

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

**SİSPLATİN NEFROTOKSİSİTESİ OLUŞTURULAN RATLARDA
KURKUMİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Özgür ARSLAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN**

**ELAĞIĞ
2012**

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. Ayhan DOĞUKAN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER

Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN

Doç. Dr. Bilge AYGİN

TEŞEKKÜR

Bana her konuda destek olup yönlendiren, bilgi, beceri ve deneyimlerini aktaran, uzmanlık eğitimim boyunca bu günlere gelmemde çok büyük emeği geçen, ilgi ve sevgisini hiçbir zaman eksiltmeyen, tez danışmanım çok değerli hocam Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim sürecinde; bilgi ve deneyimlerini paylaşan başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Emir DÖNDER olmak üzere saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER, Prof. Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU, Prof. Dr. Ahmet IŞIK, Prof. Dr. Yusuf ÖZKAN, Doç. Dr. Mehmet YALNIZ, Doç. Dr. Süleyman Serdar KOCA, Doç. Dr. Bilge AYGİN, Doç. Dr. Handan ÇİPİL, Yrd. Doç. Dr. Ulvi DEMİREL ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa CANHOROZ'a teşekkür ederim.

Tezimin tüm aşamalarında değerli bilgilerini aktaran, her konuda destek olarak yol gösteren; Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım ŞAHİN'e, tezimin istatistiklerinin yapılması ve sonuçlarının yorumlanması safhasında emeği geçen Fen Fakültesi Biyoloji bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya, histopatolojik inceleme safhasındaki yardımlarından dolayı Patoloji Bilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. İbrahim Hanifi ÖZERCAN'a, tezimin hazırlanma sürecinde yardım ve desteğini esirgemeyen Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Cemal ORHAN ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Arş. Gör. Hasan GENÇOĞLU'na teşekkür ederim.

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

Tüm hayat boyu olduğu gibi asistanlığım süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen ve bana sabırlarını sunan sevgili annem, babam abim ve kardeşime teşekkür ederim.

Bu çalışmayı TF.12.03 Proje numarası ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve çalışanlarına teşekkür ederim.

ÖZET

Günümüzde solid tümör tedavisinde yaygın olarak kullanılan sisplatinin kullanımını kısıtlayan en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. Sisplatin nefrotoksitesi patofizyolojisinde özellikle oksidatif hasarın rolü oldukça belirgindir. Kurkumin reaktif oksijen metabolitlerini etkisiz hale getirerek antioksidan etki gösterir. Kimyasallar böbrek içine organik anyon ve katyon taşıyıcıları (OAT, OCT) vasıtasıyla alınmakta ve çoklu ilaç direnci ile ilişkili proteinler (MRP) ile idrara atılmaktadır. Bu çalışmada sisplatin ile oluşturulmuş nefrotoksistide, kurkuminin OAT, OCT ve MRP ekspresyonu üzerine etkileri deneysel olarak araştırıldı.

Çalışmada, 28 adet 6 haftalık dişi Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar i: kontrol; ii: kurkumin (100 mg/kg/gün); iii: sisplatin (7 mg/kg - i.p, tek doz); iv: kurkumin (100 mg/kg/gün)+sisplatin (7 mg/kg - i.p, tek doz) olarak 4 gruba (n=7) ayrıldı. Serum üre ve kreatinin düzeyleri, iv grubunda iii grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük bulundu ($p<0.001$). Serum MDA düzeyleri iii grubu ile karşılaştırıldığında iv grubunda anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.001$). OCT1 ve OCT2 ekspresyonu, iii grubu ile karşılaştırıldığında iv grubunda önemli bir artış gösterdi ($p<0.05$). OAT1 ve OAT3 ekspresyonu, iii grubu ile karşılaştırıldığında iv grubunda belirgin olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). MRP2 ve MRP4 ekspresyonu, iv grubunda iii grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.001$). Sisplatin ile oluşan histopatolojik değişikliklerin kurkumin ile belirgin olarak düzeldiği görüldü.

Elde ettiğimiz veriler sisplatinin oksidatif strese ve böbrek hasarına neden olduğunu gösterdi. Sonuç olarak bu çalışma oksidatif stresi ve doku hasarını azaltan; OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, MRP2 ve MRP4 ekspresyonlarını etkileyen kurkuminin sisplatin nefrotoksitesinin önlenmesinde önemli bir koruyucu ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, nefrotoksiste, kurkumin, OCT, OAT, MRP.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CURCUMIN IN RATS WITH CISPLATIN INDUCED NEPHROTOXICITY

The major side effects that restricts cisplatin usage in solid tumor therapy is nephrotoxicity. The role of oxidative stress in cisplatin nephrotoxicity is evident. Curcumin is an antioxidant that inactivates the oxygene metabolites. Insertion of the chemicals into kidneys are via organic anion and cation transporters (OAT, OCT); and excretion to the urine of these molecules becomes via multi drug resistance associated proteins (MRP). In this study we investigated the effects of curcumin on OAT, OCT and MRP in rats with cisplatin induced nephrotoxicity.

We used 6 weeks age 28 female Wistar albino rats. We seperated the rats into groups as; i: control; ii: curcumin (100 mg/kg/day); iii: cisplatin (7 mg/kg – single dose, i.p); iv: curcumin (100 mg/kg/day)+cisplatin (7 mg/kg – single dose, i.p). Serum urea and creatinin levels were significantly lower in group iv in comparison with group iii ($p<0.001$). Serum MDA levels were also lower in iv group than iii group ($p<0.001$). OCT1 and OCT2 expression increased in group iv in comparison with group iii ($p<0.05$). Also OAT1 and OAT3 expression increased in group iv in comparison with group iii ($p<0.001$). MRP2 and MRP4 expressions were lower in iv group than iii group ($p<0.001$). The histopathologic changes due to cisplatin were improved with curcumin.

Cisplatin causes oxidative stress and renal injury. In conclusion, we determined that curcumin can prevent cisplatin induced nephrotoxicity via the elevation of OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, MRP2 and MRP4 expression.

Key words: Cisplatin, Nephrotoxicity, Curcumin, OCTs, OATs, MRPs.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Sisplatin	2
1.1.1. Sisplatinin Farmakokinetik Yapısı	3
1.1.2. Sisplatinin Yan Etkileri ve Nefrotoksisite	3
1.1.3. Sisplatin Nefrotoksisitesi Patogenezi	4
1.1.3.1. Hücrel toksisite	5
1.1.3.2. Vazokonstriksiyon	5
1.1.3.3. Proinflamatuvar etkiler	6
1.1.3.4. Proksimal tübüldeki etkiler	6
1.1.4. Sisplatin Nefrotoksisitesinin Klinik Yansıması	7
1.1.4.1. Renal Bozulma	7
1.1.4.2. Hipomagnezemi	8
1.1.4.3. Trombotik Mikroanjiopati	9
1.1.4.4. Fanconi Benzeri Sendrom	9
1.1.4.5. Tuz Kaybı	9
1.1.4.6. Anemi	9
1.2. Tübüler Taşıyıcı Sistemler	9
1.2.1. Organik Katyon Transport Sistemi (SLC22A)	9
1.2.2. Organik Anyon Transport Sistemi (SLC22A)	11
1.2.3. Çoklu İlaç Direnci İle İlişkili Protein Ailesi (ABCC)	14
1.3. Oksidatif Sistem ve Antioksidan Savunma Sistemleri	16
1.3.1. Oksidatif Sistem	16

1.3.2. Antioksidan Savunma Sistemleri	17
1.3.2.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları	18
1.3.2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması	18
1.3.2.3. Endojen Antioksidanlar	19
1.3.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar	19
1.3.2.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar	21
1.3.2.3.3. Diğer Nonenzimatik Endojen Antioksidanlar	21
1.3.2.4. Eksojen Antioksidanlar	21
1.3.2.5. Diğer Antioksidanlar (Farmakolojik)	21
1.4. Kurkumin	22
1.4.1. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri	23
1.4.2. Kurkuminin Farmakokinetik Özellikleri	24
1.4.3. Kurkuminin Antioksidan Etkileri	26
1.4.4. Kurkuminin Antiinflamatuvar Etkisi	28
1.4.5. Kurkuminin İmmunomodülatuar Etkisi	28
1.4.6. Kurkuminin Yara İyileşmesine Etkisi	29
1.4.7. Kurkuminin Kemopreventif Etkisi	30
1.4.8. Kurkuminin Kemoterapötik Etkisi	32
1.4.9. Kurkuminin Radyoprotektif Etkisi	32
1.4.10. Kurkuminin Antiaterojenik Etkisi	33
1.4.11. Kurkuminin Kardiyoprotektif Etkisi	33
1.4.12. Kurkuminin Obeziteye Etkisi	33
1.4.13. Kurkuminin Antitrombotik Etkisi	33
1.4.14. Kurkuminin Antimikrobiyal Etkisi	33
1.4.15. Kurkuminin Nöroprotektif Etkisi	34
1.4.16. Kurkuminin Klinik Kullanımı	34
2. GEREÇ VE YÖNTEM	36
2.1. Hayvan Materyali	36
2.2. Deneme Düzeni	36
2.3. Laboratuvar Analizi	38
2.3.1. Serum Üre ve Kreatinin Ölçümü	38
2.3.2. HPLC’de MDA Analizi	38

2.3.3. Western Blot Analizi ile Protein Ekspresyonunun Ölçümü	39
2.4. Histopatolojik Değerlendirme	39
2.5. İstatistiksel Analiz	40
3. BULGULAR	41
3.1. Üre ve Kreatinin Düzeyleri	41
3.1.1. Üre Düzeyleri	41
3.1.2. Kreatinin Düzeyleri	41
3.2. Serum MDA Düzeyleri	42
3.3. Böbrek Protein Ekspresyonlarının Düzeyleri	43
3.3.1. Böbrek OCT1 Ekspresyonu	43
3.3.2. Böbrek OCT2 Ekspresyonu	43
3.3.3. Böbrek OAT1 Ekspresyonu	44
3.3.4. Böbrek OAT3 Ekspresyonu	45
3.3.5. Böbrek MRP2 Ekspresyonu	46
3.3.6. Böbrek MRP4 Ekspresyonu	46
3.4. Histopatolojik Sonuçlar	48
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	61
6. ÖZGEÇMİŞ	82

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Antioksidan maddelerin sınıflandırılması	19
Tablo 2. Araştırmada kullanılan diyetin bileşimi	36
Tablo 3. Sisplatin nefrotoksitesisi oluşturulan ratlarda kurkuminin serum MDA, üre ve kreatinin parametreleri üzerine etkisi	41
Tablo 4. Kurkumin uygulamasının rat böbrek dokusundaki morfolojik değişiklikler üzerine etkisi	48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Sisplatinin moleküler yapısı	2
Şekil 2.	Kurkuminin kimyasal yapısı	23
Şekil 3.	Kurkuminin keto ve enol formu	24
Şekil 4.	Kurkumin metabolitlerinin kimyasal yapısı	25
Şekil 5.	Çalışma tasarımı	37
Şekil 6.	Gruplarda ratların serum üre düzeyleri	42
Şekil 7.	Gruplarda ratların serum kreatinin düzeyleri	42
Şekil 8.	Gruplarda ratların serum MDA düzeyleri	43
Şekil 9.	Gruplarda ratların böbrek dokusu OCT1 ekspresyon düzeyleri	44
Şekil 10.	Gruplarda ratların böbrek dokusu OCT2 ekspresyon düzeyleri	44
Şekil 11.	Gruplarda ratların böbrek dokusu OAT1 ekspresyon düzeyleri	45
Şekil 12.	Gruplarda ratların böbrek dokusu OAT3 ekspresyon düzeyleri	46
Şekil 13.	Gruplarda ratların böbrek dokusu MRP2 ekspresyon düzeyleri	47
Şekil 14.	Gruplarda ratların böbrek dokusu MRP4 ekspresyon düzeyleri	47
Şekil 15.	Gruplarda Western Blot bantları görünümü ve kontrol olarak β -aktin	48
Şekil 16.	Kontrol grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü	49
Şekil 17.	Kurkumin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü	49
Şekil 18.	Sisplatin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü	50
Şekil 19.	Kurkumin+sisplatin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü	50

KISALTMALAR LİSTESİ

ABY	Akut Böbrek Yetmezliği
BUN	Kan Üre Nitrojeni
CA	Canlı Ağırlık
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
GFR	Glomerüler Filtrasyon Hızı
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
IFN-γ	İnterferon-gama
IL	İnterlökin
i.p.	İntraperitoneal
İV	İntravenöz
MDA	Malondialdehit
Mg⁺	Magnezyum
MRP	Multidrug Resistance Protein
Na⁺	Sodyum
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF-κB	Nükleer Faktör-kappa B
NK	Natural Killer
OAT	Organik Anyon Transporter
OCT	Organik Katyon Transporter
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poli Akrilamid Jel Elektroforezi
TNF-α	Tümör Nekroz Faktör-alfa

1. GİRİŞ

Kanser hastalıkları dünyada en sık ölüme yol açan hastalıklar içinde erkekler arasında ikinci bayanlar arasında birinci sırada yer almaktadır. Genel olarak kanser hastalıkları tedavisi üç strateji üzerine kurulmuştur. En önemlisini kemoterapi uygulamaları oluştururken diğerleri ancak lokal tedaviye olanak sağlayan radyoterapi ve cerrahi uygulamalarıdır. Adjuvant, neoadjuvant ve palyatif amaçlarla oluşturulan kemoterapi uygulamaları kanser tedavisinin temelini oluşturmaktadır (1).

Antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ederler. Bu nedenle çoğu kanser ilacının normal hücre ve kan dokusu üzerine yan etkileri vardır (2).

Böbrek hücreleri, bölünme hızları yüksek olmamasına rağmen, yüksek kan akımı ile karşılaşması, medüller interstisyumda toksinleri konsantre etme yeteneği ve tübüler epitelde spesifik taşıyıcılara sahip olması nedeniyle toksik zedelenmeye oldukça duyarlıdır (3). Sisplatin, siklofosfamid ve yüksek doz sitozin arabinozidin nefrotoksik etkileri bilinmektedir. Kanser ilaçlarının nefrotoksik etkisi; serum elektrolit düzensizliği, serum kreatinin artışı ve glomeruler filtrasyon hızının azalmasından kalıcı böbrek yetmezliğine kadar ciddi boyutta olabilir (4).

Sisplatin; yüksek antitümöral aktivite gösteren ve oldukça geniş kullanım alanına sahip antineoplastik bir ajandır. Ancak oldukça etkili olan bu ajanın, doza bağlı olarak ortaya çıkan ve hastaların % 25'inde gelişen nefrotoksisite nedeniyle kullanım alanı sınırlanmaktadır (5, 6).

Sisplatine bağlı oluşan nefrotoksisiteyi ve diğer yan etkileri azaltmak için deneysel ve klinik çalışmalarda çeşitli ilaçlar kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda sisplatinin daha çok aşırı serbest radikal üretimiyle oksidatif renal hasar yaptığına dair kanıtlar ileri sürülmüştür. Bu yüzden ginko alkaloidleri, C vitamini, asetilsalisilik asit, ebselen, taurine, mizoprostol, bixin, lipoik asit, selenyum, flavonidler, dietil ditiyokarbamates, erdosteine, kafeik asit fenetil ester (CAPE), Nigella sativa ekstraktı gibi çeşitli antioksidan maddelerin deney hayvanlarında sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede önleyici rolleri çalışılmıştır (7-9).

Kurkumin (diferuloyl methane) genellikle; literatürde turmeric (Curcuma longa) halk arasında zerdeçal olarak bilinen antioksidan bir maddedir. Klinikteki

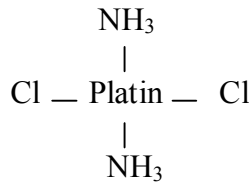
etkileri oldukça popüler bir ajan olan kurkuminin antioksidan, sitoprotektif, antiinflatuar ve antikanserojen etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur (10).

1.1. Sisplatin

Sisplatin birçok malignensinin tedavisinde kullanılan potent ve değerli bir kemoterapi ajanıdır (11).

Sisplatin 1960'lı yıllarda biyofizikçi Barnett Rosenberg tarafından tesadüfen keşfedilmiştir. Elektromanyetik radyasyon uygulamasının bakteri ve memeli hücrelerinin bölünmesi üzerine etkisini araştıran Rosenberg, *Escherichia Coli* ile yaptığı ilk deneylerde büyüme alanında platin elektrodları kullanmaktaydı. Platin elektrodlarının bulunduğu bu büyüme alanında bakterinin normalden 300 kat daha uzun olan filamanlara sahip olduğunu gözledi. Kısa sürede bu etkinin elektromanyetik alandan değil platin elektrodlarından ortaya çıkan elektroliz ürünlerinden kaynaklandığını gösterdi. Ayrıntılı kimyasal analiz sonucunda bu etkiye yol açan bileşenin ilk olarak 1845 yılında Peyron tarafından tanımlanan ve Peyron kloridi olarak da bilinen ve sonradan sisplatin adını alan platinin nötral bir *cis* izomeri olduğu saptandı. Bu bileşenin bakterinin hücre bölünmesini engellediği ancak diğer büyüme yapılarını engellemediği için çok uzun filamanların ortaya çıktığı gösterildi. Sisplatine ait bu bulgular 1965 yılında yayınlandı ve 1968 yılında sarkomlu bir farede intraperitoneal sisplatin uygulaması sonucunda tümör boyutunda belirgin gerileme olduğu gözlemlendi. İlk kez 1971 yılında kanser hastalarında başarı ile uygulanmaya başlanan ilaç Amerika Gıda ve İlaç kurumundan 1978 yılında onay almıştır (12). Sisplatin günümüzde de; akciğer küçük hücreli tümörleri, over, testis, mesane, baş-boyun kanserleri gibi solid tümörlerde ve refrakter lenfoma gibi hematolojik malignensilerde kullanılan geniş spektrumlu antineoplastik ilaçtır (13).

Sisplatin (cis-diamminedichloroplatinum II, CDDP) inorganik divalent, suda çözünebilen platinum içeren bir kompleksdir. İki değerlikli bir merkez atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor bağı içerir (14) (Şekil 1).



Şekil 1. Sisplatinin moleküler yapısı. Cl; klor, NH₃; amonyum (14).

Bileşik cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir. Sadece cis formu sitotoksik özelliğe sahiptir (15). Sisplatin, deoksiribonükleik asit (DNA) ile etkileşerek, zincir içi ile zincirler arasında ve en fazla da aynı DNA zincirindeki komşu guaninler arasında çapraz bağ oluşturur. Bu bağlar, DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu inhibe eder. Bu da kopma ve yanlış kopyaya neden olur. Ortaya çıkan DNA hasarı apoptozisi başlatır. Sisplatin ayrıca, hücre mitokondirisine zarar verir, ATPaz aktivitesini inhibe eder, hücreyi G2 fazında hapseder ve hücrel transport sistemini inhibe eder (16).

1.1.1. Sisplatinin Farmakokinetik Yapısı

Sisplatin gastrointestinal kanaldan emilmez, intravenöz (İV) veya intraperitoneal (i.p.) yolla uygulanır. İlacın % 90'dan fazlası plazma proteinlerine bağlanır (15). İV bolus olarak verilmesini takiben serbest sisplatin iki saat içinde plazmada tespit edilemez hale gelir. 1 mg/kg sisplatinin bir saatlik infüzyonu sonunda pik plazma düzeyleri oluşur, sonra hızla azalır. Sıçanlara sisplatin verilmesinden 30 dakika sonra böbrek, mesane, karaciğer, femur, böbrek üstü bezi ve ince bağırsaklarda plazmadan daha yüksek oranda sisplatin saptanır. İlacın prostat ve overlerdeki yoğunlukları da yüksek miktarlardadır (17). Sisplatinin merkezi sinir sistemine geçiş oranı düşüktür (18).

İnsan ve hayvan çalışmalarında ilk 24 saatte ilacın % 80'inin idrarla atıldığı tespit edilmiştir. İlacın % 8'i sonraki 24 saatte atılır. Sisplatinin safra kanalı yoluyla atılım oranı % 10'un altındadır (19).

Uzamış infüzyonlarda azalmış böbrek klirensi nedeniyle total sisplatin ve değişmeden atılan ilaç yüzdesi azalır. Böbrek yetmezliklerinde sisplatinin yarı ömrü uzar (18).

1.1.2. Sisplatinin Yan Etkileri ve Nefrotoksisite

Sisplatin tedavisine bağlı olarak bulantı-kusma, nefrotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite ve daha seyrek olarak da oküler toksisite gözlenebilir (20).

Nefrotoksisite, sisplatin tedavisinin en sık ve doz sınırlayıcı yan etkisidir (21). Böbrek; kanlanması fazla olması, medüller interstisyumda toksinleri konsantre edebilmesi ve tübüler epitelin spesifik taşıyıcılara sahip olması nedeniyle nefrotoksik hasarlanmaya oldukça duyarlıdır. Sisplatin ise oldukça güçlü bir tübüler toksindir ve özellikle düşük klor içerikli ortamlarda toksisitesi daha belirgindir. Düşük klor

içerikli ortamda sisplatinin *cis* pozisyonundaki klor molekülleri su ile yer değiştirmektedir. Böylece hücre içine geçiş kolay olmaktadır (22).

Rutin hidrasyon ve mannitol kullanımına rağmen hala böbrek yetmezliği insidansı anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır. Yoğun profilaktik önlemlere rağmen geri dönüşümsüz böbrek hasarı sisplatin ile tedavi edilen hastaların üçte birinde ortaya çıkmaktadır (23). Kreatinin klirensi 70 ml/dak'nın altında olanlarda ve 60 yaşın üzerindeki hastalarda risk artar. Şayet aminoglikozidler gibi nefrotoksik ilaç kullanımı da söz konusu ise yüksek sisplatin dozları ve hızlandırılmış infüzyon hızları böbrek hasarı riskini daha da artırır. Sisplatinin etkisi kümülatif ve doza bağımlıdır. Düşük dozlarda (≤ 40 mg/m²) böbrek hasarı genellikle geri dönüşümlüdür. Daha yüksek dozlarda (2 mg/kg veya 75 mg/m²) böbrek hasarı akut ve geri dönüşümsüz olabilir (18). Kreatinin klirensinin azalması sisplatin nefrotoksitesinin başlangıç klinik bulgularından olup, serum kreatinin yüksekliği de gözlenebilir (20, 24). Sisplatin alan hastaların % 25'inde 1-2 hafta süreli ve geri dönüşümlü azotemi meydana gelebilir. Kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin değerlerinde görülen bu yükselme hafif ve geri dönüşümlü ya da ağır ve geri dönüşümsüz olabilir. BUN ve kreatinin seviyelerindeki pik seviyelere tedavi sonrası 13. günde ulaşılır ve ortalama 21 günde normal seviyelere döner (20).

