı  alışmalar benfotiaminin ROS üzerinde baskılayıcı özellikte olduğunu göstermiştir (7, 8). Benfotiaminin insan endotel hücrelerinde AGE artışını engellediği g r lm ştir (10). Redükte olmuş GSH; hücre içerisinde oksidan ajanların etkisini azaltarak hücrenin etkili proteinlerini oksidasyona karşı korur ve antioksidan özellik gösterir. Bu esnada GSH oksitlenir. Bu GSH'ın görevini yerine getirebilmesi için tekrar redükte olması gerekmektedir. Bu amaçla NADPH'lar kullanılır. NADPH için pentoz fosfat yolu önemlidir ve tiamin de bu yola etki ettiği için bir antioksidan olarak kabul edilebilir (9, 10). Benfotiamin tarafından endotel hücrelerinde ve perisitlerde yüksek glukoz maruziyetinden dolayı meydana gelen apoptozisin iki göstergesi olan kaspaz-3 aktivitesi ve DNA fragmentasyonu artışı engellenebilir (76).

Yapılan çalışmalarda serbest radikaller ve AGE'nin, PKC'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, hücre dışı matriks bileşenlerini, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogenezinde rol aldığı  ne sürülmektedir (80, 81). Benfotiamin transketolazı aktifleştirerek pentoz fosfat yolunu çalıştırır. PKC hareketini azaltır ve ROS  reten NADPH oksidaz enzimini inaktifleştirir ve böylece oksidatif stresi hem azaltarak hem de önleyerek antioksidan gibi davranır (82, 83).

Harisa (107) yaptığı çalışmada sisplatinle oluşturulmuş nefrotoksisitede benfotiaminin koruyucu etkilerini araştırmış. Sisplatin verilen sıçanlarda kontrol grubuna göre renal hasar ve oksidatif stres belirteçlerinden NO, MDA, SOD düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde ise azalma saptamıştır. Sisplatinle eř zamanlı benfotiamin uygulanan sıçanlarda kontrol grubuna göre bu değerlerde düzelme saptanmıştır. Bu çalışmada benfotiaminin reaktif oksijen ve azot türlerini inhibe ederek sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteyi önleyebileceği gösterilmiştir.

Alkhalaf ve ark. (108) yaptıkları çalışmada Tip 1 diyabetli hastalarda hipergliseminin rol aldığı vasküler komplikasyonların oluşumunda AGE'lerin, endotelial disfonksiyonun ve düşük dereceli inflamasyonun ara yol olarak rol aldığını ve nefropati gelişmiş kişilerde benfotiaminin bu yolaktaki etkilerini

araştırmışlar. Fakat plasebo ile karşılaştırdıklarında benfotiaminin plazma ve idrar AGE düzeyinde, endotelial disfonksiyonda ve düşük dereceli inflamasyonda anlamlı azalma yapmadığını görmüşlerdir.

Karachalias ve ark. (109) yaptıkları çalışmada deneysel mikrovasküler komplikasyon gelişmiş diyabetik sıçanlarda protein hasarı, glikasyon, oksidasyon ve nitrasyon üzerine benfotiamin ve tiaminin etkilerini araştırmışlardır. Diyabet streptozisin ile oluşturulmuş ve insülin ile yönetilmiştir. Kontrol ve diyabetik gruptaki sıçanlara 24 hafta boyunca dönüşümlü olarak 1 gün 7 mg/kg ve ertesi gün ise 70 mg/ kg tiamin veya benfotiamin verilmiş. Diyabetik sıçanların retina, glomerül, siyatik sinir dokularında ve plazma proteinlerinde AGE ve fruktozil-lizin düzeylerinde 4 kat artış saptanmış. Tiamin ve benfotiamin verilenlerde AGE düzeyindeki artışlarda azalma olmuş, fakat fruktozil-lizinde ise düzelme olmamış. Tiamin ve benfotiamin tedavisiyle glikasyon, oksidasyon ve nitrasyondaki artışlar düzelmiştir.