Böbrek yetmezlikli hastalarda kullanılacak sisplatin tedavisine yaklaşım ise net değildir. Sisplatin kullanılacak hastalarda serum kreatinin düzeyinin 2 mg/dl'den az olması veya glomerüler filtrasyon hızı (GFR)'nin 60 ml/dak'dan yüksek olması istenmektedir (25). Buna karşın, böbrek yetmezlikli hastalarda (GFR 46-60 ml/dak olanlarda % 25, GFR 31-45 ml/dak olanlarda % 50 doz azaltımı ile) doz azaltılarak sisplatin kullanımını öneren çalışma (26) olduğu gibi, ileri derecede böbrek yetmezliği olanlarda da sisplatinin kullanıldığı çalışma vardır (27).

Nefrotoksisite ile fonksiyonel olarak renal perfüzyon azalmakta, konsantrasyon defektleri ve nitrik oksit düzeyinde azalmayı içeren renal hemodinamide değişiklikler gelişmektedir (28).

1.1.3. Sisplatin Nefrotoksitesisi Patogenezi

Sisplatin nefrotoksitesisi üzerinde son 30 yıldır çalışmalar yürütülmektedir. Sisplatin uygulaması renal tübüler hücrelerde birçok sinyal yolağını aktive ederek hücre hasarı ve ölümle sonuçlanır. Sisplatin ayrıca renal damarsal yapılara hasar

vererek azalmış kan akımına ve böbreğin iskemik hasarına yol açarak GFR'nin azalmasına katkıda bulunur. Bu arada doku hasarını daha da arttıran güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşur. Tüm bu olaylar sonucunda sisplatin nefrotoksitesinde böbrek işlevini kaybeder ve akut böbrek yetmezliği (ABY) gelişir (29-31).

1.1.3.1. Hücresel toksisite

Sisplatinin hücreye alınması başlıca organik transport aracılı sistem ile olmaktadır (32). İnsan ve hayvan çalışmaları sisplatinin proksimal tübüllere alınmasında Organik Katyon Transporter (OCT) proteinin kritik bir rol üstlendiğini göstermiştir (29). Sisplatin proksimal tübülün S3 segmentinde en fazla oranda birirmektedir. Hatta proksimal tübül hücre konsantrasyonu serum konsantrasyonunun beş katına ulaşabilmektedir. Bunu sırasıyla distal toplayıcı tübül ve proksimal tübülün S1 segmenti izlemektedir (33). Hücre içinde sitozolde, mitokondri, nükleus ve mikrozomlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Düşük klor ortamında potent bir hücresel toksindir. Hücre içinde sisplatindeki klor atomları su molekülleri ile yer değiştirerek daha toksik platinum deriveleri oluşur. Proksimal tübül hücrelerinde sisplatin toksisitesinin morfolojik değişiklikleri tübüler nekroz, mikro villüslerin kaybı, lizozomların sayı ve boyutlarında değişiklik ve mitokondrial vakuolizasyon ile karakterizedir. Bu yapısal değişiklikler hücresel organellerin fonksiyonlarında bozulmayı da beraberinde getirir. Hücre hasarına iki patofizyolojik mekanizma yol açmaktadır. Bunlar; hücre içi protein sentezinin ve glutatyonun azalmasıdır (34). Sisplatinin atılımı başlıca glomerüler filtrasyon ile olur. Az bir kısmı ise tübüler sekresyon ile atılırken, tübüler reabsorpsiyonu yoktur. Sisplatin böbrekten atıldığı için böbrekte diğer organlardan daha fazla birirmektedir ve en fazla böbreğe zarar vermektedir (35).

1.1.3.2. Vazokonstriksiyon

Temel hasar yapıcı etkinin renal kan akımındaki azalma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Renal kan akımı azalması, GFR düşüşünden önce olur. Bu da ilacın tübüler nekroz oluşumuna yol açan primer etkisinin vaza rektada dolaşımı azaltmasından kaynaklandığı, bunun sonucunda da komşu S3 segmentlerinde hasar oluşturduğunu düşündürmektedir (36).

1.1.3.3. Proinflamatuvar etkiler

Sisplatin; tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlekin-6 (IL-6), interferon-gama (IFN- γ), T hücreleri, nötrofiller ve hücrel inflamatuvar cevabın diğer komponentlerinin farklılaşması, matürasyonu ve aktivasyonu sağlayan kaspazlar gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırmaktadır (37). Sisplatin ile oluşturulan ABY'nin deneysel modelinde böbrekte endotelial hücre adhezyon moleküllerinin artmış ekspresyonu ve sonrasında lökosit ve T lenfositlerinin böbrek dokusuna infiltrasyonu gözlenmiştir (38). Bu mediatörlerin potansiyel önemi bu inflamatuvar yollarda defekti olan sıçanlarda sisplatine maruziyeti takiben ABY'nin şiddetinin daha az olması ile gösterilmiştir. Sıçan modelinde oluşturulan sisplatin nefrotoksisitesinde TNF- α blokörü olan pentoksifilin kullanımının böbrek disfonksiyonunda ve histolojik değerlendirmede yapısal hasarda azalma sağladığı gösterilmiştir (37).

1.1.3.4. Proksimal tübüldeki etkiler

Tübüler hücre ölümü ile karakterize renal doku hasarı sisplatin nefrotoksisitesinin histopatolojik özelliklerinden biridir. Hücre ölümü nekroz veya apoptoz yolu ile olabilir (29). Hücre kültür çalışmaları, uygulanan sisplatin dozunun miktarının nekroz ya da apoptoza gidişi belirtebileceğini göstermiştir. Yüksek doz sisplatin konsantrasyonunun proksimal tübül hücrelerinde nekroza yol açarken daha düşük konsantrasyonların kaspaz-9 bağımlı yolak ile apoptoza yol açtıkları gösterilmiştir (39). Bunun yanısıra hayvanlarda *invivo* yapılan çalışmada sisplatin uygulamasının renal tübüllerde hem nekroz hem de apoptoza yol açtığı da gösterilmiştir (40). Sisplatin, toksisiteye daha az hassas olan çoğalmayan hücrelerde bile DNA hasarına neden olur (41). Bu toksisitenin muhtemel mekanizmaları arasında artmış böbrek tutulumu, sisplatinin proksimal tübül hücrelerinde glutatyon ve sistein-glisin konjugatlarına metabolize olması ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu gösterilmektedir (42).

Sisplatin ile oluşan nefrotoksisite için öne sürülen diğer hücrel etkiler:

- Sisplatin, renal hücreler içinde ATPaz aktivitesini anormal olarak azaltarak; mitokondrial hasara, hücre siklusunda duraklamaya ve hücrel transport sisteminin bozulmasına yol açabilmektedir (28).

- Sisplatin nefrotoksisitesinde, çok aktif bir renal endonükleaz olan DNAaz-1 enziminin önemli rolü olduğunu düşündüren bulgular vardır. Bu enzimin içinde yer aldığı kombine reaksiyonlar sonucunda apoptozis ve/veya nekrotik hücre ölümü gerçekleşmektedir (43).
- Proksimal tübülde yağ asidi oksidasyonunun inhibisyonundan dolayı, böbrek dokusunda *non-esterifiye yağ asidleri* (NFED) ve trigliseridlerin akümüasyonu ve hiperlipideminin indüksiyonu (44).
- Renal epitelyal hücrelerde *peroxisome-proliferator-activated-receptor-alpha* (PPAR- α) aktivitesinin direkt inhibisyonu (45).

1.1.4. Sisplatin Nefrotoksisitesinin Klinik Yansıması

Sisplatin nefrotoksisitesinin en önemli belirtisi ilerleyici olabilen renal bozulmadır. Diğer renal belirtiler hipomagnezemi, tuz kaybı, *Fanconi-benzeri sendrom* ve anemiye içermektedir.

1.1.4.1. Renal Bozulma

Renal bozulma insidansı ilacın uygulama dozu ve sıklığı, nefrotoksisiteyi tanımlamak için kullanılan kriterlere göre değişmektedir. Sisplatin ile yapılan başlangıç faz I ve faz II çalışmalarında nefrotoksisite gözlenmiştir ve yoğun hidrasyon rejimleri kullanılmadan önceki dönemlerde nefrotoksisite % 50 daha fazla görülmüştür (11).

Renal yetmezliğin bu insidans ve şiddeti tekrarlayan uygulamalarda artmakta ve daha ileriki dönemlerde geri dönüşümsüz olmaktadır. Sonuç olarak, ilerleyici böbrek yetersizliği geliştiğinde sisplatin tedavisinin kesilmesi endike olmaktadır.

Potent anti-tümör aktivitesine rağmen, sisplatin hematopoietik kök hücre transplantasyonu öncesi kemik iliği ablasyonu için gereken yüksek dozlarda şiddetli toksisite nedeni ile kullanılamaz. Bunun yerine daha az toksik bir analog olan karboplatin kullanılmaktadır (46).

Konsantrasyon defekti nedeni ile ciddi böbrek yetmezliğinde bile günlük idrar miktarı 1000 ml/gün üzerindedir. Bu durum sisplatinin ya henle kulpunda hasara yol açarak sıvı emilimi için gerekli olan meduller osmolariteyi azaltarak ya da antidiüretik hormonun toplayıcı tübüllerde etki yerlerinde hasara yol açarak yaptığını düşündürmektedir. Toplayıcı tübüllerdeki etkisi aquaporin su kanallarının ekspresyonunun azalması ile ilişkili olduğu bilinmektedir (47). Sisplatin

uygulanmasından sonra proksimal tübül hücrelerine geçişin OCT2 aracılığı ile olduğu yapılan in vivo bir çalışmada gösterilmiştir (30).

Sisplatine bağlı ABY genellikle nonoligürik şekilde olur. Sisplatin uygulaması tübüler reabsorpsiyonda bozulmaya ve idrar konsantrasyonunda azalmaya neden olur. Proksimal tübülde sodyum reabsorpsiyonu, distal tübülde de sodyum ve su reabsorpsiyonu artışı ile su ve sodyum (Na^+) atılımı artmıştır. Poliürinin iki ayrı safhası vardır. Birinci faz ilacın uygulanmasından 24-48 saat sonra gerçekleşir. İdrar ozmolalitesi azalır ancak GFR’de değişiklik gözlenmez. Bu fazın prostoglandin aracılığı ile olduğu düşünülmektedir; vazopressin ve aspirin ile engellenebilir. Erken fazda poliüri kendiliğinden düzelir. İkinci faz ise ilaç uygulamasından 72-96 saat sonra gerçekleşir ve GFR’de azalma ile karakterizedir. Bu fazda medüller tonisitede azalma ve proksimal tübül ve henle kulpunun çıkan kolunda sodyumklorür transportunda bozulma görülür. Bu faz herhangi bir ilaçla engellenemez. Birçok hasta idrarla sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum kaybeder ve bazılarında ortostatik hipotansiyon görülür (48).

Yapılan çalışmalarda sisplatinin hem proksimal hem de distal tübüllerde Na^+ reabsorbsiyon hızlarını etkilediği, renal Na^+ kaybının doza bağımlı olduğu ve hemen her zaman yüksek doz sisplatin tedavisine eşlik ettiği gösterilmiştir ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$). Hastalarda gözlenen Na^+ klirensindeki artışın tedaviyi izleyen 6 ay boyunca devam edebileceğine dikkat çekilmiştir (24).

1.1.4.2. Hipomagnezemi

Normal erişkinlerde filtre edilen magnezyum (Mg^+)’un sadece % 25’i proksimal tübülde reabsorbe edilir. Yapılan çalışmalarda sisplatin ($20 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$) ile 4-6 kür tedavi sonrasında hipomagnezeminin geliştiği gösterilmiştir (49). Bu çalışmalarda akut klinik tablo sıklıkla gözlenmemektedir. Bu durumun sebebi Mg^+ ’deki düşüşün yavaş olarak gözlenmesine bağlanmıştır. Yüksek doz sisplatin ile tedavi edilen hastalarda Mg^+ klirensinde belirgin bir artış ve plazma Mg^+ seviyesinde anlamlı düşüş gözlenmemiştir. Sisplatinin henle kulpunun çıkan kolunda Mg^+ transportunu değiştirdiği anlaşılmıştır. Proksimal tübülde Mg^+ reabsorpsiyonu azalması ile birlikte hastalara uygulanan serum fizyolojik infüzyonu da plazma Mg^+ seviyesinin düşmesine katkıda bulunmuş, hatta bu artış mannitol kullanımıyla % 40-50 oranında şiddetlenmiştir (30). Dikkat edilmesi gereken husus, tedavi ile

hipomagnezemi gelişebileceği gibi, kronik hipomagnezeminin de sisplatin nefrotoksisitesini arttırabileceğidir (50).

1.1.4.3. Trombotik Mikroanjiopati

Sisplatin bleomisin ile birlikte uygulandığında böbrek yetmezliğinin bir formu olan hemolitik üremik sendrom veya trombotik trombositopenik purpura gibi trombotik mikroanjiopatiye yol açabilir. Trombotik mikroanjiopati ayrıca gempitabin ile sisplatin verildiğinde de tanımlanmıştır (51).

1.1.4.4. Fanconi Benzeri Sendrom

Bu sendrom; glukoz ve aminoasitlerin (alanin, valin, lösin, metionin gibi) üriner konsantrasyonlarının artması ve trikarboksilik asit siklus (TCA) metabolitlerinin (laktat ve piruvat) idrarda bulunması ile tanımlanır. Glukozüri tübüler hasarın bir belirtisi olmasının yanında, sisplatin ile oluşan glukoz intoleransı ve glukoz uyarısına anormal insulin ve glukagon cevabı nedeni ile olan hiperglisemi sonucu da olabilir (44). Klasik Fankoni sendromu hiç bildirilmemiştir, ancak orta derecede tübüler disfonksiyon devam edebilir (52).

1.1.4.5. Tuz Kaybı

Klinik olarak belirgin tuz kaybı, vaka bildirimlerinde ve küçük klinik serilerde tanımlanmış olup sisplatin nefrotoksisitesinin nadir bir belirtisidir (53).

1.1.4.6. Anemi

Sisplatin sıklıkla anemi ile ilişkilidir ve bu diğer kan hücreleri üzerine olan myelosüpressif etkisinin dışındadır. İnsan ve hayvan çalışmaları sisplatin ile oluşan renal tübüler hasarın eritropoietin (EPO) eksikliğine yol açarak anemiye neden olduğunu düşündürmektedir (54).

1.2. Tübüler Taşıyıcı Sistemler

Daha önceki terminolojide Solid Carrier Superfamily (SLC22A) olarak adlandırılan bu taşıyıcı proteinler proksimal tübül hücrelerinin apikal ve bazolateral membranında yerleşmiş olup gerek endojen olarak üretilen gerekse dışarıdan alınan birçok anyon ve katyonu aktif olarak salgırlarlar.

1.2.1. Organik Katyon Transport Sistemi (SLC22A)

Proksimal tübül, renal organik katyon sekresyonunun gerçekleştiği esas nefron segmentidir. Organik katyonlar moleküler ağırlıklarına göre tip I ve tip II olarak sınıflandırılırlar. Tip I organik katyonlar tetraetilamonyum, tributilmetilamonyum ve

prosinamid etobromid gibi nispeten küçük (<400 mol wt) bileşiklerdir. Tip II organik katyonlar ise d-tubocurarine, vercuronium ve hexafluorenium gibi daha büyük (>500 mol wt) bileşiklerdir. Aktif olarak sekrete edilen endojen organik katyonlar arasında kolin, epinefrin ve dopamin sayılabilir. Ancak bu yolak daha çok alkaloidlerin, diyet orijinli heterosiklik bileşiklerin, tedavi veya destek amaçlı alınan katyonik ilaçların veya nikotin gibi katyonik çevresel toksinlerin vücuttan uzaklaştırıldığı bir mekanizmadır (55, 56).

Organik katyon sekresyonu basitçe, peritübüler kapillerlerdeki organik katyonların proksimal tübül epitel hücresine bazolateral taraftan girişi ve apikal membran tarafından lümene geçişi şeklinde olmaktadır. Tip I organik katyonların bazolateralden girişi kolaylaştırılmış difüzyonla veya elektronötral antiport yoluyla gerçekleşmektedir. Tip I organik katyonların lüminal membrandan çıkışı, transport proteinler aracılı hidrojen iyonu ile yer değiştirmesi şeklinde olmaktadır. Tip II organik katyonların proksimal tübül hücresine girişi difüzyon ile olmaktadır. Bu tip organik katyonların epitelyum hücresinden çıkışı apikal membranda yerleşmiş olan Multidrug Resistance Transporter 1 aracılı olmaktadır (55, 56).

Organik katyon transporterler, renal tübüler hücrelerde birçok katyonik molekülün apikal ve bazolateral membrandan transportuna aracılık ederler. İnsan ve hayvan çalışmaları sisplatinin proksimal tübüllere alınmasında OCT proteinin kritik bir rol üstlendiğini göstermiştir (29). Bu membran proteinleri tarafından yapılan transport polispesifik, elektrojenik, voltaj-bağımlı, her iki yönlü, pH-bağımsız ve Na-bağımsız özelliklere sahiptir. İnsanlarda OCT'nin üç izoformu tanımlanmıştır (30). Böbrekte OCT1 ve OCT2'ye nazaran OCT3 daha zayıf olarak ekprese olmaktadır. Ayrıca karaciğerde OCT1, plasentada ise OCT3 görülür (57).

Organik katyon transporter 2 sisplatinin hücre içine geçişinde önemli bir organik transport mekanizmasıdır. OCT1 sisplatin transportu yapmaz ve bu durum sisplatinin organa spesifik toksisitesini izah edebilir. Diğer sisplatin analogları karboplatin ve oksaliplatin OCT2 ile taşınmaz ve bu da bu ajanların daha az nefrotoksik olmasını izah edebilir (30).

Ludwig ve ark. (31) sisplatinin böbrek tübül hücresi bazolateral tarafa uygulanmasının apikal tarafa uygulanmasından daha fazla toksisiteye yol açtığını göstermişlerdir. OCT2 transportunda bir organik katyon kompetitörü olan

simetidininin de proksimal tübülde sisplatin ilişkili hücre apoptozunu azalttığı gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada diyabetik hayvanlarda OCT izotiplerinin gen ve protein ekskresyonu azalmış bulunup sisplatin toksisitesine daha dirençli oldukları saptanmıştır (58). İlginç şekilde, ratlarda tek ve toksik doz sisplatin yedi günde OCT2 mRNA düzeylerini azaltır. Bu da sisplatinin tekrar uygulanması durumunda hücre içine alınımına karşı defans oluşturur (59).

1.2.2. Organik Anyon Transport Sistemi (SLC22A)

Organik anyonların da renal sekresyonu primer olarak proksimal tübüllerde gerçekleşmektedir. Nispeten küçük (400-500 kDa'dan küçük) ve hidrofilik yapıdaki organik anyonlar; örneğin para-amino hıppurik asit, ürat, cAMP, cGMP Tip I organik anyonlar olarak tanımlanmaktadır. Safra asitleri ve glukronid konjugatlar gibi daha büyük (400-500 kDa'dan büyük) ve hidrofobik yapıda olan organik anyonlar ise Tip II organik anyonlar olarak adlandırılmaktadır. Ekzojen ve endojen metabolitlerin yanı sıra ilaçlar, bitkisel ve hayvansal toksinler dahil çok sayıda molekül organik anyon tanımına uymaktadır. Tip I organik anyonlar tercihen böbrekler aracılığı ile uzaklaştırılırken, Tip II'ler karaciğer üzerinden safra yoluyla vücuttan atılmaktadır (55, 56, 60).

Organik anyonların sekresyonu, organik katyonlara benzer şekilde peritübüler kapillerlerden epitel hücrelerine giriş ve ardından apikal membrandan lümene sekresyon olmak üzere iki basamakta gerçekleşmektedir. Peritübüler organik anyonun epitel hücrelerine girişi; sekresyonda hız kısıtlayıcı basamak olup, üçüncül aktif transportla gerçekleşmektedir. Bu basamakta, bazolateral membranda bulunan Organik Anyon Transporter (OAT) rol oynamaktadır. OAT1, OAT2 ve OAT3 olarak adlandırılan bu taşıyıcılar, organik anyonların intraselüler metabolizma sonucu oluşan α -ketoglutarat ile yer değiştirmesini sağlamaktadır. Organik anyonla yer değiştirip hücre dışına çıkan α -ketoglutaratın tekrar hücreye alınışı ve hücre içi konsantrasyonunun yüksek tutulması ise Na^+ -dikarboksilat kotransporter tarafından sekonder aktif transport ile sağlanmaktadır (55, 56).

Apikal membranda organik anyon transportu hakkında bilinenler daha az olmakla birlikte, transport proteini aracılı anyon eş değişimi ve elektrojenik

kolaylaştırılmış difüzyon mekanizmaları aracılı sekresyonun gerçekleştiği bildirilmektedir (55).

Organik anyon transporter 1'in ekspresyonu daha çok böbrekte ve çok az oranda beyinde koroid pleksusta ve plasentada gösterilmiştir. Böbrekte proksimal tübülün bazolateral membranında lokalize olan OAT1'in ekspresyonu, S2 segmentinde diğer segmentlere kıyasla çok daha fazladır (55).