Bizim çalışmamızda da doksorubisin uygulanarak meydana getirilen böbrek hasarının son yıllarda önemli bir antioksidan olarak kabul edilen benfotiamin ile belirgin bir şekilde düzeldiği görülmüştür. Bu düzelme pre-apoptotik genler olan bax ve kaspaz-3 immunreaktivitesinde belirgin bir azalma gözlenerek tespit edildi. Benfotiaminin bu etkisinin muhtemel antioksidan etkisine bağlı olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak çalışmamızda:

- 1- Böbrek dokularında apoptozisi ve MDA seviyelerini Doksorubisinin artırdığını, fakat benfotiaminin ise azalttığını
- 2- Doksorubisinin apoptozisin göstergeleri olan bax ve kaspaz-3 immunreaktivitesini artırdığı, fakat benfotiaminin ise azalttığı saptandı.

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

5. KAYNAKLAR

1. Sarsılmaz M. Anatomi. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2009.
2. Carlos JL, Carneiro J, Temel Histoloji. Aytekin Y. Solakoğlu S. (Çev. Ed.). İstanbul: Nobel Tıp Yayınevleri, 2009.
3. Erkoçak A. Özel Histoloji. Baskı Ankara: Ajans, 1973.
4. Demir F, Narin F, Akgün H. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite üzerine melatoninin etkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2004; 47: 260-268.
5. Injac R, Boskovic M, Perse M. Acute doxorubicin nephrotoxicity in rats with malignant neoplasm can be successfully treated with fullereneol C60(OH)24 via suppression of oxidative stres. Pharmacological Reports 2008; 60: 742-749.
6. Narin F, Demir F, Akgün H, Baykan A, Üzümlü K, Kuzugüden S, Köklü E. Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite üzerine pentoksifilin etkisi. Türk Kardiyol Dern Arş- Arch Turk Soc Cardiol 2004; 32: 279-287.
7. Gadau S, Emanuelli C, Van Linthout SV, Grainai G, Todaro M, Meloni M, et al. Benfotiamine accelerate the healing of ischaemic diabetic limbs in mice through protein kinase B/Akt-mediated potentiation of angiogenesis and inhibition of apoptosis. Diabetologia 2006; 49: 405-420.
8. Marchetti V, Menghinini R, Rizza S, Vivanti A, Feccia T, Laura D, et al. Benfotiamine counteracts glucose toxicity effects on endothelial progenitor cell differentiation via Akt/ FOXO signaling. Diabetes 2006; 55: 2231-2237.
9. Bakker SJ, Heine RJ, Gans R. Thiamine may indirectly act as an antioxidant. Diabetologia 1997; 40: 741-742.
10. Pomero F, Molinar Min A, La Selva M, Allione A, Molinatti GM, Porta M. Benfotiamine is similar to thiamine in correcting endothelial cell defects induced by high glucose. Acta Diabetol 2001; 38 : 135 – 138*
11. Bitsch R, Wolf M, Moller J, Heuzeroth L, Gruneklee D. Bioavailability assessment of the lipophilic benfotiamine as compared to a water-soluble thiamine derivative. Ann Nutr Metab 1991; 35: 292–296.