Organik anyon transporter 1 bir organik anyon/dikarboksilat eş değıştiricisidir. Organik anyonların, hücre içinde metabolizma sonucu oluşan α -ketoglutarat ile yer değıştirerek hücre içine alınmasını sağlamaktadır. OAT1, paramimo huppurik asit gibi moleküler ağırlığı küçük olan hidrofilik organik anyonlar için daha yüksek afinite göstermektedir. OAT3 ile kıyaslandığında, OAT1'in paramimo huppurik asite olan afinitesi OAT3'ten 5-10 kat fazladır (61). OAT1'in paramimo huppurik asit dışında, dikarboksilat, siklik nükleotidler, prostoglandinler (PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$), ürat, beta-laktamaz antibiyotikleri, ACE inhibitörleri, folat ve metotreksat gibi antineoplastikler ve çevresel bileşiklerin de içinde olduğu yüzden fazla substratı vardır (55, 56, 60).

Organik anyon transporter 2 karaciğerde tanımlanmıştır; böbrekte OAT1 ve OAT3'den daha zayıf olarak bulunur (62).

Organik anyon transporter 3 fare, tavşan ve insan böbreğinde varlığı gösterilmiştir. OAT3, böbrekler dışında karaciğer ve beyinde de eksprese edilmektedir. İnsan ve sıçanlarda proksimal tübüllerin S1, S2 ve S3 segmentlerinde bazolateral membranda lokalize olduğu gösterilmiştir. Sıçan böbreğinde ayrıca çıkan kalın henlede, distal tübülde, kortikal ve medüller toplayıcı tübüllerde bazolateral olarak eksprese edilmektedir (55, 56, 60).

Organik anyon transporter 1 gibi organik anyon-dikarboksilat eşdeğıştiricisi olan OAT3, OAT1'e göre daha geniş bir substrat seçiciliğine sahiptir. Substratları arasında PGE_2 , esteron sülfat, dikarboksilat, okratoksin A, metotreksat ve paramimo huppurik asit bulunmaktadır. OAT1 küçük hidrofilik organik anyonlar için yüksek afinite gösterirken OAT3 amfipatik organik anyonları ve bazı organik katyonları da taşımaktadır. OAT1'e göre substrat seçiciliğinin daha geniş olması ve

renal ekspresyonunun daha fazla olması nedeniyle OAT3 insanda renal organik anyon transportunda daha belirgin bir role sahiptir (55, 56, 60).

Organik anyon transporter 1 ve OAT3 ekspresyonunun cinsiyet hormonları tarafından regüle edildiğine dair bulgular vardır (63). Buist ve ark. (64) farelerde ve sıçanlarda OAT1 ve OAT3 mRNA ekspresyonlarının her iki cinsde aynı olmadığını göstermişlerdir. Böbrekte OAT1 mRNA ekspresyonu ve karaciğerdeki OAT3 ekspresyonu erkek sıçanlarda dişilere kıyasla daha fazladır. Erkek sıçanlarda, hipofizektomi OAT1 ve OAT3 ekspresyonlarını azaltmaktadır. Dişi sıçanlarda hipofizektomi ile OAT3 ekspresyonu artmaktadır. OAT1 ekspresyonunun cinsler arasında farklı olduğu protein düzeyinde de gösterilmiştir. Dişi sıçanların böbreklerinde OAT1 ekspresyonu erkek sıçanların yalnızca % 40'ıdır. Renal korteksteki OAT1 ve OAT3 düzeyleri erkek farelerde dışidekinden daha yüksektir. Bu farklılıklar yalnızca yetişkin sıçanlarda gözlenmektedir (65).

Organik anyon transporterlerin cinsiyet hormonları dışında başka hormonlar tarafından da regüle edildiği gösterilmiştir. Bu hormonlar etkilerini protein kinaz C aktivitesini değiştirerek, OAT'lerin hücre içi luplarında bulunan protein kinaz C fosforilasyon bölgeleri üzerinden göstermektedir. Protein kinaz C aktivasyonu yaparak OAT1 ve OAT3 aktivitesini inhibe eden hormonlar arasında bradikinin, fenilefrin, anjiyotensin II ve parathormon vardır. OAT1 ve OAT3 gibi taşıyıcıların hormonal regülasyonu hem toksik hem de terapötik ksenobiyotiklerin renal klirensini değiştireceğinden önem taşımaktadır (66).

Kwon ve ark. (61) iskemi-reperfüzyon hasarının OAT1 ekspresyonunda azalışa neden olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar ayrıca, normalde proksimal tübül bazolateral membranında yerleşmiş olan bu taşıyıcıların iskemi-reperfüzyon hasarından sonra hücre içi dağılımının bozulduğunu ve sitoplazmada agregatlar halinde biriktiğini göstermiştir. Araştırmacılar, proksimal tübüldeki OAT1'lerin proteozomal degradasyona uğradığını düşünmektedirler. İskemi-reperfüzyon hasarının OAT1'in yanı sıra OAT3 mRNA ve protein düzeylerinde azalışa neden olduğu başka araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (67, 68).

İnsanda yapılan çalışmalar, organik anyon taşıyıcılarından OAT1 ekspresyonunun böbrek hastalıklarında azaldığını göstermiştir (69). Bu taşıyıcıların ekspresyonu yalnızca böbrek hastalıklarında değil karaciğer hastalıklarından da

etkilenmektedir. Akut safra yolları tıkanıklığı olan sıçanlarda OAT1 aracılı organik anyon sekresyonunun kompensatuar olarak artışı bildirilmiştir (70).

1.2.3. Çoklu İlaç Direnci İle İlişkili Protein Ailesi (ABCC)

Bir ilaca karşı direnç genellikle o ilaçta kimyasal yapı ve hücresel hedef bakımından farklı ilaçlara karşı da direnç gelişmesiyle beraberdir. Bu olaya Çoklu İlaç Direnci (Multidrug Resistance) denir. Antikanser ajanlara karşı direnç birçok tümörün karakteristik özelliğidir. Tümör hücrelerinin çoğul ilaç direnci Çoklu İlaç Direnci İlişkili Protein (Multidrug Resistance Protein, MRP) ekspresyonu ile oluşur. MRP, ATP bağımlı taşıyıcı proteinlerin süperailesi (ATP Binding Casette Superfamily Transporters)'ne ait olup, ATP bağımlı taşıyıcı proteinlerin şimdiye kadar bilinen en büyük protein grubudur. MRP ailesi ilk defa 1992 yılında tanımlanmış olup, şu ana kadar dokuz MRP tanımlamıştır. MRP'ler organik anyonik taşıyıcılardır. Örneğin metotreksat gibi anyonik ilaçları ve asidik ligandlar ile konjuge olmuş glukronat, glutatyon, sulfat gibi ilaçları taşırlar. MRP1, MRP2 ve MRP3 doğal organik ilaçlara karşı direnç geliştirirken, MRP4'ün nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rolü vardır (71, 72).

MRP1: 1992 yılında bir küçük hücreli akciğer kanseri hücre dizisinde keşfedilen MRP1, 16. (16p13) kromozom tarafından kodlanmaktadır ve 190 kDa ağırlığındadır. MRP1 bir integral membran proteinidir ve multispesifik organik anyon taşıyıcısı olarak düşünülmektedir. MRP1'in aşırı ekspresyonu vinka alkaloidleri, epipodofilotoksinler, doksorubisin, mitoksantrona karşı belirgin direnç oluşturmakta, daunorubisin ve epirubisine karşı da oldukça yüksek oranda direnç oluşturabilmektedir. İki ayrı mekanizma ile glutatyonun MRP1'e bağlı direnç oluşmasında rol oynamakta olup, ya MRP1'in bir substratı gibi ilacı bağlayabilmekte veya ilaçlar MRP1 tarafından glutatyon aracılıklı olarak taşınabilmektedir. MRP1 ayrıca modifiye olmamış ksenobiyotiklerin taşınmasında da görev almakta ve sıklıkla bu işlem için glutatyonla ihtiyaç göstermektedir (71).

MRP2: 10. (10q23) kromozom tarafından kodlanmaktadır. Kanaliküler multispesifik organik anyon taşıyıcısı (Canalicular Multispecific Organic Anion Transporter, cMOAT) olarak da bilinen MRP2, karaciğerden organik anyonların sekresyonunu sağlar (71, 73). Eksikliğinde bilirubin glukronid salınımı gerçekleşemez (Dubin-Johnson Sendromu) (74). En çok fonksiyon gördüğü yerler

karaciğer, böbrekler ve gastrointestinal sistemdir (72, 75). Genellikle direnç mekanizmasında MRP1 gibi rol oynarken, MRP2 aşırı ekspresyonunda gözlenen direnç MRP1 aşırı ekspresyonunda asla gözlenmez (75).

MRP3: 1997 yılında keşfedilen MRP3, 17. (17q21) kromozom tarafından kodlanmaktadır. MRP1'in en fazla homologu (% 58) olan proteindir. Organik anyonların taşınmasını sağlar. MRP1 ve MRP2'ye yapı olarak çok benzemesine rağmen, direnç mekanizmasında glutatyon aracılık etmez. En çok bulunduğu yerler karaciğer, pankreas, böbrek üstü bezleri, böbrekler ve gastrointestinal sistemdir. Karaciğerde organik anyonların kana salınımında ve safra tuzlarının uptake'inde rol oynar. Böbreküstü bezlerindeki rolleri bilinmemektedir (76).

MRP4: 13. (13q31) kromozom tarafından kodlanmaktadır. Nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rolü vardır. Ayrıca HIV ilaçlarına karşı da [azidotimidin monofosfat ve 9-(2-fosfonilmetoksietil)adenin] direnç oluşmasında rol oynamaktadır (77). MRP4'ün diğer MRP'lerden farklı olarak 1-5. transmembran domainleri eksiktir. Böbrekteki ekspresyonu proksimal tübül apikal membranı ile sınırlıdır. Konjuge veya konjuge olmayan bazı organik anyonların sekresyonuna aracılık etmektedir. Substratları arasında ürat, cGMP, cAMP, metotroksat, GSH, glukuronat ve fosfat konjugatları vardır (78).

MRP5: 3. (3q27) kromozom tarafından kodlanmaktadır. MRP4 gibi nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rolü vardır (79).

MRP6: 16. (16p13) kromozom tarafından kodlanmaktadır. En çok karaciğer ve böbreklerden eksprese edilmektedir. Dirençli tümör hücrelerinde MRP1 ile birlikte MRP6'nın da aşırı ekspresyonu izlenmektedir (80).

MRP7: 6. (6p21) kromozom tarafından kodlanmaktadır. Molekül yapısı MRP1, MRP2, MRP3 ve MRP6'ya çok benzemektedir. 6. kromozomun kısa kolunda kodlanan MRP6, bu kromozomu glutatyon metabolizmasındaki genler ile paylaşmaktadır. Glutatyon S-konjugatları ile ilgili ilaçlara karşı birlikte direnç oluşturmaktadır (81).

MRP8 ve MRP9: 16. (16q12) kromozom tarafından kodlanmaktadır. 2001 yılında MRP ailesinin iki üyesi daha keşfedildi ve literatüre ABCC11 (MRP8) ve ABCC12 (MRP9) isimleri ile katıldı. MRP8'in % 40'ı, MRP9'un % 42'si MRP5 ile identiktir ve diğer MRP'lerden yapısal olarak daha küçüktür. Fonksiyonel olarak

nükleozid analoglarına karşı direnç oluşmasında rol oynar ve bu özellikleri MRP4 ve MRP5'e benzer (81).

1.3. Oksidatif Sistem ve Antioksidan Savunma Sistemleri

1.3.1. Oksidatif Sistem

Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal türlerdir. Biyolojik sistemlerde, önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır (82).

Oksijen, aerobik hücrelerde enerji üretimi için oksidatif fosforilasyon işleminde zorunlu olarak kullanılır. Ancak bazı kimyasal formlarda son derece toksiktir. Oksijen moleküllerinin büyük bir kısmı mitokondride oksidatif fosforilasyon sırasında Sitokrom Oksidaz enzimleri ile suya dönüşmekte ve adenosin trifosfat eldesiyle enerji üretilmektedir. Ancak oksijen molekülünden suya indirgeme sırasında % 1-5 oranında serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır (83).

Serbest oksijen radikalleri sağlıklı kişilerde normal metabolizma sonucunda da oluşmakta ve vücuttaki antioksidan sistemler tarafından bertaraf edilmektedir. Oksidatif hasar, bu son ürünlerin yapımında artış veya antioksidan sistemlerin yetersizliği durumunda ortaya çıkan hücre hasarı veya hücrenin ölümü ile sonuçlanan durumdur. Serbest oksijen radikalleri hücrenin tüm molekülleri ile etkileşime girerken özellikle lipidlere olan etkileri ile lipid peroksidasyonu gelişir (84).

Oksidatif hasar sisplatin nefrotoksitesi patogeneğinde önemli bir mekanizmadır. Serbest oksijen radikalleri ksantin-ksantin oksidaz, mitokondri ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz ile oluşmaktadır. Sisplatin her üç yolla serbest oksijen radikali oluşumuna neden olmaktadır (85). Bununla birlikte sisplatin glukoz-6 fosfat dehidrogenaz ve heksokinaz aktivitesini artırarak serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir. Ayrıca antioksidan üretimini azaltmaktadır (86).

Sisplatin uygulaması böbrek tübül hücresinde intraselüler kalsiyum miktarını artırmaktadır. Bu ise mitokondri hasarına neden olarak serbest oksijen radikal üretimini tetiklemekte ve NADPH oksidaz sistemini aktive etmektedir (37). Sisplatin sonrası böbrekte superoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri artmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller ise hücre membranı lipitlerinin

peroksidasyonuna, proteinlerin ise yapısını bozarak hücrel hasara neden olmaktadır (86).

Sisplatinin hücrel antioksidan aktiviteyi ve böbrek dokusunda Süperoksid Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ve Katalaz enzimlerinin aktivitelerini azalttığı gösterilmiştir (87).

Sisplatine ait nefrotoksisite mekanizmaları göz önünde bulundurularak bu önemli yan etkiyi azaltmak amacı ile birçok strateji geliştirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalardan nefrotoksisite patogenezinde oksidatif hasarın önemli bir role sahip olduğu anlaşılmış ve nefrotoksisiteyi önlemeye yönelik antioksidan ajanlarla yapılan çalışmalar artmıştır (28).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) üretimi ile sonuçlanmaktadır (88). Antioksidan sistemlerin hasar görmesi sonucunda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın arttığı gözlenmiştir (89). Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA; deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi, iç membranın bazı özelliklerini değiştirmektedir. Ayrıca diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla reaksiyona girmektedir. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (88, 89).

Serbest oksijen radikalleri son derece reaktif ve kısa ömürlü olduklarından direkt ölçümleri zordur. Bu amaçla lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçülmesi en sık olarak uygulanan indirekt yöntemdir (88). İndirekt yöntemle ölçülen birkaç madde olmakla birlikte en kolay MDA ölçümü yapılabilmektedir (90).

1.3.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücreler, oksidatif hasarı önleyen, sınırlayan ya da kısmen tamir eden koruyucu mekanizmalara sahiptirler. Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma üç prensip içinde gerçekleşmektedir (91):

- a- Oluşan radikallerin detoksifikasyonu,
- b- Radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi,
- c- Radikal oluşumunun sınırlandırılması.

Protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddeye antioksidan denir. Normal

koşullarda, aerobik metabolizmanın ürettiği serbest oksijen radikalleri antioksidan maddeler tarafından sürekli olarak inaktive edilirler. Organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri inaktivasyon işlemini yapabildikleri sürece patolojik bir durum ortaya çıkmaz. Ancak denge antioksidanların aleyhine bozulduğunda potansiyel bir hasar meydana gelir ki buna oksidatif stres adı verilir. Oksidatif stres; lipid, karbonhidrat ve proteinler üzerine etki ederek, hücrede membran hasarı, karsinogenez veya mutajenez gibi olumsuz gelişmelere yol açabilir. Bu nedenle, serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar arasındaki dengenin korunması organizmanın canlılığını sürdürmesi açısından önemlidir (92).

1.3.2.1. Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar etkilerini 4 yol ile gerçekleştirirler (93):

1. Toplayıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme işlemiyle antioksidan etki oluşumu. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2. Bastırıcı Etki: Serbest oksijen radikaline bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltarak veya inaktif şekle dönüştürerek antioksidan etki oluşumu. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3. Onarıcı Etki: Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif strese Süperoksid Dismutaz enzim aktivitesinin arttırılması ile koruyucu etkinlik gerçekleştirilmesi.

4. Zincir Kırıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini kendine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyerek antioksidan etki oluşturulması. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

1.3.2.2. Antioksidanların Sınıflandırılması

Oksidatif hasarı önlemeye yönelik olarak endojen birçok enzimatik (Sitokrom Oksidaz, Süperoksid Dismutaz, Fosfolipid Hidroperoksid Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon S- Transferaz, Glutasyon Redüktaz, Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz, Katalaz gibi) ve non-enzimatik (E vitamini, β -karoten ve C vitamini) mekanizmalar mevcuttur. Ayrıca eksojen olarak gıdalarla alınan doğal veya farmakolojik amaçlarla kullanılan birçok antioksidan madde bulunmaktadır (88, 94).

Antioksidan maddelerin sınıflaması Tablo 1’de gösterilmiştir (94).

Tablo 1. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması (94).

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

1.3.2.3. Endojen Antioksidanlar

1.3.2.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

Sitokrom Oksidaz, Süperoksid Dismutaz, Glutatyon Peroksidaz, Glutatyon Redüktaz, Katalaz; serbest radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir (95).

1- Sitokrom Oksidaz Sistemi: Hücrelerdeki oksijenin % 95-99 kadarını etkisizleştirir. Yetmezlik durumunda diğer enzimler devreye girer (91).

2- Süperoksid Dismutaz (SOD): Süperoksit radikallerini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısındaki enzimlerdir. Serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunma Süperoksid Dismutaz enzimiyle gerçekleşir. Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz’dan farklı olarak serbest radikali substrat olarak kullanır (95).

Emzimin fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Süperoksid dismutaz aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. Süperoksid Dismutazın ekstrasellüler aktivitesi düşüktür. Organizmada oksidan stresin attığı klinik durumlarda Süperoksid Dismutaz enzim aktivitesi artarak koruyucu etkinliğini devam ettirir. Üremi, Down Sendromu, karaciğer hastalığı, böbrek yetmezliği olan hastaların eritrositlerinde Cu-Zn Süperoksid Dismutaz enzim aktivitesi yüksek bulunmuştur (96).

3- Glutasyon ve Glutasyon Enzimleri: Glutasyon enzimleri 3 ana grupta toplanır (94).

- a- Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
- b- Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz (PGSH-Px)
- c- Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon Peroksidaz selenyum metali içeren metalloenzim grubundan bir antioksidan enzimdir. Redükte glutasyonu okside glutasyona çevirirken hidrojen peroksiti suya indirger (97).

4- Glutasyon Redüktaz ve Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz: Antioksidan savunma etkinliğinin sürdürülmesi için oksitlenmiş glutasyonun tekrar indirgenmiş şekle dönüşmesi gerekir. Glutasyon Redüktaz NADPH varlığında oksitlenmiş glutasyonun indirgenme reaksiyonunu katalizler. Bu oksido-redüksiyon enziminin koenzimi NADPH, prostetik grubu ise flavin adenin dinükleotitdir (FAD). Sitozol ve mitokondride lokalizedir. Şelat yapıcı ajanlar ve steroid hormonları Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz enzimini inhibe ederler (94).

5- Katalaz: Katalaz glikoprotein yapısında antioksidan enzimdir. Dokulardaki antioksidan aktivitesi farklılık göstermekle birlikte en yüksek aktivite böbrek dokusundadır (98). Hidrojen Peroksitin (H_2O_2) indirgenmesini katalizler, ancak Katalaz Hidrojen Peroksitin üretildiği tüm hücresel komponentlerde bulunmaz. Bu nedenle radikallere karşı korumada ikincil derecede önemli olduğu kabul edilir ve % 20 oranında stoplazma, % 80 oranında peroksizomlarda lokalizedir. Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit, metil hidroperoksit, etil hidroperoksit gibi

küçük molekülü hidroperoksitlere karşıdır; büyük molekülü hidroperoksitlere etki etmez (94, 95).

1.3.2.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

1- E Vitamini: Tüm hücrel membranlarda bulunur ve lipid peroksidasyonuna karşı koyucudur. Singlet oksijenin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca hidroksil radikali, peroksi radikali ve süperoksitlerle direkt olarak reaksiyona girebilir. Önemli bir endojen ve eksojen antioksidan olarak hücre membranı bütünlüğünün korunması α -tokoferolün başlıca görevlerinden biridir (84).

2- β -Karoten: A vitamini ön maddesi olan beta karoten etkili bir singlet oksijen ve radikal tutucu antioksidandır. Beta karoten çok etkin olarak triklormetilperoksil radikallerini indirger ve hücrel membranlarda bulunur (91).

3- C Vitamini: Biyolojik ortamların çoğunda askorbat olarak bulunan C vitamini hücre dışı sıvıların en önemli antioksidanıdır. Askorbat hidrojen peroksit, hipoklorit, süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini ve singlet oksijeni tutar. C vitamini fizyolojik ve yüksek konsantrasyonlarda antioksidan etkilidir (91, 95).

1.3.2.3.3. Diğer Nonenzimatik Endojen Antioksidanlar

Bazı durumlarda albumin, ürik asit, sistin, bilirubin, seruloplazmin, transferrin, ferritin, keratinin, laktoferrin, östrojenler gibi ufak moleküller de serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar.

1.3.2.4. Eksojen Antioksidanlar

1- Besinlerdeki Doğal Antioksidanlar: Vitamin A, C, E ve β -Karoten

2- Besinlere Eklenen Antioksidanlar

1.3.2.5. Diğer Antioksidanlar (Farmakolojik)

Çok sayıda ilaç ve kimyasal madde serbest radikallerle oluşan hasarı azaltmak ya da engel olmak için kullanılmaktadır. Deneysel olarak değişik sitoprotektif etkileri gösterilmiş birçok antioksidan vardır.

Allopürinol ve ebselenin beraber kullanımının ratlarda nefrotoksisite ve ototoksisiteyi azalttığı gösterilmiştir. Ksantin Oksidaz inhibitörü olan allopürinol serbest oksijen radikali üretimini azaltmaktadır. Ebselen Glutasyon Peroksidaz'a benzeyen özellikleri nedeni ile peroksinitriti etkin bir şekilde ortadan kaldırır ve glutasyon ve diğer tiyoller varlığında lipid peroksidasyonunu engeller (99).

Erdostein'in Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz enzim aktivitesini arttırarak oksidatif strese karşı hücreyi koruduğu gözlenmiştir (86). Edavorone ve N-asetilsistein azalmış glutatyon depolarının tekrar artmasına yardımcı olurlar (100).

Yapılan hayvan çalışmalarında antioksidan özelliklere sahip olan glutamin, kaspaisin, silmarin, vitamin C ve vitamin E gibi ajanların nefroprotektif özellikleri saptanmıştır (28, 48).

Kurkuminin, vitamin C ve E ile karşılaştırılabilir antioksidan aktivitesi mevcuttur (101).

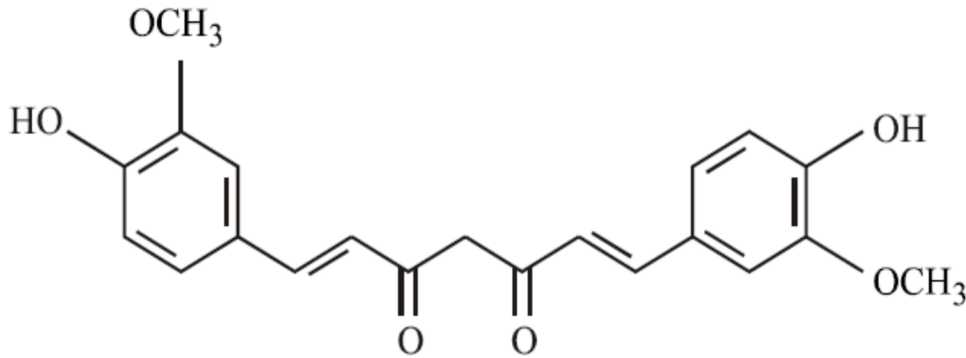
1.4. Kurkumin

Zingiberaceae ailesinin bir üyesi olan *Curcuma longa* çok yıllık bir bitki olup ana vatanı Güney Asya'dır (102). Ana üreticisi Hindistan olmakla beraber Bangladeş, Çin, Endonezya, Karayip adaları ve Güney Amerika'nın birkaç ülkesinde de yetiştirilir (103). *Curcuma Longa* sarı çiçekli, büyük yapraklı ve rizomlu çok yıllık otsu bir bitkidir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir. Acımsı bir tadı vardır. Bu bitkinin köklerinden elde edilen Turmeric Hindistan'da yüzyıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır (104). Geçmişte sonsuz hayat kaynağı olarak adlandırılan turmericin tarihi 5000 yıl öncesine kadar dayanmaktadır. İlk olarak Marco Polo'nun 1280 yılında Hindistan ve Çin'e yaptığı seyahatler sırasında yazdığı notlarda adı geçen turmeric, Avrupaya 13. yüzyılda Arap seyyahlar tarafından getirilen bir baharattır (105). Turmeric gıda endüstrisinde renklendirici, koruyucu ve aromatan olarak kullanılır. Ayrıca Japonya'nın çeşitli bölgelerinde çay olarak da tüketilmektedir (106). Ülkemizde Hint safranı, sarı boya, zerdeçal, zerdeçöp, safran kökü olarak adlandırılan turmeric daha çok baharat olarak kullanılmaktadır. Safranbolu yöresinde yetişen zerdeçal Türkiye'de soğuk algınlığında, hazımsızlığı gidermede ve gaz söktürücü olarak kullanılmaktadır (107). Kurkumin köri baharatının ana komponentidir (108). Bir silme tatlı kaşığı turmeric 3 gramdır ve ortalama 30-90 mg kurkumin içerir. *Curcuma Longa* bitkisinin rizomlarından elde edilen tozunun yaklaşık 1:30-1:100 kadarını kurkumin oluşturur (104). Turmericten fenolik yapıda üç ana bileşik izole edilmiştir: kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin. Yakın bir zamanda ise siklokurkumin izole edilmiştir (106, 109). Turmeric aseton içinde eritildikten sonra kromatografik

yöntemle subfraksiyonlara ayrılarak % 77 kurkumin, % 17 dimetoksikurkumin ve % 3 bisdemetoksikurkumin izole edilir (104).

1.4.1. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri

İlk olarak Vogel ve Pelletier (110) tarafından 1815 yılında $C_{21}H_{20}O_6$ olarak formüle edilen kurkumin, daha sonra 1910 yılında, Lampe ve ark. (111) tarafından diferuloylmethane olarak adlandırılmış ve Lampe ve Milobedzka (112) tarafından 1913 yılında bileşik ilk olarak üretilmiştir. Kurkuminin kimyasal adı IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) tarafından (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxy-phenyl) hepta-1,6-diene-3,5-dione) olarak belirlenmiştir (112). Kurkumin suda çözünmeyen, çeşitli organik çözücüler (Etanol, Dimetilsülfoksit, Kloroform, Aseton) ve yağda iyi çözünen; asitli bileşiklerle temas ettiğinde koyu kırmızı renge dönüşen fenolik yapıda bir bileşiktir (111). Kurkuminin kimyasal yapısı Şekil 2’de gösterilmiştir (108). Kurkumin, β pozisyonunda bağlanmış 2 keton grubu içerir. Bu yapı antioksidan olmasında rol oynar (113).

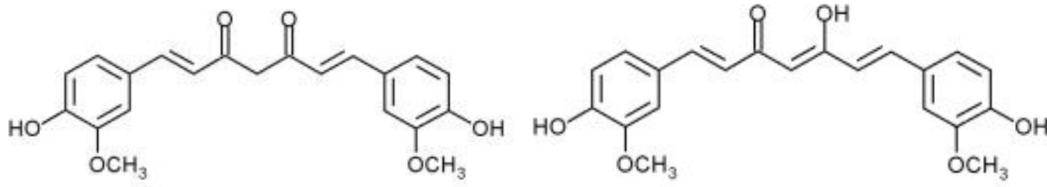


Şekil 2. Kurkuminin kimyasal yapısı (108).

Kurkuminin keto ve enol formu bulunmaktadır (Şekil 3) (114). Keto formu asidiktir ve nötral sıvı solusyonlarda ve hücre membranlarında bulunmaktadır. pH: 3-7 aralığında kurkumin güçlü bir H atom donörüdür. Buna karşın pH: 8’in üzerinde enol form hakimdir ve kurkumin bir elektron donörü gibi hareket etmektedir ki bu fenolik antioksidanların çöpçü aktivitesi için tipik bir mekanizmadır. Kurkumin bazik pH’a karşı dayanıksızdır ve 30 dakika içerisinde *trans*-6-(4’-hidroksi-3’metoksifenil)-2-4-diokso-5-hekzanal, ferulik asit, feruloilmetan ve vanilline indirgenir (106).

Moleküler ağırlığı 368.37 g/mol ve erime noktasıda 183°C’dir (106). Spektrofotometrik olarak metanolde 430 nm’de, asetonda 415-420 nm’de maksimum

absorpsiyon gösterir (109). Kurkuminin miktar tayininde HPLC (High Performance Liquid Chromatography) sıklıkla kullanılmaktadır (115). Ayrıca HPTLC (High Performance Thin-Layer Chromatography) (116), UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) (117), LC-MS/MS (Liquid Chromatography–Mass Spectrometry/Mass Spectrometry) yöntemleri de literatürde mevcuttur (118).



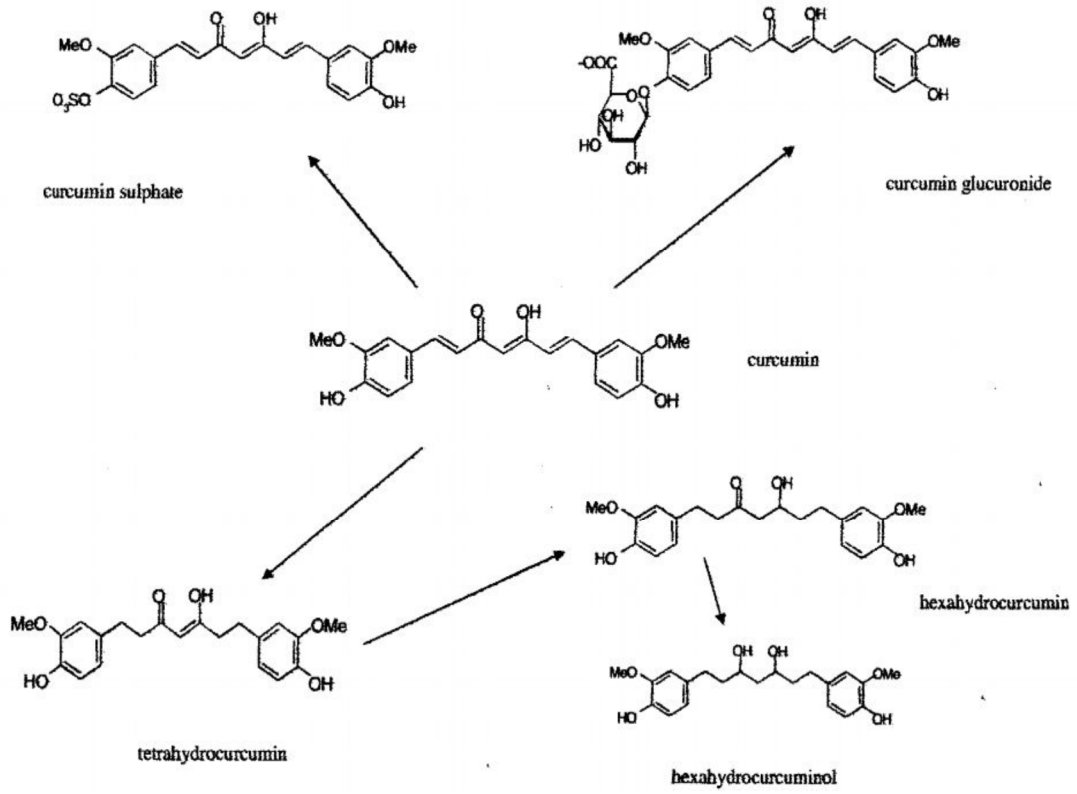
Kurkumin keto form

Kurkumin enol form

Şekil 3. Kurkuminin keto ve enol formu (114).

1.4.2. Kurkuminin Farmakokinetik Özellikleri

Wahlstrom ve Blennow (119), oral yol ile alınan kurkuminin % 75'inin değişmeden feçes ile çok az miktarda da idrarla atıldığını belirlemiş, bununla birlikte, emilim oranının ise çok düşük düzeylerde olduğunu saptamışlardır. Buna karşın, Ravindranath ve Chandrasekhara (120), 1980'de diyetle alınan kurkuminin % 60 oranında emildiğini ve büyük oranda idrar ile atıldığını ileri sürmüşlerdir. Milobedzka ve ark. (121) bileşiği H^+ iyonu ile işaretleme yöntemi sayesinde, kurkuminin farmakokinetik özelliklerini son yıllarda tam olarak ortaya koymuştur. Buna göre diyetle alınan kurkuminin büyük bir kısmının gaita ile atıldığı ve vücuttan uzaklaştırılan kısmın, üçte birinin hiçbir değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir. İV ve i.p. uygulanan kurkuminin ise uygulamadan hemen sonra hızlı bir şekilde safra kanallarına geçtiği ve burada metabolize edilerek yine gaita ile atıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca kurkuminin, vücutta glukronik asit (glukronidasyon) ve sülfatla (sülfasyon) birleştirilerek metabolize edildiği ve sonuçta, trans-6-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-4diokso-5-hexenal başta olmak üzere, vanillin, ferulik asit ve ferulol metan bileşiklerine dönüştürüldüğü tespit edilmiştir. Kurkumin metabolitlerinin kimyasal yapısı Şekil 4'de gösterilmiştir (106). Böylece kurkuminin, glukronidasyon ve sülfasyon yolu ile metabolize edilen, büyük oranda gaita atılan, biyoyararlanımı düşük ve yarı ömrü oldukça kısa olan bir bileşik olduğu sonucuna varılmıştır (121).



Şekil 4. Kurkumin metabolitlerinin kimyasal yapısı (106).

Eğri altındaki alan değerleri 10 mg/kg dozda İV yolla uygulandığında 7.2 ± 1.2 min. $\mu\text{g/mL}$ iken 500 mg/kg oral doz için 3.6 ± 0.6 min. $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Farelere oral yolla 1 g/kg dozda verildikten 15 dakika sonraki plazma kurkumin konsantrasyonu 0.13 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuş, maksimum plazma konsantrasyonuna (0.22 $\mu\text{g/mL}$; C_{maks}) ise 6 saat (t_{maks}) içinde ulaşılmıştır. Kurkumin i.p. yolla uygulandığında (0.1 g/kg) ise 15 dakika içerisinde maksimum plazma konsantrasyonuna (2.25 $\mu\text{g/mL}$) ulaşılmış ve 1 saat içerisinde de hızla düşmüştür. Oral yolla (1 g/kg) verildikten 1 saat sonra kurkuminin yüksek oranda (117 $\mu\text{g/g}$) barsakta bulunduğu gösterilmiştir. Dalak, karaciğer ve böbrekte daha az miktarlarda (26.1 $\mu\text{g/g}$, 26.9 $\mu\text{g/g}$, 7.5 $\mu\text{g/g}$) kurkumine rastlanırken beyin dokusunda en düşük oranda (0.4 $\mu\text{g/g}$) bulunmuştur (113). Kurkuminin biyoyararlanımının insanlarda da düşük olduğu bulunmuştur. Kurkuminin biyoyararlanımının düşük olmasının ana nedeni presistemik metabolizasyona uğramasıdır. Ayrıca çözünürlüğünün düşük olması (pH: 5.0'da maksimum çözünürlük 11 ng/mL) ve gastrointestinal kanal sıvılarına dayanıksız olması da biyoyararlanımının düşük olmasına yol açmaktadır (122).

Kurkuminle yapılmış hayvan çalışmalarında 5 g/kg'ın üzerindeki dozlarda bile toksisite bulgularına Sprague-Dawley ratlarında rastlanmamıştır. Sistemik prelinik çalışmalarda Amerika Ulusal Kanseri Enstitüsü Korunma Bölümünde ratlarda, köpeklerde, maymunlarda 3.5 g/kg üzerindeki dozlarda 3 aydan uzun kullanımda yan etki saptanmamıştır (123). Kurkumin yüzyıllardır herhangi bir yan etkisi rapor edilmeksizin gıda katkı maddesi olarak kullanılmıştır. İnsanlarda, kurkumin 6 g/gün olacak şekilde 3 ay boyunca diyetle alındığında herhangi bir yan etki görülmemiştir (124). Bir faz 1 klinik çalışmasında da kurkuminin 12 g/gün gibi yüksek dozlarda alındığında bile toksik etkisi olmadığı bildirilmiştir (125). Sağlıklı gönüllülerle yapılan bir çalışmada 10 ve 12 gram dozda oral yolla kurkumin uygulanmasının ardından sadece bir gönüllüde baş ağrısı (muhtemelen tedaviye bağlı değil), iki gönüllüde ise kurkuminin gastrointestinal kanaldan düşük absorpsiyonuna bağlı olarak sarı-yumuşak bir dışkılama görülmüştür (122).

1.4.3. Kurkuminin Antioksidan Etkileri

Kurkuminin antioksidan özellikleri böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer iskemisi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (101). Kurkuminin antioksidan etkinliği ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünün engellenmesi (126), lipid peroksidasyonunun önlenmesi (127), hücre içi glutatyon seviyesinin yükseltilmesi (128) ve demir iyonuna bağlanma isteğinin artmasından (129) kaynaklanabileceği de belirtilmiştir. Kurkumin Katalaz, Süperoksid Dismutaz ve Glutatyon Peroksidaz enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır (130).

Kurkuminin yapısındaki fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle fenoksil radikali oluşmaktadır (131). Jovanovic ve ark. (132) tarafından yapılan bir çalışmada, kurkuminin mükemmel bir H^+ iyonu vericisi olduğu ve verilen H^+ iyonunun daha çok metil grubundan koptuğu belirlenmiştir. Benzer olarak yapılan diğer bir çalışmada, verilen iyonun kaynağı fenol grubu olarak tespit edilmiş, böylece kurkuminin çift yönlü çalışan, güçlü antioksidan bir bileşik olduğu ortaya konulmuştur (133). Ayrıca kurkuminin primer metaboliti tetrahidrokurkumin, antioksidan β diketo etki ile birlikte iki karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağını yıkarak antioksidan etki yapar. Bu antioksidan etkileriyle

serbest oksijen radikallerinin oluşumunu doğrudan veya ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünün inhibisyonu ile dolaylı etkileyerek olmaktadır (134).

Kurkuminin böbreklerde oksidatif hücre hasarına karşı lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (135). Kurkumin ile yapılan tedavilerde böbreklerde iyileşmeler görüldüğü kaydedilmiştir. Kurkumin etkisi ile apoptozisle ilgili genlerin ekspresyonu engellenmektedir (136). Kurkuminin kolesterol ile beslenmiş tavşanlarda koruyucu etkisinin yanında, H₂O₂ uygulanmış insan renal epitelyal hücrelerde de koruyucu etkisi gösterilmiştir (135, 137).

Kurkuminin iskekiye bağlı myokard hasarını fare, kedi ve tavşan modellerinde azalttığı gösterilmiştir (134).

Kurkumin tedavisi ile total süperoksit dismutaz aktivitesinin arttığı, MDA konsantrasyonunun ve myeloperoksidaz aktivitesinin azaldığı belirtilmektedir. Ayrıca karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarından sonra antioksidatif biyomolekül ekspresyonunu artırıp, nötrofil infiltrasyonunu ve reaktif oksijen metabolitlerini azalttığı Shen ve ark.'nın (138) yaptıkları çalışmada gösterilmiştir. Ratlarda kurkumin tedavisi ile reperfüzyondan sonra nitrik oksit sentaz aktivitesi azalmıştır. Fakat endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesi etkilenmemiştir. Chan ve ark.'nın (139) yaptıkları bir çalışmada ise lipopolisakkarit enjekte edilmiş sıçan karaciğerinde oral kurkumin tedavisi ile nitrik oksit sentaz ekspresyonunu % 50-70 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Kurkuminin diete eklenmesi ile nörodejeneratif hastalıklardan olan Alzheimer hastalığından korunulmuş olduğu gösterilmiştir (140). Fare fokal serebral iskemi modellerinde kurkuminin belirgin nöro koruyucu etkinliği; lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve peroksinitrit (OONO⁻) oluşumunu azaltması ile oluşmaktadır (141).

Yüksek glikoz konsantrasyonu oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonunu ve proteinlerin glikozilasyonunu arttırmaktadır. Bu, glikozun otooksidasyonu ile ortaya çıkan aşırı oksijen radikal oluşumu, glikozile olmuş proteinler veya sitokrom P-450'ye benzer aktivite ile NADPH'nin aşırı üretimi ile olmaktadır (142). Kurkumin eritrositlerde proteinlerin glikolizasyonu ile lipid peroksidasyonunu yüksek glikoza maruz kalımda azaltmaktadır. Kurkumin, farelerde

Streptozotocin ile oluşturulmuş diabetes mellitusta serbest oksijen radikali oluşumunu azaltmıştır (143).

Kurkuminin stresle indüklenmiş Hsp 70 ekspresyonunun potent bir stimülatörü olduğu bildirilmiştir. Kurkumin ayrıca ısı veya toksik nedenlerden olan streslere karşı da koruyucu etki gösterir (144). Hem Ghoneim ve ark. (145) hem de Madan ve ark.'nın (146) çalışmalarında kurkumin, dokuda antioksidan enzim ekspresyonunu ve aktivitesini artırmakta, nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmektedir. Bu durum değişik stres faktörlerinde hücrel koruyucu etki göstermektedir.

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerine kurkuminin etkileri doza bağımlı olarak incelendiğinde doz artışına paralel olarak enzim aktivitelerinde artış görülmektedir. Piper JT ve ark. (147) kurkuminin 1 mg/kg ile 500 mg/kg arasında değişen dozlarda enzim düzeylerinde anlamlı değişiklikler tespit etmişlerdir. Ancak maksimum artış 75-500 mg/kg dozlarında sağlanmaktadır.

1.4.4. Kurkuminin Antiinflamatuvar Etkisi

Kurkuminin antiinflamatuvar etkiyi birkaç farklı mekanizmayla oluşturduğu ve bu mekanizmaların başında, proinflamatuvar ajanların salınımını düzenleyen NF-κB transkripsiyon faktörü aktivasyonunun engellenmesinin olduğu saptanmıştır (148). Bununla birlikte adı geçen etkiye; proinflamatuvar enzimler olan siklooksijenaz-2 (COX-2) ile 5-lipooksijenaz (5-LOX) enzimlerinin oluşumunun engellenmesi ve açığa çıkan enzimlere kurkumin bileşiğinin bağlanarak aktivitelerinin baskılanmasının da aracılık ettiği tespit edilmiştir (141). Kurkuminin aynı zamanda, inflamatuvar etkinin oluşmasında görevli sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-6) ve hücre yüzeyinde bulunan adhezyon moleküllerinin oluşumunu baskılayarak antiinflamatuvar etki oluşturduğu da belirlenmiştir (149).

1.4.5. Kurkuminin İmmunomodülatuar Etkisi

Bağışıklık sisteminde, tümör hücrelerinin yok edilmelerinde görevli sitokinlerden TNF aktivasyonu başta olmak üzere, pek çok sitokin ve diğer humoral bağışıklık sistemi elemanlarının aktivasyon veya baskılanmasına neden olan kurkuminin, bu etkilerini aril hidrokarbon reseptörleri aracılığında oluşturduğu tespit edilmiştir (150).