12. Yadav F, Subramanyam S, Ramana KV. Prevention of endotoxin-induced uveitis in rats by benfotiamine, a lipophilic analogue of vitamin B1. Invest Ophthalmol Vis Sci 2009; 50: 2276–2282.
13. Anonymous <http://www.mwt.net/~drbrewer/benfotiamine.htm/> 21.05.2010.
14. Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
15. Ozan H. Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2004.
16. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983
17. K. Ovalle W., Nahirney C., Çev. Ed.: Müftüoğlu S., Kaymaz F., Atilla P.(2009) Netter Temel Histoloji. Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.
18. Şeftalioğlu A. Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. Üçüncü Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1998.
19. Moore KM, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. (Çev. Ed.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002: 303-314.
20. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. Basaklar AC (Çev. Ed.) 9. Baskı. İstanbul: Palme Yayınları, 2005.
21. Güven MC. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Ankara: ANTIP A.S. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları, 2002
22. Abraham LK, Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş. Demir R. (Çev. Ed.) Ankara: Palme Yayınları, 2006.
23. Guyton ve Hall. Tıbbi Fizyoloji. Yeğen B (Çev Ed). 12. Basım. Nobel Tıp Kitabevi
24. Greenberg MS. Böbrek Hastalıkları Soylu A, Kavukçu S, (Çev Ed). 4. Baskı İstanbul: Güven Bilimsel Yay 2011.
25. Erdil F, Elbas ÖN. Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği. Genişletilmiş 4. Baskı, Ankara: 2001.
26. <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM//1211/unite08.pdf>.

27. Birol L, Akdemir N, Bedük T. İç Hastalıkları Hemşireliği. Ankara: Vehbi Koç Vakfı Yayınları, 1997.
28. Türker A, Kayaalp O. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar içinde: Kayaalp O (Ed), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı, Ankara: Hacettepe-Taş, 2002: 380-415.
29. Jacop L, Farmakoloji. Kosay S (Çev Ed). İstanbul: NMS Nobel Tıp Kitapevleri, 1998.
30. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Garcia-Carbonero R, Calabresi P. Chemotherapy of neoplastic diseases. Hardman JG, Limbird LE, Goodman LS, Gilman A (Eds), Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Therapeutics. 10th ed, USA: McGraw-Hill, 2001: 1426-1428.
31. Gewirtz DA. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. Biochem Pharmacol 1999; 1; 57: 727-741.
32. Salmon SE, Sartorelli AC. Cancer Chemotherapy. In: Basic & Clinical Pharmacology. Katzung BG (Ed), 5th ed, USA: Prentice-Hall International Inc, 1992: 779-780.
33. Li T, Danelisen I, Bello-Klein A, Singal PK. Effects of probucol on changes of antioxidant enzymes in adriamycin induced cardiomyopathy in rats. Cardiovasc Res, 2000; 46: 523-530.
34. Sun AY, Simonyi A, Sun GY. The "French Paradox" and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. Free Radic Biol Med, 2002; 15; 32: 314-318.
35. Muindi JRF, Sinha BK, Gianni L, Myers CE. Hydroxyl radical production and DNA damage induced by antracycline-iron complex. FEBS Lett, 1984; 172: 226-230.
36. Dökmeci İ (Ed). Farmakoloji İlaç Uygulamaları. 4th ed. İstanbul: Nobel Kitap Evleri, 1992: 834-835.
37. Özkocaman V. Ekstrameduller toksisite: değerlendirme, derecelendirme, prognostik faktörler. Türk Hematoloji Derneği - Hematolojide Destek Tedavileri Ve Enfeksiyonlar Kursu, http://www.thd.org.tr/thdData/userfiles/file/HEM_DES_2007_7.pdf 2007 Erişim tarihi: 20.02.2014.