Kurkuminin bağışıklık sisteminde; T hücreleri, B hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, Natural Killer (NK) hücreleri ve dendritik hücreleri etkileyerek immunomodülatör bir etki oluşturduğu deneysel olarak ortaya konulmuştur (151).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada; düşük doz kurkuminin dalakta T lenfosit proliferasyonunda artmaya neden olduğu ancak, yüksek doz uygulamalarında aynı hücre oluşumlarını baskıladığı tespit edilmiştir (152). Diğer bir çalışmada ise kurkumin tedavisinin, bağırsakta CD3 alt tipi T lenfositlerde artmaya neden olduğu, aynı şekilde B hücre proliferasyonunu arttırarak immunstimulatör etki oluşturduğu belirlenmiştir. Böylece, kurkuminin T ve B hücrelerinin aktivasyon ve proliferasyonunu, aril hidrokarbon reseptörleri aracılığıyla düzenlediği tespit edilmiştir (153). Ayrıca, makrofaj hücre aktivasyonunda düzenleyici etkisi bulunan kurkuminin, doza bağlı olarak peritoneal makrofajların fagositoz yeteneklerini arttırdığı bildirilmiştir (152). South ve ark. (154) ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, 1 ve 20 mg/kg dozunda kurkumin verilen hayvanlarda NK hücre aktivitesinde bir değişiklik olmazken, 40 mg/kg dozunda uygulanan kurkuminin NK hücre ve IgG aktivitesini arttırdığını belirlemişlerdir.

Doğal bağışıklığın en önemli elemanlarından olan sitokinlerin, kurkumin tarafından sitokin tipine göre farklı şekilde etkilendiği bilinmektedir. Başta TNF- α olmak üzere IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 ve IL-12 gibi pek çok sitokinin, kurkumin tarafından salınımı ve serumdaki miktarının değiştiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (149, 155). Siddiqui ve ark. (156) tarafından deneysel olarak sepsis oluşturulan ratlar üzerinde yapılan bir araştırmada, kurkumin verilen hayvanlarda, verilmeyenlere göre doku hasarı ve ölüm oranlarının oldukça düşük olduğu, aynı şekilde TNF- α düzeyinin de kurkumine bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Özetle, proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve IL-12 ile kemokinlerin kurkumin tarafından salınımının düzenlendiği ve bu etkiye transkripsiyon faktörlerinden NF- κ B ile aril hidrokarbon reseptörlerinin aracılık ettiği düşünülmektedir (151).

1.4.6. Kurkuminin Yara İyileşmesine Etkisi

Kurkumin, fibroblastlar tarafından meydana getirilen kollajen ve fibronektin ekspresyonunu uyarır ve canlı ortamdaki granülasyon dokusunun oluşumunu arttırır (157). Ayrıca yara iyileşmesi sırasında büyüme faktörlerinin ekspresyonunu,

reseptörlerini ve nitrikoksit sentezini düzenler (158). Diabetik hastalarda yaranın daha hızlı bir şekilde iyileşmesini, neovaskülarizasyonu ve daha büyük hücresel içeriği kapsayan granülasyon dokusunun oluşmasını artırır (159). Ayrıca, kurkuminin travmadan sonra kas rejenerasyonunu arttırmaya yönelik faydalı etkileri gözlenmiştir (160). Son çalışmalar kurkuminin yara tamirinde antioksidan etkisi ile hidrojen peroksidin sebep olduğu zararı önlediği de kanıtlanmıştır (161). Farelerde ülser modelinde glutatyon tüketimini, lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu engelleyerek anti-ülser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kurkuminin hem oral hem de i.p. uygulamaları sonucu gastrik ülseri engellediği de bilinmektedir (162).

1.4.7. Kurkuminin Kemopreventif Etkisi

Kurkuminin potansiyel anti kanser etkinliği sağlıklı hücelere zarar vermeden kanserli hücrelerde apoptozise neden olmasından kaynaklanmaktadır (108). Kurkumin proliferen olan hücrenin bölünme sürecini değiştirmez, hücre bölünmesini geciktirmez. Büyüme inhibisyonu doza bağlıdır ve kurkuminin uzaklaştırılmasıyla beraber geri dönüşümlüdür, kurkumin hücrede toksisite oluşturmaz. Kurkuminin sebep olduğu büyüme inhibisyonu büyüme faktörlerinin ortama konulması ile geri döndürülemez, bu da kurkuminin hücre siklus olaylarına etki ettiğini göstermektedir. Kurkumin ile inkübe edilen hücre kültürlerinde, hücrelerin DNA içeriklerinin G1/S fazında yoğunlaştığı gösterilmiştir. S fazındaki hücre sayıları ve hücre proliferasyonundaki inhibisyon; hücrelerin S fazında yavaşladıklarını veya durduklarını ve DNA sentezinin kurkuminsiz gruba göre aktif olmadığını düşündürmektedir (163).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda; güçlü antikarsinojenik etkiye sahip olduğu belirlenen bu bileşimin kanserin başlangıç ve gelişme periyotlarında antikarsinojen ajan olarak kullanılabileceği iddia edilmiştir (164).

İn vivo ve in vitro çalışmalar kurkuminin anjiogenezis, tümör büyümesi ve tümör ilerlemesi evrelerine etki ederek kanseri engellediğini göstermiştir. Kurkumin mononükleer kan hücrelerinin hızla çoğalmasına neden olan mitojenleri ortadan kaldırarak sinirsel aktivasyonu, lenfatik reaksiyonu ve trombosit gelişimini de inhibe eder (165).

Kurkumin ve analoglarının metalloproteinazları inhibe ederek tümöral dokularda anjiyogenezisi engellediği gösterilmiştir. Böylece invaziv tümörlerin angiogenesis yoluyla yeni damarlar geliştirmeleri engellenmiş olur (166).

Kurkuminin tümör nekrosis faktöre bağlı NF- κ B'yi ve Siklooksijenaz-2'yi inhibe ettiği, Glutasyon -S- transferazı ise aktive ettiği bildirilmiştir. Böylece hücre proliferasyonu, tümörün invazyonu ve anjiyogenezisin baskılanması, tümör hücrelerinin apoptozisinin ise teşvik edilmesini sağladığı dolayısı ile de bu mekanizmalar üzerinden bir anti kanser ajan olarak işlev gördüğü araştırmacılar tarafından dile getirilmiştir (148, 167). Kurkuminin prokarsinojenler tarafından indüklenmiş sitokrom p-450 aktivite artışını inhibe ettiği de hayvan deneylerinde gösterilmiştir (150).

Son çalışmalar kurkuminin birçok hayvanda özefagus, mide, duodenum ve kolon kanserlerini önleyici etkilere sahip olduğunu göstermiştir (148, 162, 168-170).

Kurkuminin 200 nmol/kg oral verilmesi ile akciğer tümör nodülleri sayısının % 80 oranında azaltıldığı ve kurkuminle tedavi edilen hayvanların yaşam süresinin %143,85 arttığı gözlenmiştir (170).

Kurkuminin; B hücreli ve T hücreli lösemileri (171), kolon karsinomunu (172), epidermoid karsinomu (173), baş ve boyun skuamoz hücreli karsinomu (174) ve mantle hücreli lenfomayı (175) içeren kanserlerde, çeşitli tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Inano ve ark. (176) normal diyetle beslenen ve X ışınına maruz bırakılan ratlarda meme tümörü oluşma oranının % 70.3 olduğunu buna karşın, diyetlerine % 1 oranında kurkumin ilave edilen ve aynı şekilde X ışınına maruz bırakılan ratlarda bu oranın % 18.5'e kadar düştüğünü belirlemişlerdir. Aynı çalışmada, elle palpe edilebilen tümör oluşumunun, kontrol grubuna göre 6 ay gecikmeli olarak ve daha düşük oranda şekillendiği; ayrıca, yapılan histopatolojik incelemeler sonucunda tümör hücresi varlığının % 50 daha az olduğu tespit edilmiştir. Farelere 7,12-dimethylbenz (a)anthrasen ve 12-O-tetradecanoylphorbol-13-asetat verilmesi ile deri kanseri oluşturulmuş bir çalışmada kurkumin verilen farelerde deri kanseri oluşma oranının kurkumin verilmeyen hayvanlara göre belirgin derecede azaldığı ayrıca kurkumin kaynaklı herhangi bir yan etkinin oluşmadığı gözlenmiştir. Kurkuminin antikarsinojenik etki amacıyla güvenli bir şekilde kullanılabileceği ileri sürülmüştür

(104). Kurkumin tarafından oluşturulan antikarsinojenik etkinin; bileşiğin antiinflamatuvar, antioksidan, immunomodulator etkilerinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir (105, 150).

Hintlilerde kolon kanserine nadir rastlanması, hint kültüründe zerdeçalın ve dolayısıyla onun etken maddesi olan kurkuminin yaygın olarak kullanımına bağlanmıştır (177).

İnsan meme kanserinin ksenograft modelinde yapılan bir çalışmada diyetle verilen kurkumin tedavisinin meme kanserinin akciğer metastazları insidansını önemli ölçüde azalttığı ve bunun da kurkuminin NF- κ B ve COX-2 ekspresyonunu baskılaması sonucu gerçekleştiği öne sürülmüştür (178).

1.4.8. Kurkuminin Kemoterapötik Etkisi

Kurkuminin, insan skuamöz hücreli akciğer karsinomu H520 hücrelerinin büyümesini inhibe etmede kullanılan kemoterapötik ajan vinorelbin ile sinerjik etki yaptığı gösterilmiştir. Tek başına verildiklerinde, vinorelbin H520 hücrelerinde % 38 apoptoza neden olurken, kurkuminin % 23,7 apoptoza yol açtığı görülmüştür. Ancak kombine uygulandıklarında kurkumin ile ön tedavi, vinorelbinin neden olduğu apoptozu % 61,3 düzeyine çıkarmıştır. Bu bulgular, kurkuminin in vitro olarak H520 hücrelerde vinorelbinin kemoterapötik etkinliğini artıran muhtemel etkili adjuvan bir kemoterapötik olduğunu göstermektedir (179).

Huang ve ark. (180) yapmış oldukları bir çalışmada, kurkuminin yalnızca tümörlü fare yüzdesini azaltmadığını, aynı zamanda mide ve bağırsaktaki tümör büyüklüğünü de geriletmediğini bildirmişlerdir.

Dorai ve ark. (181) fare prostat kanser modelinde kurkuminin, prostat kanser gelişimini inhibe ettiği, hormon dirençli durumda bu kanserin gelişimini önlemede güçlü bir terapötik antikanser ajan olduğu ileri sürülmüştür.

Ayrıca kurkuminin radyoterapinin etkisini artırmak sureti ile tedaviden daha hızlı sonuç alınmasını sağladığı gösterilmiştir (182).

1.4.9. Kurkuminin Radyoprotektif Etkisi

Inano ve Onado (183) gamma ışınlamanın neden olduğu tümöröenez ve mortalite üzerine kurkuminin radyoprotektif etkisini araştırmış, diyetle alınan kurkuminin anlamlı olarak meme ve hipofiz tümörü insidansını azalttığını görmüşlerdir. Deney sonuna kadar hayatta kalan denekler ile yapılan çalışmalardan

alınan sonuçlar, letal doz tüm vücut ışınlamadan sonra 30 güne kadar uzayan sağ kalım süresi, kurkuminin rejenerasyon ve iyileşmeyi kolaylaştırıcı yeteneği ile açıklanmıştır.

Kurkumin aktivitesinin ilginç yönü, hem normal hücreler üzerine radyoprotektif etki göstermesi hem de kanserli hücreleri radyasyona daha duyarlı hale getirmesidir (182).

Chendil ve ark. (184) prostat kanseri hücre serisinde (PC-3) yapmış oldukları çalışmalarında, 2 ve 4 μ M konsantrasyondaki kurkuminin radyasyonla kombine edildiğinde, radyasyona bağlı gelişen klonojenik inhibisyonu ve apoptozisi anlamlı düzeyde artırdığı gözlenmiştir.

1.4.10. Kurkuminin Antiaterojenik Etkisi

Kurkuminin ateroskleroz gelişimini önleyici etkisi vardır. Düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu ateroskleroz gelişimde en önemli role sahiptir. Kurkuminin plazma kolesterol, lipoproteinler ve trigliserit düzeylerini azaltarak ateroskleroz gelişimini önlediği ileri sürülmüştür (185).

1.4.11. Kurkuminin Kardiyoprotektif Etkisi

Serbest oksijen radikallerinin kardiyak hasara neden olduğu, kurkuminin de serbest oksijen radikallerinin inhibisyonunu sağlayarak, kardiyoprotektif etki sağladığı bildirilmiştir (134).

1.4.12. Kurkuminin Obeziteye Etkisi

Şişmanlığın, tip 2 diyabet oluşumunda major bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Antioksidan ve antiinflamatuvar etkisi bilinen kurkuminin, diyabet ve insüline dirençli şişmanlıkta iyileştirici etkisi ve şişmanlık nedenli inflamatuvar sonuçları azaltıcı etkisi mevcuttur (186).

1.4.13. Kurkuminin Antitrombotik Etkisi

Kurkumin potent bir antitrombotik ajandır. Bu etkisini siklooksijenaz aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirmektedir (187).

Kurkumin nitrik oksit üzerinden cGMP aracılığıyla trombositlerin agregasyonunu ve adezyonunu inhibe ederek trombus oluşumunu engeller (188).

1.4.14. Kurkuminin Antimikrobiyal Etkisi

E. Coli ve S. Aureus'a karşı bakterisidal etkinlik göstermesi nedeniyle önerilmiş ve bu etkinliği mikrobiyolojik olarak da ispatlanılmıştır (189). İnsan

immun yetersizliği (HİV) tip 1 ve tip 2’de de antiviral (102), antimalaryal (190), antifungal (191), antiprotozoal (*Leishmania major*) (192) etkilerinin olduğu gösterilmiştir. *İn vitro* alışmalarda HSV-2 aktivitesini inhibe ettiği, EBV replikasyonunu baskıladığı bilgiler arasındadır. Antimikrobiyal ajan olarak da halen Hindistan’da kullanılmaktadır (102).

1.4.15. Kurkuminin Nöroprotektif Etkisi

Kurkuminin travmatik ve iskemik serebral hasara karşı nöroprotektif etkileri gösterilmiştir. Kurkumin tedavisinin astrositlerde nöronal hücre ölümünü önlediği ve kaspaz-3, Glial Fibriler Asidik Protein, eNOS ve Heme Oksygenase-1 upregülasyonunu azalttığı gösterilmiştir (193).

Sumanont ve ark. (194) deneysel epilepside oksidatif strese bağlı nöronal hasarın tedavisinde, nöroprotektif özellik sergileyen kurkumin ve diasetilkurkuminin kullanılabileceğini göstermişlerdir.

1.4.16. Kurkuminin Klinik Kullanımı

Zerdaal, Hindistan’da halk arasında yerel ilaç olarak kullanılır. Çeşitli hastalıklar için koruyucu etkilere sahiptir. Daha sık olarak yaralanmalarda kullanılan zerdaal; suçiçeği, böcek ısırması ve deri hastalıklarında da kullanılmaktadır (157).

Kurkumin, inflamatuvar hastalıkları belli oranda kontrol edebildiğinden tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. Bronşial astım, solunum yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak düşünölmektedir. Kurkumin, inflamatuvar hastalıklarda potansiyel olarak kontrol etkisine sahiptir ve bu tip hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır (130).

Kurkuminin Alzheimer hastalığı, alerji, astım, renal iske mi, multiple skleroz, psöriazis, romatoid artrit ve enflamatuvar kemik hastalıklarında olumlu etkilerinden bahsedilmiştir (151).

Kurkuminin psöriyazisli hastalarda topikal kullanıldığında klinik, histolojik ve immönolojik kriterlere göre psöriyazisi geriletteği gösterilmiştir. Kurkuminin bu etkisinin immunomodölatör, antiinflamatuvar ve siklooksigenaz inhibisyonu etkilerinden dolayı olduğu öne sürölmüştür (126).

Yapılan bazı araştırmalarda; pankreatit (195), enfeksiyöz bağırsak hastalıkları (196) ve gastrit (197) gibi hastalıkların erken dönemlerinde kurkuminle tedavinin başarılı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir.

Bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışmada antioksidan etkili olan kurkuminin sisplatin verilen ratlarda, bazı taşıyıcı proteinlerin (OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, MRP2, MRP4) ekspresyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca kurkuminin böbrekteki histopatolojik değişimler, böbrek fonksiyon testleri (serum üre, kreatinin düzeyleri) ve oksidatif stres (MDA düzeyleri) üzerine etkileri de araştırıldı.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM)’nden temin edilen ve ağırlıkları 199.3 ± 5.78 g arasında değişen dişi Wistar albino cinsi ratlar kullanıldı (n=28, 6 haftalık). Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (FÜHADEK)’nden onay alındıktan sonra (Tarih: 22.17.2011, Toplantı: 2011/10, Karar No: 125), çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı. Yemler, özel çelik kaplarda ve suda paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal musluk suyu olarak verildi. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelet yemle beslendi. Deney süresince hayvanlara yem ve su *ad libitum* olarak verildi. Ratlara verilen yemin bileşimi Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Araştırmada kullanılan diyetin bileşimi.

Yem ham maddeleri	%
Buğday	10
Mısır	21
Arpa	14
Kepek	8
Soya Küspesi	25
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deney hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır.

**Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

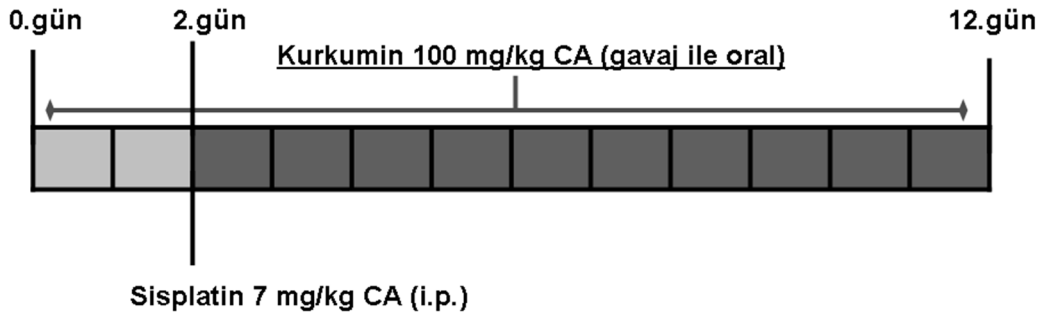
2.2. Deneme Düzeni

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının bulundukları ortamın

sıcaklığı 22±2 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında, 12 saat karanlıkta takip edildi.

Bir defalık i.p. sisplatin enjeksiyonu ile nefrotoksisite oluşturuldu. Sisplatin (Ebewe Pharma Ges. m. b. H. Nfg. KG Unterach, Avusturya), % 0.9 salin (1 ml/100 gr/kg) içinde 7 mg/kg olacak şekilde i.p. enjeksiyon yoluyla araştırmanın 3. gününde tek dozda uygulandı.

Kurkumin oral olarak gavaj yardımı ile 100 mg/kg canlı ağırlık (CA) dozunda fizyolojik salinde sulandırılarak (1 ml/rat), sisplatin uygulamasından 2 gün önce ve uygulamadan sonra 10 gün; toplam 12 gün süreyle günde 1 kez olacak şekilde uygulandı.



Şekil 5. Çalışma tasarımı.

Ratlar rastgele aşağıdaki şekilde gruplandırıldı:

- 1. Kontrol Grubu (n=7):** Sisplatin uygulanmayan, 3. gün sisplatinle eşit hacimde i.p. enjeksiyon yöntemiyle izotonik salin solusyonu (1 ml/kg/gün) uygulanan ve bazal diyetle beslenen grup.
- 2. Kurkumin Grubu (n=7):** Sisplatin uygulanmayan, 3. gün sisplatinle eşit hacimde i.p. enjeksiyon yöntemiyle izotonik salin solusyonu (1 ml/kg/gün) uygulanan ve izotonik salin solusyonu uygulamasından 2 gün önce ve uygulamadan sonra 10 gün süreyle (toplam 12 gün) oral olarak gavaj yardımı ile kurkumin (Sigma-Aldrich, St, Louis, MO, USA) (100 mg/kg) verilen ratlar.
- 3. Sisplatin Grubu (n=7):** Çalışmanın 3. gününde i.p. enjeksiyon yöntemiyle tek doz olarak sisplatin (Ebewe Pharma Ges. m. b. H. Nfg. KG Unterach, Avusturya), % 0.9 salin (1 ml/100 gr/kg) içinde (7 mg/kg) uygulanan ratlar.
- 4. Kurkumin+Sisplatin Grubu (n=7):** Çalışmanın 3. gününde i.p. enjeksiyon yöntemiyle tek doz olarak sisplatin (Ebewe Pharma Ges. m. b. H. Nfg. KG

Unterach, Avusturya), % 0.9 salin (1 ml/100 gr/kg) içinde (7 mg/kg) uygulanan ve sisplatin uygulamasından 2 gün önce ve uygulamadan sonra 10 gün süreyle (toplam 12 gün) oral olarak gavaj yardımı ile kurkumin (Sigma-Aldrich, St, Louis, MO, USA) (100 mg/kg) verilen ratlar.

Sisplatin uygulamasından 10 gün sonra ratlar anestezi altında dekapite edilerek; histopatolojik ve Western Blot analizleri için böbrek dokusu ve serum MDA, üre ve kreatinin ölçümleri için kan örnekleri alındı. Western analizleri yapılmaya kadar derin dondurucuda -80 °C'de saklandı. Böbrekler fosfat tamponlu solüsyon (PBS) ile (PBS; 0.15 M NaCl ve 0.01 M sodyum fosfat tamponu, pH: 7.4) aorta yoluyla perfüze edilerek çıkarıldı.

2.3. Laboratuvar Analizi

2.3.1. Serum Üre ve Kreatinin Ölçümü

Kan örnekleri 300 g'de 10 dk süreyle santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Serum üre ve kreatinin biyokimyasal analizör ile (Olympus AU-660, Japonya) ölçüldü.

2.3.2. HPLC'de MDA Analizi

Serum MDA seviyeleri, Karatepe'den (198) modifiye edilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografisiyle (HPLC, Shimadzu, Tokyo, Japan) analiz edildi.

HPLC için Doku Homojenizasyonu:

- Her deney gurubundan 150'şer mg böbrek dokusu alındı.
- Üzerine 450 µl deiyonize su ve 50 µl butilat hidroksi toluen (BHT) eklenerek cam homojenizatörde doku parçalandı.
- 0.5 M'lık HClO₄'den 500 µl ilave edilerek proteinler çöktürüldü.
- Karışım 4500 devir/dk hızla soğutmalı santrifüjde 5 dk boyunca santrifüjlendi.
- Supernatant kısımlar dikkatlice alınarak HPLC viallerine dizildi.
- Tüm işlemlerde homojenatlar ve kimyasallar ışıktan korundu ve soğuk zincire riayet edildi.

HPLC'de MDA Analizi:

- Hareketli faz olarak 30 mM KH₂PO₄ - metanol (% 82.5 – 17.5; pH: 4) kullanıldı.
- 250 nm'de İnertsil 5µ C-18 (15 cm x 4,6 mm) kolonu kullanıldı.

- Akış hızı 1 ml/dakika olarak belirlendi.
- MDA için geri kazanım % 98.8 olarak bulundu.

2.3.3. Western Blot Analizi ile Protein Ekspresyonunun Ölçümü

Böbrek dokusu 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda [10 mM Tris-HCl, pH: 7.4, 0.1 mM NaCl, 0.1 mM fenil metil sulfonil flüorür (PMSF), tripsin inhibitörü olarak, 5 µM soya (solubl toz; Sigma, St. Luis, MO, USA)] homojenize edildi. Doku homojenatları 15.000 x g at 4°C de 30 dk süreyle santrifüj edildi. Süpernatant kısmı yeni tüplere alındı. Protein konsantrasyonu *Lowry* prosedürüne uygun şekilde protein ölçüm kiti kullanılarak (Sigma, St. Luis, MO, USA) ölçüldü. Süpernatantlara, % 2'lik β-merkaptoetanol içeren sodyum dodecyl sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) tamponu eklendi ve eşit miktarlarda (20 µg) protein elektroforez için kullanıldı. Arkasından nitrosellüloz membranlara (Schleicher and Schuell Inc, Keene, NH, USA) aktarıldı (199). Nitrosellüloz blotlar fosfat tamponlu solüsyon içinde 5 dk süreyle 2 kez yıkandı ve % 1'lik sığır serum albümini ile primer antikor uygulamasından önce 1 saat bekletildi. Primer antikor (anti-OCT1, anti-OCT2, anti-OAT1, anti-OAT3, anti-MRP2, anti-MRP4; Abcam, Cambridge, USA) % 0.05 Tween-20 içeren aynı tampon içinde 1:1000 oranında dilüe edildi. Nitrosellüloz membran gece boyunca +4°C'de protein antikorları ile inkübe edildi. Blotlar yıkandı ve *horseradish peroksidaz-conjugated goat anti rabbit* (Abcam, Cambridge, USA) ile inkübe edildi. Spesifik bağlanma, diaminobenzidin ve H₂O₂ substratları kullanılarak tespit edildi. Protein yükleme β-aktin antikora (Santa Cruz Biotechnology Inc, CA, USA) karşı monoklonal bir mouse antikorunu kullanılarak kontrol edildi. Protein düzeyleri bir görüntü analiz sistemi (Image J; National Institute of Health, Bethesda, USA) ile dansitometrik olarak analiz edildi.

2.4. Histopatolojik Değerlendirme

Her bir rattan alınan sol böbrek histolojik inceleme için hemen % 20'lik nötral tamponlu formalin solüsyonu ile fikse edildi. Daha sonra yavaş yavaş dehidrate edilip parafine gömüldü. Parafin bloklar standart işlemlere uygun olarak 5 µM'lik kesitler halinde kesilerek hematoksilin-eosin boyası ile boyandı (200). Bütün preparatlar tedavi gruplarından haberdar olmayan bir patolog tarafından semikantitatif olarak değerlendirildi. Böbrek dokusu tübüler vakuolizasyon,

interstisyel ödem, tübüler nekroz, tübüler atrofi, interstisyel inflamasyon ve tübüler dilatasyon açısından incelendi. Değişimin şiddetini belirlemede kullanılan derecelendirme sistemi; (-): yok, (+): hafif (< % 25), (++) : orta (% 25 - % 50), (+++): şiddetli (> % 50) olarak değerlendirildi.

2.5. İstatistiksel Analiz

Veriler SAS (2002) paket programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) prosedürü ile analiz edildi. Grup içi farklılığı ortaya koymak amacıyla Tukey *post hoc* testi uygulandı. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Üre ve Kreatinin Düzeyleri

Sisplatine bağlı nefrotoksisitenin klinik biyokimyasal göstergelerinden olan üre ve kreatinin değerlerinin ortalamaları Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3. Sisplatin nefrotoksisitesi oluşturulan ratlarda kurkuminin serum MDA, üre ve kreatinin parametreleri üzerine etkisi.

Parametre	Gruplar				p
	Kontrol	Kurkumin	Sisplatin	Kurkumin+Sisplatin	
MDA (μ mol/L)	0.51+0.05 ^c	0.45+0.05 ^c	1.97+0.26 ^a	1.12+0.07 ^b	< 0.001
Üre (mg/dl)	57.71+4.61 ^c	46.29+1.63 ^c	253.43+28.42 ^a	123.68+17.63 ^b	< 0.001
Kreatinin (mg/dl)	0.49+0.02 ^b	0.46+0.01 ^b	2.16+0.40 ^a	1.01+0.17 ^b	< 0.001

Değerler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur.

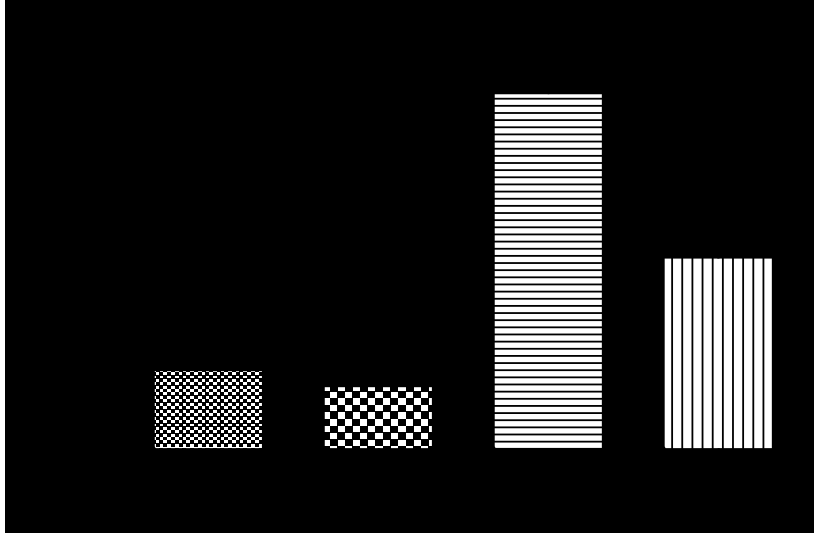
a-c: Aynı satırda farklı harfi taşıyan gruplar için fark istatistiki olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

3.1.1. Üre Düzeyleri

Gruplardaki üre düzeyleri Tablo 3’de gösterilmiştir. Tablodan görüleceği üzere gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise; sisplatin grubundaki üre değerlerinin (253.43 mg/dl), kontrol grubundaki üre değerlerine (57.71 mg/dl) göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu üre düzeyleri önemli bir düşüş göstermiştir ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

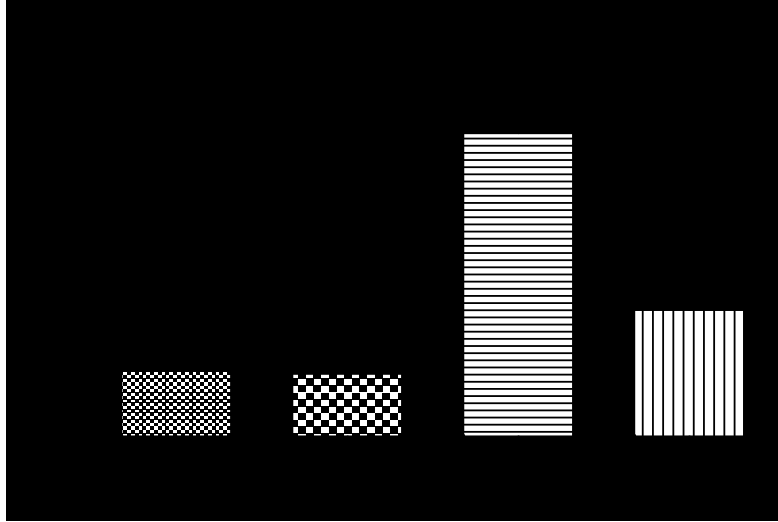
3.1.2. Kreatinin Düzeyleri

Gruplardaki kreatinin düzeylerinin ortalaması Tablo 3’de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Sisplatin grubundaki kreatinin değerlerinin (2.16 mg/dl), kontrol grubundaki kreatinin değerlerine (0.49 mg/dl) göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu üre düzeylerinde anlamlı düşüklük tespit edildi ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 6. Gruplarda ratların serum üre düzeyleri.



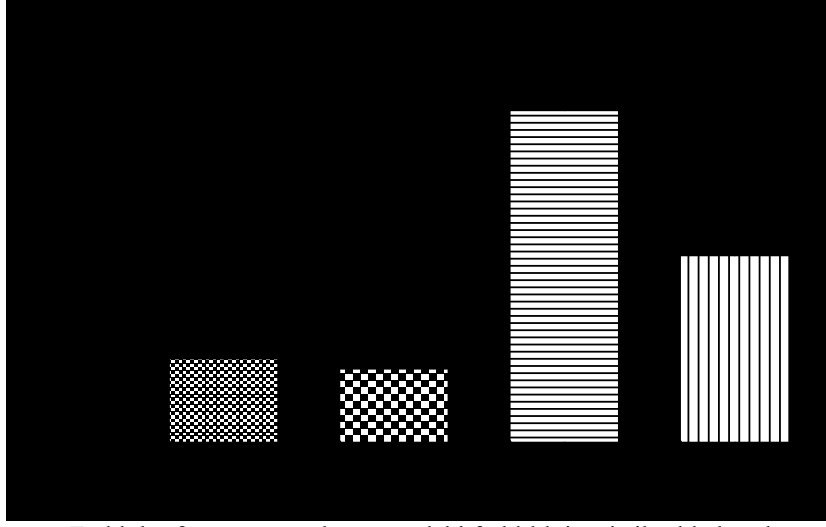
a-b: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 7. Gruplarda ratların serum kreatinin düzeyleri.

3.2. Serum MDA Düzeyleri

Bir oksidatif stres faktörü olan MDA'nın serumdaki düzeyinin ortalaması ve gruplar arasındaki değişiklikler Tablo 3'de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise; sisplatin grubunda ki serum MDA düzeylerinin ($1.97 \mu\text{mol/L}$), kontrol grubundaki serum MDA düzeylerine ($0.51 \mu\text{mol/L}$) göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu serum MDA düzeyleri önemli bir düşüş göstermiştir ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin

grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 8. Gruplarda ratların serum MDA düzeyleri.

3.3. Böbrek Protein Ekspresyonlarının Düzeyleri

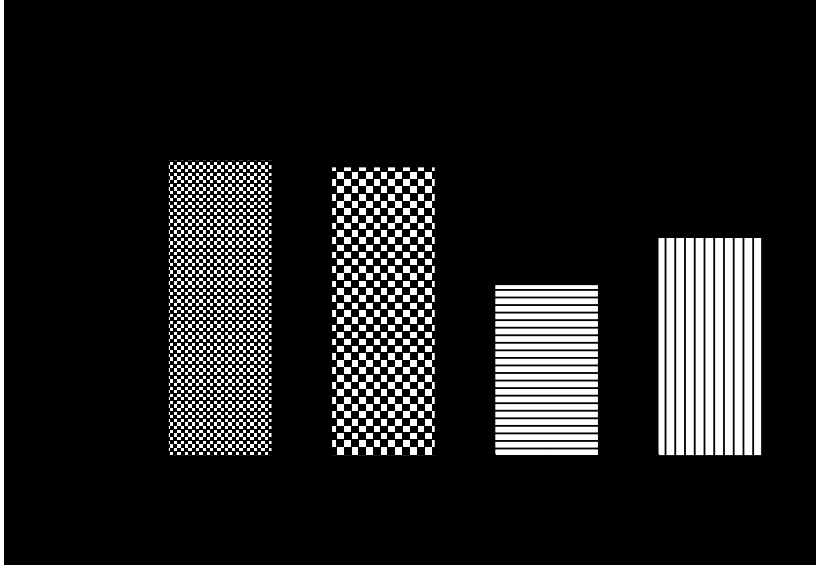
3.3.1. Böbrek OCT1 Ekspresyonu

Gruplarda böbrek OCT1 ekspresyonu Şekil 9’da gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise; sisplatin grubundaki OCT1 ekspresyonunun, kontrol grubundaki OCT1 ekspresyonuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ($p<0.01$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu OCT1 ekspresyonu önemli bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). OCT1 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 42 azalırken, kurkumin+sisplatin grubunda % 26 azalmıştır.

3.3.2. Böbrek OCT2 Ekspresyonu

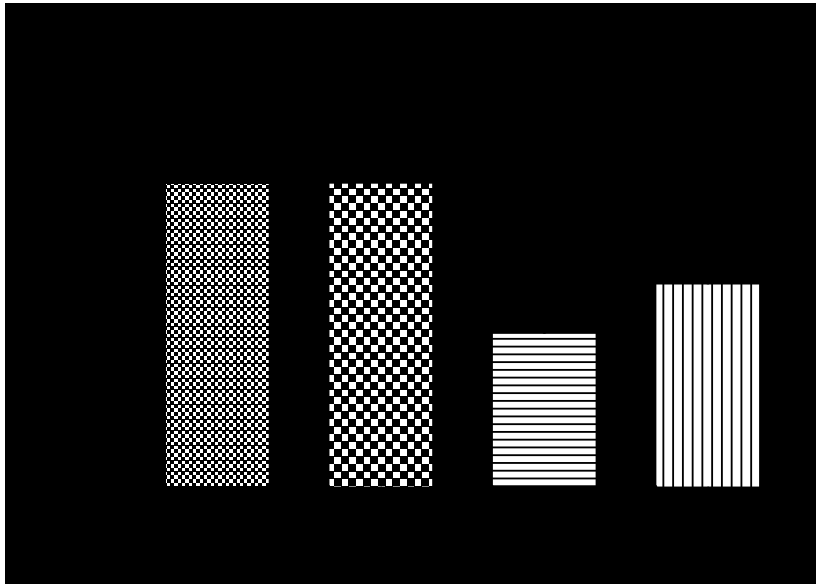
Gruplardaki OCT2 ekspresyonları Şekil 10’da gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise; sisplatin grubundaki OCT2 ekspresyonunun, kontrol grubundaki OCT2 ekspresyonuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ($p<0.001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu OCT2 ekspresyonu önemli bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan

karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). OCT2 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 49 azalırken, kurkumin+sisplatin grubunda % 33 azalmıştır.



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 9. Gruplarda ratların böbrek dokusu OCT1 ekspresyon düzeyleri.



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 10. Gruplarda ratların böbrek dokusu OCT2 ekspresyon düzeyleri.

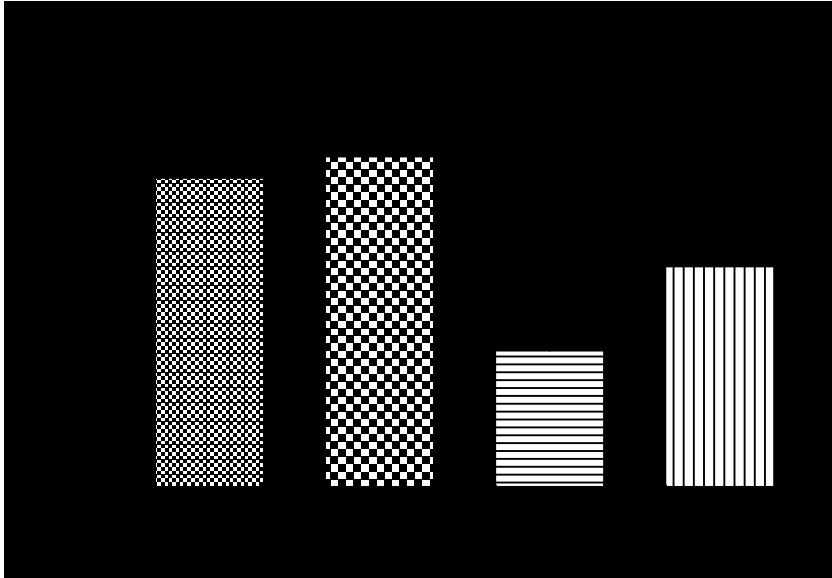
3.3.3. Böbrek OAT1 Ekspresyonu

Gruplardaki OAT1 ekspresyonları Şekil 11’de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise; sisplatin grubundaki OAT1 ekspresyonunun, kontrol grubundaki OAT1

ekspresyonuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ($p<0.001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu OAT1 ekspresyonu önemli bir artış göstermiştir ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). OAT1 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 55 azalırken, kurkumin+sisplatin grubunda % 28 azalmıştır ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında kurkumin grubunda % 7 bir artış olmasına karşın bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

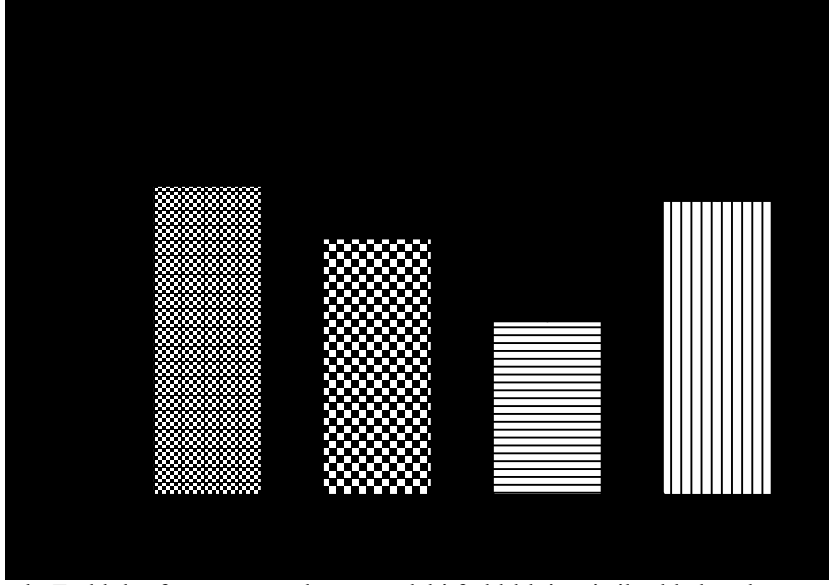
3.3.4. Böbrek OAT3 Ekspresyonu

Gruplardaki OAT3 ekspresyonları Şekil 12’de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise, sisplatin grubundaki OAT3 ekspresyonunun, kontrol grubundaki OAT3 ekspresyonuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ($p<0.001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu OAT3 ekspresyonu önemli bir artış göstermiştir ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). OAT3 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 43 azalmıştır ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında kurkumin+sisplatin grubunda % 5 azalma olmasına karşın bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$).

Şekil 11. Gruplarda ratların böbrek dokusu OAT1 ekspresyon düzeyleri.



a-b: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($P<0.05$).

Şekil 12. Gruplarda ratların böbrek dokusu OAT3 ekspresyon düzeyleri.

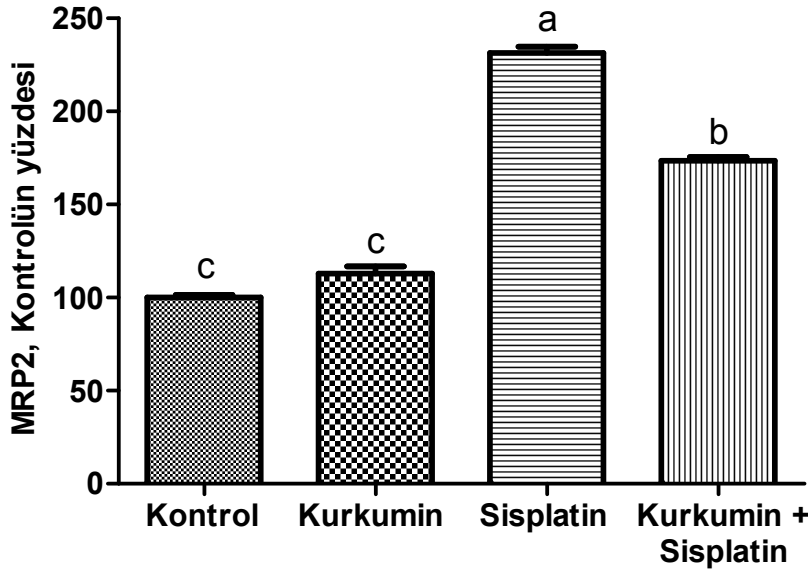
3.3.5. Böbrek MRP2 Ekspresyonu

Gruplardaki MRP2 ekspresyonları Şekil 13’de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.0001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise, sisplatin grubundaki MRP2 ekspresyonunun, kontrol grubundaki MRP2 ekspresyonuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu MRP2 ekspresyonunda anlamlı derecede düşme tespit edildi ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). MRP2 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 131 artarken, kurkumin+sisplatin grubunda % 73 artmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında kurkumin grubunda % 12 bir artış olmasına karşın bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).