38. Erkut M.A, Kuku İ, Kaya E. Kanser kemoterapisi ve böbrek. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009; 16: 63-68.
39. Patil RR, Guhagarkar SA, Devarajan PV. Engineered nanocarriers of doxorubicin: a current update. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2008; 25: 1-61.
40. Yağmurca M, Erdoğan H, Iraz M. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. Clinica Chimica Acta, 2004; 348: 27-34.
41. Injac R, Boskovic M, Perse M. Acute doxorubicin nephrotoxicity in rats with malignant neoplasm can be successfully treated with fullereneol C60(OH)24 via suppression of oxidative stress. Pharmacological Reports 2008; 60: 742-749.
42. Gökçimen A, Cim A, Tola HT, Bayram D. Protective effect of N-Acetylcysteine, caffeic acid and vitamin E on doxorubicin hepatotoxicity. Human & Experimental Toxicology, 2007; 26: 519-525.
43. Park E, Kim S, Lee M, Lee H. Protective effect of N-acetylcysteine and selenium against doxorubicin toxicity in rats. Journal of Veterinary Science, 2003; 4: 129-136.
44. Tokarska-Schlattner M, Zaugg M, da Silva R, Lucchinetti E, Schaub MC, Wallimann T, Schlattner U. Acute toxicity of doxorubicin on isolated perfused heart: response of kinases regulating energy supply. AJP Physiol Heart Circulatory, 2005; 289: 37-47.
45. Narin F, Demir F, Akgün H. Dokсорubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksitesite üzerine L-triptofan etkisi. Erciyes Tıp Dergisi 2005; 27: 7-16.
46. Hirai T, Okumura K, Nishimoto Y, Shumiya T, Murakami R, Takahashi R, et al. Upregulation of renal eNOS by high-sodium diet facilitates hypertension in doxorubicin-treated rats through enhanced oxidative stress. Toxicology 2006; 225: 81-89.
47. Ayla S, Oktar H, Tanrıverdi G. Dokсорubisin nedenli sıçan hepatotoksitesisine nikotinamidin koruyucu etkisi. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi 2009; 10: 229-238.
48. Özvaran MK. Malign mezotelyomada gen tedavisi. Toraks Dergisi 2004; 5: 100-115.

49. Renvoize C, Biola A, Pallardy M, Breard J. Apoptosis: identification of dying cells. *Cell Biol Toxicol* 1998; 14: 111-120.
50. Honig LS, Rosenberg RN. Apoptosis and neurologic disease. *Am J Med* 2000; 108: 317-330.
51. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 217-245.
52. Ribble D, Goldstein NB, Norris DA, Shellman YG. A simple technique for quantifying apoptosis in 96-well plates. *BMC Biotechnol* 2005; 5: 12.
53. Zakeri Z, Bursch W, Tenniswood M, Lockshin RA. Cell death: programmed, apoptosis, necrosis, or other? *Cell Death Differ* 1995; 2: 87-96.
54. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251-306.
55. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci* 2000; 23: 73-87.
56. Hampton MB, Orrenius S. Redox regulation of apoptotic cell death. *Biofactors* 1998; 8: 1-5.
57. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 395-419.
58. Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. *Chest* 2000; 117: 1771-1777.
59. Roulston A, Marcellus RC, Branton PE. Viruses and apoptosis. *Annu Rev Microbiol* 1999; 53: 577-628.
60. Reed JC. Mechanism of apoptosis. *Am J Pathol* 2000; 157: 1415-1430.
61. Van Gurp M, Festjens N, Van Loo G, Saelens X, Vandenabeele P. Mitochondrial inter membrane proteins in cell death. *Biochem Biophys Res Comm* 2003; 304: 487-497.
62. Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes Development* 1999; 13: 1899-1911.