3.3.6. Böbrek MRP4 Ekspresyonu

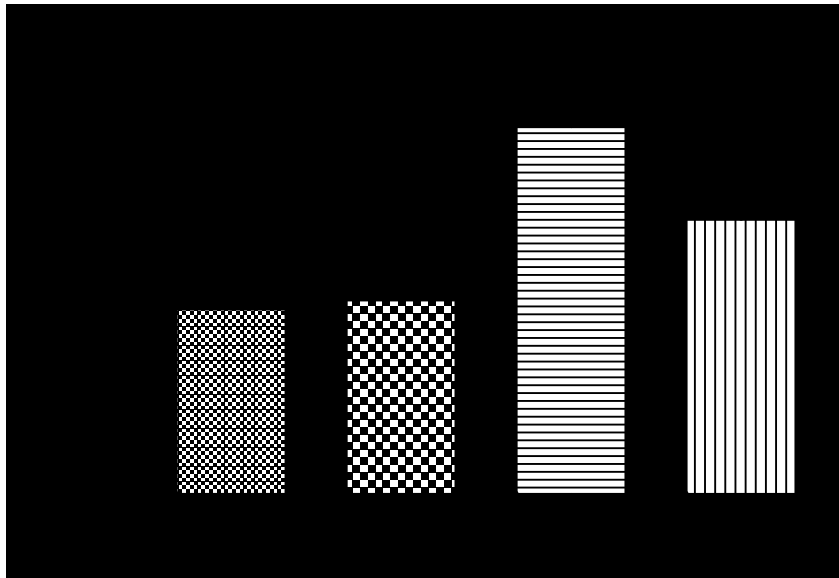
Gruplardaki MRP4 ekspresyonları Şekil 14’de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,0001$). Gruplar içi farklılığa bakıldığında ise, sisplatin grubundaki MRP4 ekspresyonunun, kontrol grubundaki MRP4 ekspresyonuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sisplatin grubu ile karşılaştırıldığında kurkumin+sisplatin grubu MRP4 ekspresyonunda anlamlı derecede düşme tespit edildi ($p<0.001$). Kontrol grubu ile kurkumin grubu

arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). MRP4 ekspresyonu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda % 98 artarken, kurkumin+sisplatin grubunda % 48 artmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında kurkumin grubunda % 5 bir artış olmasına karşın bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



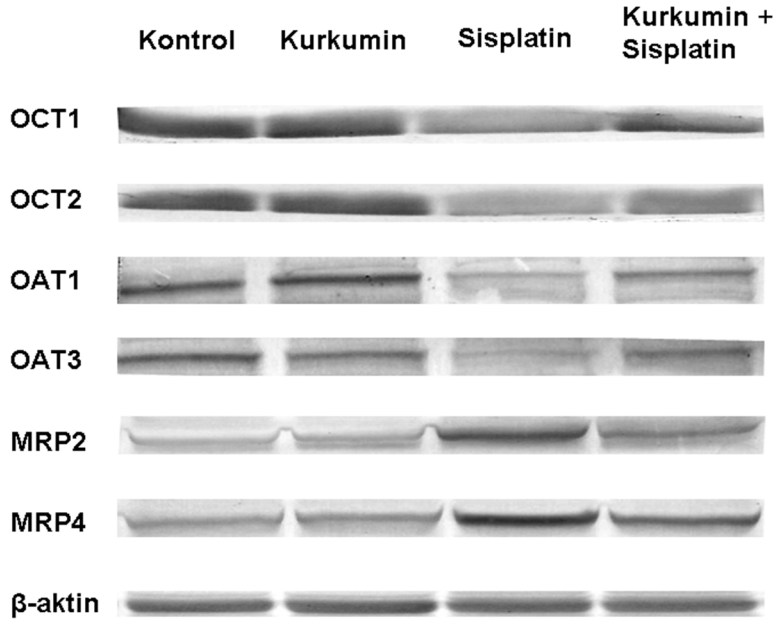
a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 13. Gruplarda ratların böbrek dokusu MRP2 ekspresyon düzeyleri.



a-c: Farklı harf taşıyan gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemlidir ($p<0.05$).

Şekil 14. Gruplarda ratların böbrek dokusu MRP4 ekspresyon düzeyleri.



Şekil 15. Gruplarda Western Blot bantları görünümü ve kontrol olarak β-aktin.

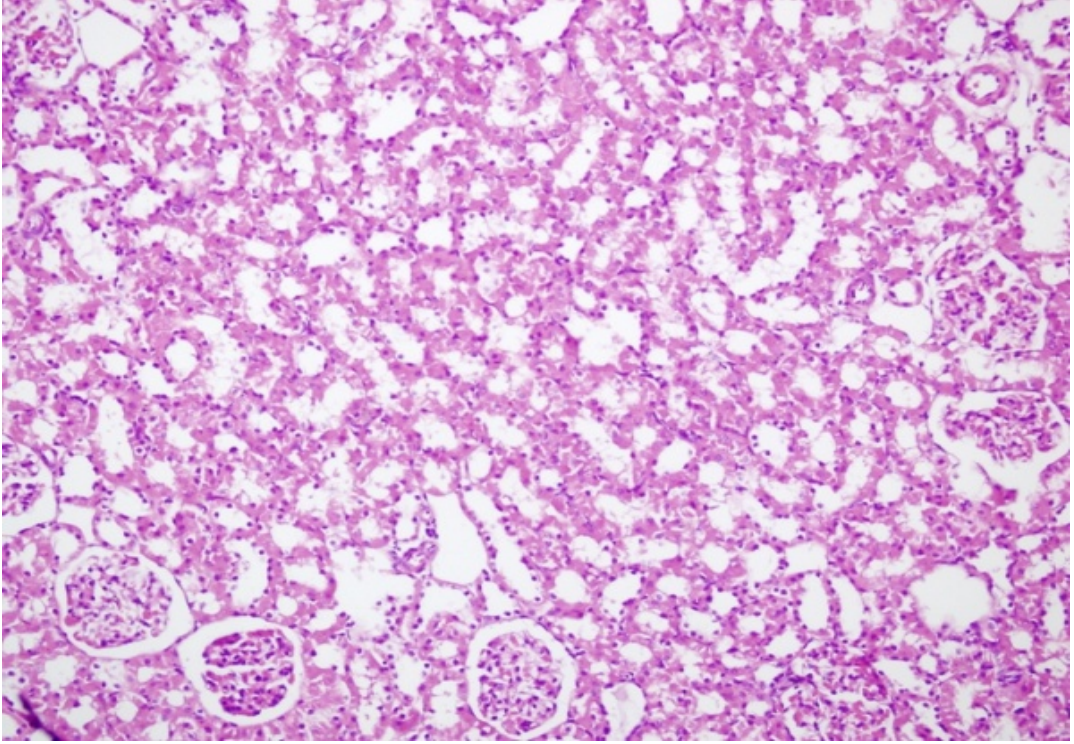
3.4. Histopatolojik Sonuçlar

Kontrol ve kurkumin grubundaki ratlardan alınan böbreklerde bir patoloji gözlenmedi. Buna karşılık, sisplatin verilen grupta korteks ve dış medullada hafif düzeyde interstisyel inflamasyon, tübüler vakuolizasyon ve atrofi; orta düzeyde interstisyel ödem, tübüler nekroz ve dilatasyon gözlemlendi. Kurkumin ile tedavi edilen kurkumin+sisplatin grubunda ise sisplatinin indüklediği histopatolojik değişikliklerin (özellikle interstisyel ödem; tübüler vakuolizasyon, nekroz ve atrofi) oldukça az olduğu görüldü (Tablo 4).

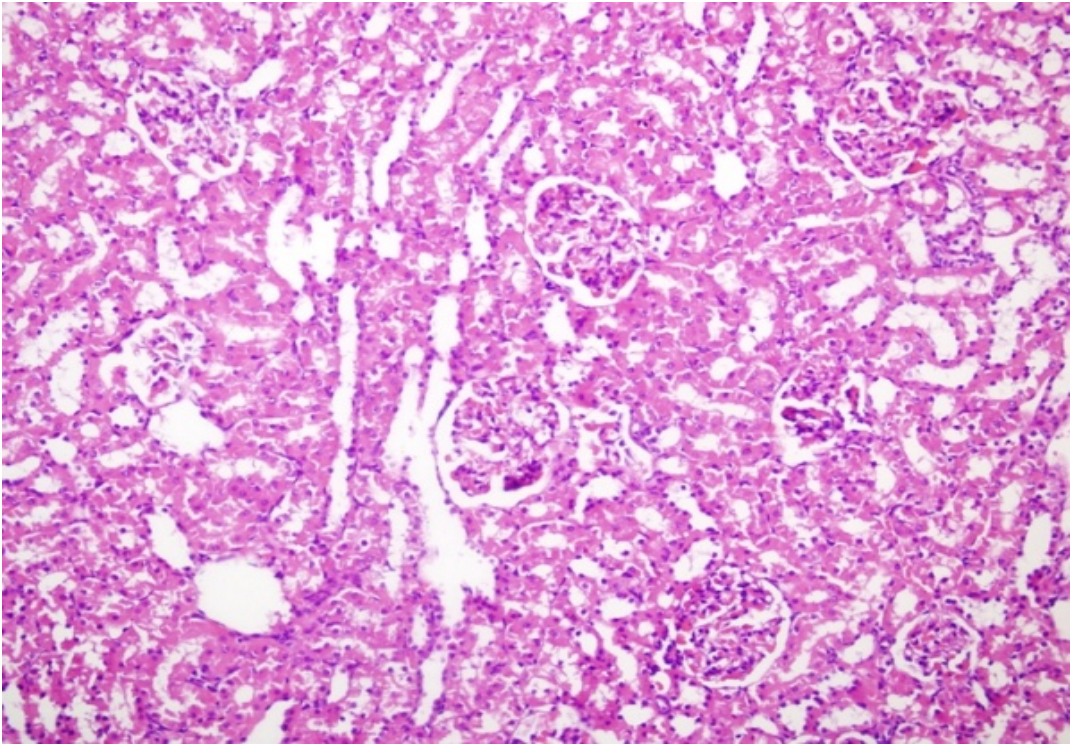
Tablo 4. Kurkumin uygulamasının rat böbrek dokusundaki morfolojik değişiklikler üzerine etkisi.

Morfolojik Değişiklikler	Gruplar			
	Kontrol	Kurkumin	Sisplatin	Kurkumin+Sisplatin
Tübüler vakuolizasyon	-	-	+	-
Interstisyel ödem	+/-	+/-	++	+
Tübüler nekroz	-	-	++	+/-
Tübüler atrofi	-	-	+	-
Interstisyel inflamasyon	-	-	+	+/-
Tübüler dilatasyon	-	-	+ / ++	+

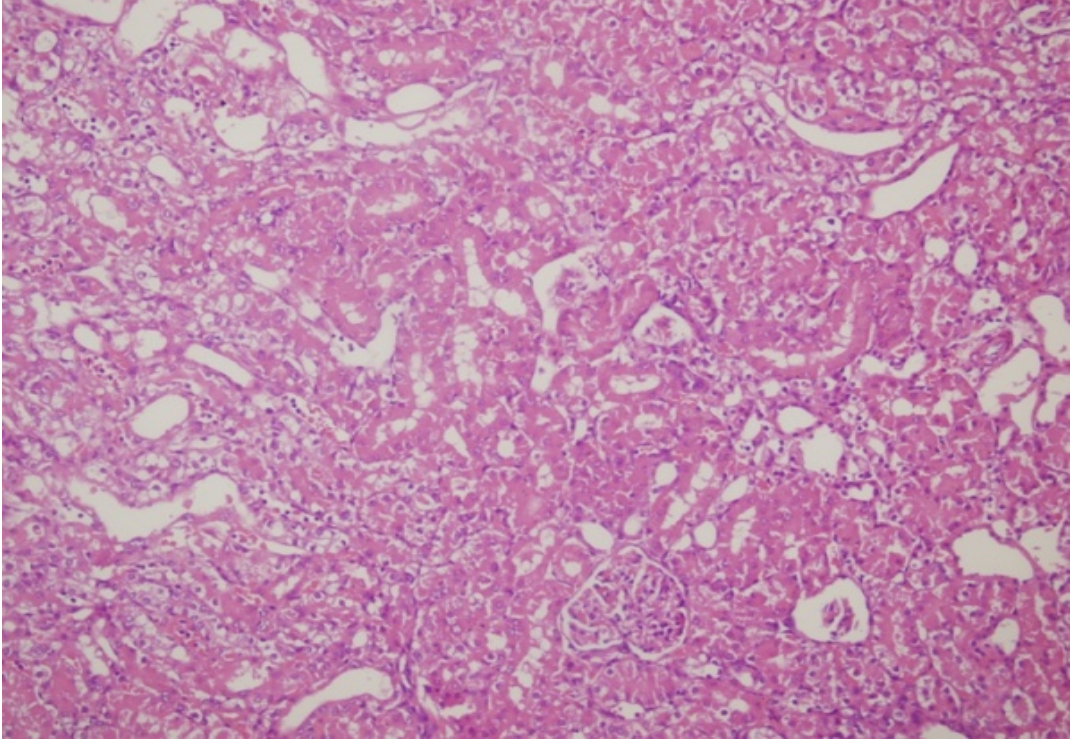
–: Yok, +: hafif (<% 25), ++: orta (% 25 - % 50), +++: şiddetli (>% 50).



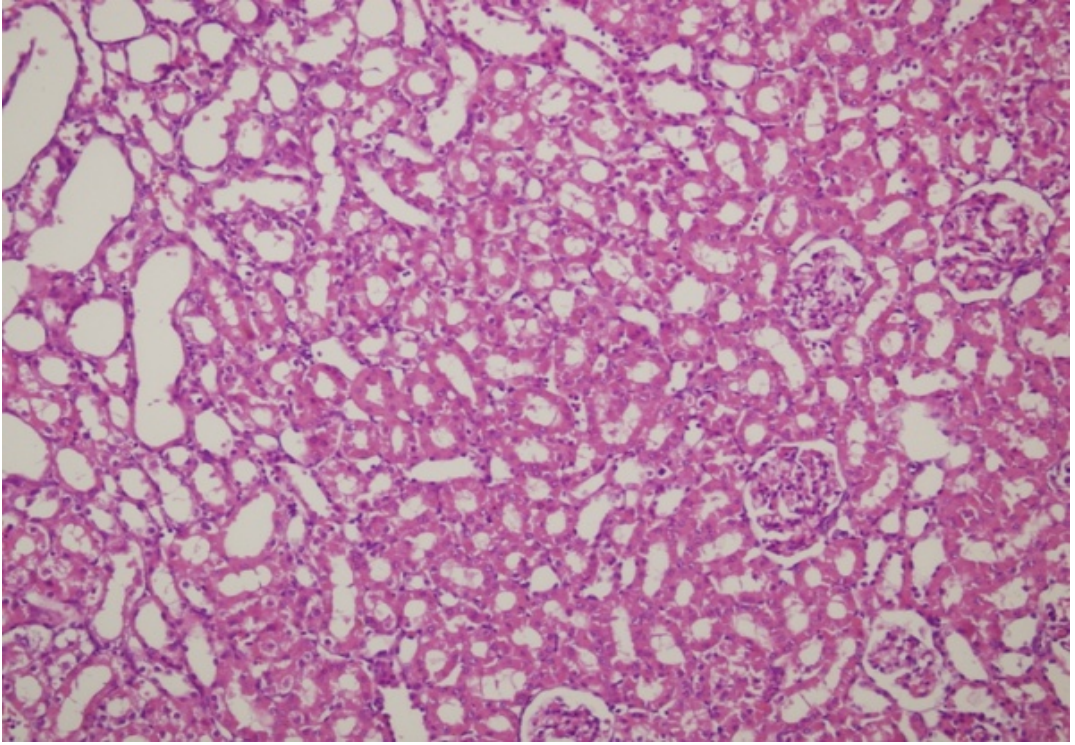
Şekil 16. Kontrol grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü.



Şekil 17. Kurkumin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü.



Şekil 18. Sisplatin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü.



Şekil 19. Kurkumin+sisplatin grubu ratlarda böbreğin Hematoxylin and eosin ile histopatolojik görünümü.

4. TARTIŞMA

İlk kez 1971 yılında kanser hastalarında başarı ile uygulanmaya başlanan sisplatin Amerika Gıda ve İlaç kurumundan 1978 yılında onay almıştır (12). Sisplatin günümüzde de; akciğer küçük hücreli tümörleri, over, testis, mesane, baş-boyun kanserleri gibi solid tümörlerde ve refrakter lenfoma gibi hematolojik malignensilerde kullanılan geniş spektrumlu bir antineoplastik ilaçtır (13).

Nefrotoksisite, sisplatin tedavisinin en sık ve doz sınırlayıcı yan etkisidir (21). Böbrek; kanlanması fazla olması, medüller interstisyumda toksinleri konsantre edebilmesi ve tübüler epitelin spesifik taşıyıcılara sahip olması nedeniyle nefrotoksik hasarlanmaya oldukça duyarlıdır (23). Ayrıca, sisplatin böbrekten atıldığı için böbrekte diğer organlardan daha fazla birikmektedir ve en fazla böbreğe zarar vermektedir (35). Rutin hidrasyon ve mannitol kullanımına rağmen hala böbrek yetmezliği insidansı anlamlı derecede yüksek bulunmaktadır. Yoğun profilaktik önlemlere rağmen geri dönüşümsüz böbrek hasarı sisplatin ile tedavi edilen hastaların üçte birinde ortaya çıkmaktadır (23).

Kreatinin klirensi 70 ml/dak'nın altında olanlarda ve yaşlı hastalarda risk artar. Birlikte başka bir nefrotoksik ilaç kullanımı da söz konusu ise yüksek sisplatin dozları ve infüzyonun hızlı uygulanması böbrek hasarı riskini daha da artırır. Sisplatinin etkisi kümülatif ve doza bağımlı olup düşük dozlarda ($\leq 40 \text{ mg/m}^2$) böbrek hasarı genellikle geri dönüşümlüdür. Daha yüksek dozlarda (2 mg/kg veya 75 mg/m^2) böbrek hasarı akut ve genellikle geri dönüşümsüzdür (18).

Kreatinin klirensinin azalması sisplatin nefrotoksisitesinin başlangıç klinik bulgularından olup, serum kreatinin yüksekliği de gözlenebilir (20, 24). Kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin değerlerinde görülen bu yükselme hafif ve geri dönüşümlü yada ağır ve geri dönüşümsüz olabilir (20).

Sisplatinin hücreye alınması başlıca organik transport aracılı sistem ile olmaktadır (32). Daha önceki terminolojide Solid Carrier Superfamily (SLC22A) olarak adlandırılan bu taşıyıcı proteinler (OCT ve OAT) proksimal tübül hücrelerinin apikal ve bazolateral membranında yerleşmiş olup gerek endojen olarak üretilen gerekse dışarıdan alınan birçok anyon ve katyonu aktif olarak salgırlar (55, 56).

Böbrekte OCT1 ve OCT2'ye nazaran OCT3 daha zayıf olarak eksprese olmaktadır (57). İnsan ve hayvan çalışmaları sisplatinin proksimal tübüllere

alınmasında OCT proteinin kritik bir rol üstlendiğini göstermiştir (29). Sisplatin en fazla proksimal tübülün S3 segmentinde birirmektedir. Hatta proksimal tübül hücre konsantrasyonu serum konsantrasyonunun beş katına ulaşabilmektedir. Bunu sırasıyla distal toplayıcı tübül ve proksimal tübülün S1 segmenti izlemektedir (33). Sisplatin uygulanmasından sonra proksimal tübül hücrelerine geçişin OCT2 aracılığı ile olduğu yapılan in vivo bir çalışmada gösterilmiştir. Sisplatin uygulamasının tübül hücrelerinde bulunan OCT2 proteinini azalttığı ve tekrarlayan uygulamalarda sisplatinin tübül hücrelerince alımının azalması, sisplatinin OCT2 ile atıldığını göstermektedir. Diğer sisplatin analogları karboplatin ve oksaliplatin OCT2 ile taşınmaz ve bu da bu ajanların daha az nefrotoksik olmasını izah edebilir (30). Ludwig ve ark. (31) sisplatinin böbrek tübül hücresi bazolateral tarafa uygulanmasının apikal tarafa uygulanmasından daha fazla toksisiteye yol açtığını göstermişlerdir. OCT2 transportunda bir organik katyon yarışmacısı olan simetidinin de proksimal tübülde sisplatin ilişkili hücre apoptozunu azalttığı gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada diyabetik hayvanlarda OCT izotiplerinin gen ve protein ekskresyonu azalmış bulunup sisplatin toksisitesine daha dirençli oldukları saptanmıştır (58). İlginç şekilde, ratlarda tek ve toksik doz sisplatin yedi günde OCT2 mRNA düzeylerini azaltır. Bu da sisplatinin tekrar uygulanması durumunda hücre içine alımına karşı defans oluşturur (59).

Böbrekte proksimal tübülün bazolateral membranında lokalize olan OAT1'in ekspresyonu, S2 segmentinde diğer segmentlere kıyasla çok daha fazladır (55). OAT3'ün; insan ve sıçanlarda proksimal tübüllerin S1, S2 ve S3 segmentlerinde bazolateral membranda lokalize olduğu gösterilmiştir. Sıçan böbreğinde ayrıca çıkan kalın henlede, distal tübülde, kortikal ve medüller toplayıcı tübüllerde bazolateral olarak eksprese edilmektedir (55, 56, 60, 201). Kwon ve ark. (61) iskemi-reperfüzyon hasarının OAT1 ekspresyonunda azalışa neden olduğunu göstermiştir. İskemi-reperfüzyon hasarının OAT1'in yanı sıra OAT3 mRNA ve protein düzeylerinde azalışa neden olduğu başka araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (67, 68, 202). İnsanda yapılan çalışmalar, organik anyon taşıyıcılarından OAT1 ekspresyonunun böbrek hastalıklarında azaldığını göstermiştir (69).

Multidrug Resistance Protein 2'nin en çok fonksiyon gördüğü yerler karaciğer, böbrekler ve gastrointestinal sistemdir (72, 75). MRP4'ün böbrekteki ekspresyonu proksimal tübül apikal membranı ile sınırlıdır (78, 203, 204).

Oksidatif hasar sisplatin nefrotoksisitesi patogenezinde önemli bir mekanizmadır. Serbest oksijen radikalleri Ksantin-Ksantin Oksidaz, mitokondri ve NADPH Oksidaz ile oluşmaktadır. Sisplatin her üç yolla serbest oksijen radikali oluşumuna neden olmaktadır (85). Bununla birlikte sisplatin Glukoz -6- Fosfat Dehidrogenaz ve Heksokinaz aktivitesini arttırarak serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir. Ayrıca antioksidan üretimini azaltmaktadır (86).