63. Büyükgebiz O, Caferler JS. Apoptoz sendrom 2001; 13: 102-107.
64. Takano J, Tomioka M, Tsubuki S, Higuchi M, Iwata N, Itohara S, et al. Calpain mediates excitotoxic DNA fragmentation via mitochondrial pathways in adult brains: Evidence from calpastatin mutant mice. *J Biol Chem* 2005; 280: 16175-16184.
65. Henshall DC, Araki T, Schindler CK, Lan JQ, Tieckoter KL, Taki W, et al. Activation of Bcl-2-associated death protein and counter-response of Akt within cell populations during seizure-induced neuronal death. *J Neurosci* 2002; 22: 8458-8465.
66. Estaquier J, Idziorek T, de Bels F, Bere-Sinoussi F, Hurtrel B, Aubertin AM, et al. Programmed cell death and AIDS: significance of T-cell apoptosis in pathogenic and nonpathogenic primate lentiviral infections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9431-9435.
67. Akşit H, Bildik A. Apoptozis. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 2008;19: 55-63.
68. Ulukaya E. Apoptozis ders notları, Bursa: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı 2008.
69. Loew D. Pharmacokinetics of thiamine derivatives especially of benfotiamine. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1996; 34: 47-50.
70. Anonymous. “Benfotiamine”
http://www.sigmaaldrich.com/catalog/productdetail.do?d7=0&n5=search_concat_pno|brand_key&n4=b9636|sigma&n25=0&q=on&f=spec/ 11.03.2010).
71. Thornalley PJ. The potential role of thiamine (vitamin B(1)) in diabetic complications. *Curr Diab Rev* 2005;1: 287-298.
72. Malecka SA, Poprawski K, Bilski B. Prophylactic and therapeutic application of thiamine (vitamin B1)-a new point of view. *Wiad Lek* 2006; 59: 383-387.
73. Hilbig R, Rahmann H. Comparative autoradiographic investigations on the tissue distribution of Benfotiamine versus thiamin in mice. *Arzneimittelforschung*: 1998; 48: 461-468.

74. Shoeb M, Ramana KT. Anti-inflammatory effects of benfotiamine are mediated through the regulation of the arachidonic acid pathway in macrophages. *Free Radical Biology & Medicine* 2012; 52: 182-190.
75. Sánchez-Ramírez GM, Caram-Salas NL, Rocha-González HI, Vidal-Cantú GC, Medina-Santillán R, Reyes-García G, Granados-Soto V. Benfotiamine relieves inflammatory and neuropathic pain in rats. *Eur J Pharmacol*: 2006; 530: 48–53.
76. Beltramo E, Berrone E, Buttiglieri S, Porta M. Thiamine and benfotiamine prevent increased apoptosis in endothelial cells and pericytes cultured in high glucose. *Diabetes Metab Res Rev* 2004; 20: 330-336.
77. Hatfield J. Advanced glycation end-products (AGEs) in hyperglycemic patients. *J Young Invest* 2005; 13: 1.
78. Dinçer Y, Akçay T, Alademir Z, İlkova H. Effect of oxidative stress on glutathione pathway in red blood cells from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 2002; 51: 1360-1362.
79. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. Bcl-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation end products in bovine endothelial cells. *The Journal of Clinical Investigation* 1996; 97: 1422-1428.
80. Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 97-108.
81. Way KJ, Katai N, King GL Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabetic Medicine* 2001; 18: 945-959.
82. Babaei-Jadidi R, Karachalias N, Ahmed N, Battah S, Thornalley PJ. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high-dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes* 2003; 52: 2110–2120.
83. Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N, et al. Protein kinase C- dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol*: 2003 14: 227–232.

84. Maritim AC, Sanders RA, Watkins III JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants: Review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 4-38.
85. Berrone E, Beltramo E, Solimine C, Ape AU, Porta M. Regulation of intracellular glucose and polyol pathway by thiamine and benfotiamine in vascular cells cultured in high glucose. *J Biol Chem* 2006; 281: 9307–9313.
86. Hahn GM, Shiu EC, Auger EA. Mammalian stress proteins Hsp70 and Hsp28 coinduced by nicotine and either ethanol or heat. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 6034-6040.
87. Boulanger J, Faulds D, Eddy EM, Lingwood CA. Members of the 70Da heat shock protein family specifically recognize sulfoglycolipids: role in gamete recognition and mycoplasma-related infertility. *J Cell Physiol* 1995; 165: 7–17.
88. Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, Hofmann M, Quehenberger P, Illmer T, et al. Advanced glycation end product-induced activation of NF-kappa B is suppressed by alpha-lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes* 1997; 46: 1481-1490.
89. Eidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 100-106.
90. Goh SY, Cooper ME. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1143–1152.
91. Li SY, Sigmon VK, Babcock SA, Ren J. Advanced glycation endproduct induces ROS accumulation, apoptosis, MAP kinase activation and nuclear O-GlcNAcylation in human cardiac myocytes. *Life Sci* 2007; 80: 1051–1056.
92. Ang CD1, Alviar MJ, Dans AL, Bautista-Velez GG, Villaruz-Sulit MV, Tan JJ, et al. Vitamin B for treating peripheral neuropathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 3: 45-73.
93. Head KA. Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies. *Altern Med Rev* 2006; 11: 294–329.
94. Balakumar P, Rohilla A, Krishan P, Solairaj P, Thangathirupathi A. The multifaceted therapeutic potential of benfotiamine. *Pharmacological Research* 2010; 61: 482–488.

95. Ceylan Işık AF, Wu S, Li Q, Li SY, Ren J. High-dose benfotiamine rescues cardiomyocyte contractile dysfunction in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Appl Physiol* 2006; 100: 150–156.
96. Ronald BP. Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products. *Curr Prot Food Anal Chem* 2001; 2.4.1–2.4.8.
97. Tozkoparan B, Aytaç PS. Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak GSH S-transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 2007; 27: 139-164.
98. Söğüt S, Yılmaz HR, Songur A. Sıçanlarda sisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2004; 2: 23-28.
99. Malarkodi KP, Balachandar AV, Varalakshmi P. Protective effect of lipoic acid on adriamycin induced lipid peroxidation in rat kidney. *Mol Cell Biochem*, 2003; 247: 9-13.
100. El-Sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM, Rifaai RA, Abdelrahman AM, Effect of coenzyme-q10 on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Adv Pharmacol Sci* 2012; 2012: 981461.
101. Lahoti TS, Patel D, Thekkemadom V, Beckett R, Ray SD. Doxorubicin-induced in vivo nephrotoxicity involves oxidative stress-mediated multiple pro and anti-apoptotic signaling pathways. *Curr Neurovasc Res* 2012; 9: 282-295.
102. El-Shitany NA, El-Haggar S, El-Desoky K. Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 2422-2428.
103. Tulubas F, Gurel A, Oran M, Topcu B, Caglar V, Uygur E. The protective effects of ω -3 fatty acids on doxorubicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Toxicol Ind Health* 2013. [Epub ahead of print]
104. Kalaiselvi P, Pragasam V, Chinnikrishnan S, Veena CK, Sundarapandiyan R, Varalakshmi P. Counteracting adriamycin-induced oxidative stress by administration of N-acetyl cysteine and vitamin E. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 834-840.

- 105.** Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulatory potential of lycopene from *lycopersicum esculentum* against doxorubicin induced nephrotoxicity. *Indian J Exp Biol.* 2013; 51: 635-45.
- 106.** Baser KHC. Dietary supplements of plant origin. *Industrial Plants as Sources of Dietary Supplements* 2003; 31-42.
- 107.** Harisa G, Benfotiamine enhances antioxidant defenses and protects against cisplatin-induced DNA damage in nephrotoxic rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2013; 27: 398-405.
- 108.** Alkhalaf AL, Kleefstra N, Groenier KH, Bilo HJ, Gans RO, Heeringa P, et al. Effect of benfotiamine on advanced glycation endproducts and markers of endothelial dysfunction and inflammation in diabetic nephropathy. *PLoS One* 2012; 7: 40427.
- 109.** Karachalias NL, Babaei-Jadidi R, Rabbani N, Thornalley PJ. Increased protein damage in renal glomeruli, retina, nerve, plasma and urine and its prevention by thiamine and benfotiamine therapy in a rat model of diabetes. *Diabetologia* 2010; 53: 1506-1516.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Adıyaman ilinde doğdum. 2001 yılında Adıyaman Anadolu Lisesinden mezun olup 2001 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım ve 2007 yılında mezun oldum. Pratisyen hekim olarak Mardin ili Savur ilçesinde görev yaptıktan sonra Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak 2010 yılı Haziran ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen eğitime devam etmekteyim. Yabancı dilim İngilizcedir.