Sisplatin uygulaması böbrek tübül hücresinde intraselüler kalsiyum miktarını artırmaktadır. Bu ise mitokondri hasarına neden olarak serbest oksijen radikal üretimini tetiklemekte ve NADPH Oksidaz sistemini aktive etmektedir (37). Sisplatin sonrası böbrekte superoksit anyonu (205) hidrojen peroksit (206) ve hidroksil radikalleri (207) artmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller ise hücre membranı lipidlerinin peroksidasyonuna, proteinlerin ise yapısını bozarak hücre hasara neden olmaktadır (86).

Sisplatinin hücre antioksidan aktiviteyi ve böbrek dokusunda Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz ve Katalaz enzimlerinin aktivitelerini azalttığı gösterilmiştir (87, 208).

Sisplatine ait nefrotoksisite mekanizmaları göz önünde bulundurularak bu önemli yan etkiyi azaltmak amacı ile birçok strateji geliştirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda nefrotoksisite patogenezinde oksidatif hasarın önemli bir role sahip olduğu anlaşılmış ve nefrotoksisiteyi önlemeye yönelik antioksidan ajanlarla yapılan çalışmalar artmıştır (28, 209).

Yapılan hayvan çalışmalarında antioksidan özelliklere sahip olan glutamin, kaspaisin, silmarin, vitamin C ve vitamin E gibi ajanların nefroprotektif özellikleri saptanmıştır (28, 48). Timurkaan (210) bir antioksidan olan Epigallocateşin gallatın sisplatinin neden olduğu renal hasarı azalttığını göstermiştir. Ulu (211) bir antioksidan olan thymoquinonenin sisplatin nefrotoksisitesinde oksidatif stres aracılığı ile olan hasarın şiddetini azalttığını göstermiştir. Bunun dışında, sisplatin nefrotoksisitesini azaltmaya yönelik olarak çinko picolinat, pravastatin ve sistein gibi

çeşitli antioksidanlar deneysel çalışmalarda kullanılmış ve kısmen koruyucu etkilerinin olduğu yayınlarda belirtilmiştir (90, 212, 213).

Sisplatinin böbrek yetmezliği yan etkisini önlemek amacıyla Capizzi (214) ve Weichert-Jacobsen ve ark. (200) bir antioksidan olan amifostini denemişlerdir. Sisplatin uygulamadan önce amifostin ile tedavinin hayvan modellerinde ve klinik çalışmalarda nefrotoksisiteyi belirgin derecede azalttığı görülmüştür. Yoshida ve ark. (215) yaptıkları deneysel çalışmada sisplatin ile nefrotoksisite oluşturmuşlar ve yapısında selenyum içeren bir bileşik olan ebselenin nefrotoksisiteden koruyucu olduğunu göstermişlerdir. Sato ve ark. (216) ratlarda taurin tedavisi ile sisplatin nefrotoksisitesinin azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Taurin tedavisi alan grubun, sisplatin grubundakilere kıyasla daha az renal hasara sahip oldukları histomorfometrik analiz aracılığıyla gösterilmiştir.

Antunes ve ark. (217) erkek Wistar sıçanlarda yaptıkları deneysel çalışmada, sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisiteyi önlemek için sisplatin uygulamasından 24 saat ve 10 dk önce olmak üzere 8 mg/kg toplam iki doz kurkumin (diferuloylmethane) vermişlerdir. Bu dozda kurkuminin sisplatine sekonder gelişen renal GSH kaybını engelleyemediğini ve böbrekleri sisplatine sekonder gelişebilen nefrotoksisiteden koruyamadığını rapor etmişlerdir. Sisplatine sekonder gelişen nefrotoksisiteyi önlemede kurkumin ile ilgili bildirilen bu olumsuz sonuç, kurkuminin yetersiz dozda kullanımına bağlanmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız kurkuminin antioksidan etkisi ile böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğer iskemi reperfüzyon hasarında oksidatif stresi ve doku hasarlanmasını azalttığı gösterilmiştir (101).

Kurkuminin antioksidan etkinliği Ksantin Dehidrogenazın Ksantin Oksidaza dönüşümünün engellenmesi (126), lipid peroksidasyonunun önlenmesi (127, 218, 219), hücre içi glutatyon seviyesinin yükseltilmesi (128, 220) ve demir iyonuna bağlanma isteğinin artmasından (129) kaynaklanabileceği de belirtilmiştir. Kurkumin Katalaz, Süperoksid Dismutaz ve Glutatyon Peroksidaz enzimlerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır (130).

Kurkuminin yapısındaki fenolik ve metoksi gruplarının serbest radikallerle reaksiyona girmesiyle fenoksil radikali oluşmaktadır (131). Jovanovic ve ark. (132) tarafından yapılan bir çalışmada, kurkuminin mükemmel bir H⁺ iyonu vericisi olduğu

ve verilen H^+ iyonunun daha çok metil grubundan koptuğu belirlenmiştir. Benzer olarak yapılan diğer çalışmalarda, verilen iyonun kaynağı fenol grubu olarak tespit edilmiş, böylece kurkuminin çift yönlü çalışan, güçlü antioksidan bir bileşik olduğu ortaya konulmuştur (133, 221). Ayrıca kurkuminin primer metaboliti tetrahidrokurkumin, antioksidan β diketo etki ile birlikte iki karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağını yıkarak antioksidan etki yapar. Bu antioksidan etkileriyle serbest oksijen radikallerinin oluşumunu doğrudan veya Ksantin Dehidrogenazın Ksantin Oksidaza dönüşümünün inhibisyonu ile dolaylı etkileyerek olmaktadır (134).

Kurkuminin böbreklerde oksidatif hücre hasarına karşı lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir (135). Kurkumin ile yapılan tedavilerde böbreklerde iyileşmeler görüldüğü kaydedilmiştir. Kurkumin etkisi ile apoptozis ile ilgili genlerin ekspresyonu engellenmektedir (136). Kurkuminin kolesterol ile beslenmiş tavşanlarda koruyucu etkisinin yanında, H_2O_2 uygulanmış insan renal epitelyal hücrelerde de koruyucu etkisi gösterilmiştir (135, 137, 222). Kurkuminin iskemiye bağlı myokard hasarını fare, kedi ve tavşan modellerinde azalttığı gösterilmiştir (134, 223).

Kurkumin tedavisi ile total Süperoksit Dismutaz aktivitesinin arttığı, MDA konsantrasyonunun ve myeloperoksidaz aktivitesinin azaldığı belirtilmektedir. Ayrıca karaciğerde iskemi reperfüzyon hasarından sonra antioksidatif biyomolekül ekspresyonunu artırıp, nötrofil infiltrasyonunu ve reaktif oksijen metabolitlerini azalttığı Shen ve ark.'nın (138) yaptıkları çalışmada gösterilmiştir. Ratlarda kurkumin tedavisi ile reperfüzyondan sonra nitrik oksit sentaz aktivitesi azalmıştır. Fakat endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesi etkilenmemiştir. Chan ve ark.'nın (139) yaptıkları bir çalışmada ise lipopolisakkarit enjekte edilmiş sıçan karaciğerinde oral kurkumin tedavisi ile nitrik oksit sentaz ekspresyonunu % 50-70 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Fare fokal serebral iskemi modellerinde kurkuminin belirgin nörokoruyucu etkinliği; lipid peroksidasyonunu inhibe etmesi ve peroksinitrit ($OONO^-$) oluşumunu azaltması ile oluşmaktadır (141).

Yüksek glikoz konsantrasyonu oksidatif stres ile birlikte lipid peroksidasyonunu ve proteinlerin glikozilasyonunu arttırmaktadır. Bu, glikozun

otooksidasyonu ile ortaya çıkan aşırı oksijen radikal oluşumu, glikozile olmuş proteinler veya sitokrom P-450'ye benzer aktivite ile glikoz metabolizmasında NADPH'm aşırı üretimi ile olmaktadır (142, 224, 225). Kurkumin eritrositlerde proteinlerin glikolizasyonu ile lipid peroksidasyonunu yüksek glikoza maruz kalımda azaltmaktadır. Kurkumin, farelerde Streptozotocin ile oluşturulmuş diabetes mellitusta serbest oksijen radikali oluşumunu azaltmıştır (143, 226).

Kurkuminin stresle indüklenmiş Hsp 70 ekspresyonunun potent bir stimülatörü olduğu bildirilmiştir. Kurkumin ayrıca ısı veya toksik nedenlerden olan streslere karşı da koruyucu etki gösterir (144, 227). Hem Ghoneim ve ark. (145) hem de Madan ve ark.'nın (146) çalışmalarında kurkumin, dokuda antioksidan enzim ekspresyonunu ve aktivitesini artırmakta, nötrofil infiltrasyonunu inhibe etmektedir. Bu durum değişik stres faktörlerinde hücrel koruyucu etki göstermektedir.

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerine kurkuminin etkileri doza bağımlı olarak incelendiğinde doz artışına paralel olarak enzim aktivitelerinde artış görülmektedir. Piper JT ve ark. (147) kurkuminin 1 mg/kg ile 500 mg/kg arasında değişen dozlarda enzim düzeylerinde anlamlı değişiklikler tespit etmişlerdir. Ancak maksimum artış 75-500 mg/kg dozlarında sağlanmaktadır.

Safirstein ve ark. (228) yaptıkları çalışmada 5 mg/kg sisplatin uygulaması sonrasında plazma kreatinin seviyelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Mansour ve ark. (229) 7.5 mg/kg sisplatin ile oluşturdukları nefrotoksisite grubunda serum üre ve kreatinin düzeylerinin kontrol grubuna göre sırasıyla 2.5 ile 3.3 kat arttığını bildirmişlerdir.

Kurkuminin sisplatin nefrotoksisitesini önlemediğine dair sonuçlar da vardır. Antunes ve ark. (217) sisplatin tedavisi öncesi kurkumin veya selenyum tedavisinin sisplatin nefrotoksisitesine karşı olası koruyucu rollerini araştırdıkları çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sisplatin grubunda kreatininde % 166 artış sağladığını ($p<0.05$) ve sisplatin alan ratlara kurkumin yada selenyum uygulanmasının bu değerlerde herhangi bir azalma sağlamadığını ($p>0.05$) belirtmişlerdir.

Kuhad ve ark. (230) kurkuminin deneysel sisplatin nefrotoksisitesine karşı etkisini araştırdıkları çalışmada ise; sisplatinin belirgin olarak BUN ve serum

kreatinin değerini artırdığı ve kurkumin tedavisinin BUN ve serum kreatininindeki bu artışı belirgin olarak engellediğini tespit etmişlerdir.

Sisplatin nefrotoksisitesinde kurkuminin koruyuculuğunu araştırdığımız bu çalışmada ratlarda tek doz i.p 7 mg/kg sisplatin uygulaması ile nefrotoksisitenin geliştiği biyokimyasal ve sitopatolojik değerlendirme ile ortaya kondu. Kontrol ve kurkumin kolunda serum üre değerleri sırasıyla 57.71±4.61 mg/dl ve 46.29±1.63 mg/dl, kreatinin değerleri ise 0.49±0.02 mg/dl ve 0.46±0.01 mg/dl olarak bulundu. Kontrol ile kurkumin grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). Sisplatin uygulaması ile bu parametrelerde belirgin yükselmeler tespit edildi. Bu kolda serum üre ve kreatinin değerleri sırasıyla 253.43±28.42 mg/dl ve 2.16±0.40 mg/dl olarak ölçüldü. Bu değerler kontrol kolu ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulundu ($p<0.0001$). Kurkumin+sisplatin kolunda serum üre (123.68±17.63 mg/dl) ve kreatinin (1.01±0.17 mg/dl) değerlerinde önemli oranda gerileme sağlandığı görüldü. Kurkumin+sisplatin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$).

Çalışmamızda sisplatin grubunda, kontrol ve kurkumin grubuna göre böbrek fonksiyon bozukluğunu gösteren serum üre ve kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi. Sisplatin uygulanan grupta nefrotoksisiteye ait bulgular saptanmış olup; ortalama serum üre ve kreatinin değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda yaklaşık dört kat arttığı tespit edilmiştir. Kurkumin+sisplatin uygulanan grupta ise ortalama serum üre ve kreatinin değerlerinin kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat arttığı bulunmuştur. Sisplatin grubunda serum üre ve kreatinin değerlerinin kurkumin+sisplatin grubuna göre yaklaşık 2 kat daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3). Bu sonuç kurkuminin böbrek fonksiyonlarında düzelme sağladığını, daha doğru bir deyişle sisplatinin neden olduğu hasarı önlediğini göstermektedir.

Sisplatin nefrotoksisitesinde lipid peroksidasyonun sonucu olarak böbrek dokusunda MDA'nın arttığı gösterilmiştir (89, 231).

Bolaman ve ark. (232) alfa-tokoferolün sisplatine bağlı lipid peroksidasyonunu önlemedeki rolünü araştırmak amacıyla yaptıkları rat deneyinde; sisplatin grubunda artmış lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak renal doku MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu sonucuna

ulaşmışlardır. Alfa-tokoferol verilen grupta ise renal doku MDA düzeylerinin, sisplatin grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu ve alfa-tokoferolün sisplatine bağlı lipid peroksidasyonunu önlemede kullanılabileceği görüşünü savunmuşlardır.

Husain ve ark. (233) sisplatine bağlı gelişen nefrotoksisite üzerinde ebselenin etkinliğini araştırmışlar ve sisplatin verilen grupta MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre % 74 oranında arttığını bildirmişlerdir.

Kuhad ve ark. (230) kurkuminin sisplatin ile tedavi edilmiş farelerde belirgin bir şekilde ve doz bağımlı olarak lipid peroksidasyonunu azalttığını tespit etmişlerdir.

Biz çalışmamızda, oksidatif stress belirteci olarak serum MDA düzeylerini kullandık. Malondialdehid, lipid peroksidasyonun en güvenilir ve kabul gören in vivo belirteçlerinden biridir (234).

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar kurkuminin sisplatin nefrotoksisitesinde oksidatif stres aracılığı ile olan hasarın şiddetini azalttığını göstermektedir. Kontrol ve kurkumin kolunda serum MDA değerleri sırasıyla 0.51 ± 0.05 $\mu\text{mol/L}$ ve 0.45 ± 0.05 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. Kontrol ile kurkumin grubu arasında istatistiki olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Sisplatin uygulaması ile serum MDA düzeylerinde belirgin yükselme tespit edildi. Bu kolda serum MDA değeri 1.97 ± 0.26 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü. Bu değer kontrol kolu ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.0001$). Kurkumin+sisplatin kolunda serum MDA (1.12 ± 0.07 $\mu\text{mol/L}$) değerlerinde önemli oranda gerileme sağlandığı görüldü. Kurkumin+sisplatin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Serum MDA değerlerinin; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sisplatin grubunda yaklaşık dört kat arttığı görülmüştür. Kurkumin+sisplatin uygulanan grupta ise serum MDA değerlerinin kontrol grubuna göre yaklaşık iki kat arttığı bulunmuştur. Sisplatin grubunda serum MDA değerlerinin kurkumin+sisplatin grubuna göre yaklaşık 2 kat daha yüksek olduğu görülmüştür. Sisplatine kurkumin eklenmesi serum MDA düzeylerinde düşüş sağlamıştır (Tablo 3). Bu sonuçlar kurkumin kullanımının serumda antioksidan savunma sistemini düzelttiğini göstermektedir. Ek olarak, bu veriler daha önce bahsettiğimiz çeşitli antioksidanların kullanıldığı birçok çalışmanın sonuçları ile örtüşmektedir.

Tübüler transport sistemlerinden OCT1 ve OCT2 sonuçlarına bakıldığında, sisplatin uygulanan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; OCT1 ekspresyonunda % 42 ve OCT2 ekspresyonunda % 49 azalma görülmüş olup literatürde bu konuda yapılmış çalışmalar ile uyum sağlamaktadır (30, 59, 211). Sisplatine kurkumin eklenmesi ile bu değerler OCT1 ekspresyonunda % 26 ve OCT2 ekspresyonunda % 33'e düşmüştür.

Çeşitli çalışmalarda iskemi-reperfüzyon hasarının OAT1 ve OAT3 ekspresyonunda azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (67, 68, 202). Çalışmamızda sisplatin uygulanmasının OAT1 ve OAT3 ekspresyonun azalmasına (% 55 ve % 43), MRP2 ve MRP4 ekspresyonunun artmasına (% 131 ve % 98) neden olduğu tespit edilmiştir. Sisplatine kurkumin eklenmesi OAT1 ve OAT3 ekspresyonunda artış (% 28 ve % 5), MRP2 ve MRP4 ekspresyonunda azalma (% 73 ve % 48) sağlamıştır.

Kuhad ve ark. (230) yaptıkları çalışmada kontrol grubunda herhangi bir morfolojik değişiklik görülmezken; sisplatin ile tedavi edilen farelerde böbrek korteks ve dış medullada belirgin histolojik değişikliklerin izlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca sisplatin ile tedavi edilen farelerin renal tübüler epitel hücrelerinde nekroz ve deskuamasyon, tübüler atrofi ve dilatasyon, interstisyel nefrit ve hiyalin silendirleri gibi karakteristik morfolojik değişikliklerin izlendiğini ve belirtilen bu morfolojik değişikliklerin daha çok böbreğin dış korteks ve medulla kısmında görüldüğünü belirtmişlerdir. Kurkumin ile tedavi edilen grupta ise kurkuminin belirgin morfolojik koruma sağladığını ve bu yapısal değişiklikleri engellediğini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada sisplatin nefrotoksisitesinde gerçekleşen histopatolojik değişiklikler ve kurkuminin bunlar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Kontrol ve kurkumin grubu ratlardan alınan böbreklerde bir patoloji gözlenmezken, sisplatin verilen grupta korteks ve dış medullada hafif düzeyde interstisyel inflamasyon, tübüler vakuolizasyon ve atrofi; orta düzeyde interstisyel ödem, tübüler nekroz ve dilatasyon gözlemlendi. Saptanan bu histopatolojik değişiklikler literatür ile uyumluydu (23, 28, 48). Kurkumin ile tedavi edilen kurkumin+sisplatin grubunda ise sisplatinin indüklediği histopatolojik değişikliklerin (özellikle interstisyel ödem; tübüler vakuolizasyon, nekroz ve atrofi) oldukça az olduğu görüldü. Tüm bu bulgular histopatolojik düzeyde de kurkuminin sisplatine bağlı böbrek hasarını azaltıcı etkisi

olduğunu göstermekte olup literatürde bu konuda yapılmış çalışma ile uyum sağlamaktadır (230).

Sonuç olarak; bu çalışmada sisplatin ile oluşturulan nefrotoksisiteye karşı olarak kullanılan kurkuminin OCT1, OCT2, OAT1 ve OAT3 ekspresyonlarını arttırdığı; MRP2 ve MRP4 ekspresyonlarını azalttığı ortaya konmuştur. Bu veriler, biyokimyasal ve histopatolojik bulguların da desteğiyle, bir antioksidan olan kurkuminin sisplatin nefrotoksisitesine karşı koruyucu olabileceğini göstermiştir. Sisplatinin transport proteinleri aracılığı ile böbrek tübül hücrelerinde yüksek konsantrasyonlara ulaşarak toksisiteye yol açığının araştırılması ile ilgili olarak daha fazla deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Gilman A. The initial clinical trial of Nitrogen Mustard. *Amer J Surgery* 1963; 105: 574.
2. Kintzel PE. Anticancer drug-induced kidney disorders. Incidence, prevention and management. *Drug Safety* 2001; 24: 19-38.
3. Boogaard PJ, Nagelkerke JF, Mulder GJ. Renal proximal tubular cells in suspension or in primary culture as in vitro models to study nephrotoxicity. *Chem Biol Interact* 1990; 76: 281-291.
4. Fillastre JP, Godin M. Drug-induced nephropathies. In Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. New York. Oxford University Press 1998; 2645-2657.
5. Taguchi T, Nazneen A, Abid M, Razzaque MS. Cisplatin-associated nephrotoxicity and pathological events. *Contrib Nephrol* 2005; 148: 107-121.
6. Dillioglulil MO, Maral Kir H, Gulkac MD, Ozon Kanli A, Ozdogan HK, Acar O, Dillioglulil O. Protective effects of increasing vitamin E and a doses on cisplatin-induced oxidative damage to kidney tissue in rats. *Urol Int* 2005; 75: 340-344.
7. Anand AJ, Bashey B. Newer insights into cisplatin nephrotoxicity. *Ann Pharmacother* 1993; 27: 1519-1525.
8. Matsushima H, Yonemura K, Ohishi K, Hishida A. The role of oxygen free radicals in cisplatin-induced acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med* 1998; 131: 518-526.
9. Yildirim Z, Sogut S, Odaci E, Iraz M, Ozyurt H, Kotuk M, Akyol O. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 149-156.
10. Aggarwal BB, Kumar A, Aggarwal MS, Shisodia S. Curcumin derived from turmeric *Curcuma longa*: a spice for all seasons. *Phytopharmaceuticals in cancer chemoprevention*. Bagchi D, Preuss HG (Eds). Boca Raton, CRC Press, 2005: 349-387.
11. Cvitkovic E, Spaulding J, Bethune V, Martin J, Whitmore WF. Improvement of cis-dichlorodiammineplatinum (NSC 119875): therapeutic index in an animal model. *Cancer* 1977; 39: 1357-1361.

12. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 573-584.
13. Links M, Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs* 1999; 57: 293-308.
14. Lebwohl D, Canetta R. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *Eur J Cancer* 1998; 34: 1522-1534.
15. Chabner BA, Ryan DP, Paz-Ares L, Carbonero RG, Calabresi P. Antineoplastic Agents 2001: 1432-1434.
16. Parker RJ, Gill I, Tarone R, Vionnet JA, Grunberg S, Muggia FM, et al. Platinum-DNA damage in leukocyte DNA of patients receiving carboplatin and cisplatin chemotherapy, measured by atomic absorption spectrometry. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1253-1258.
17. DeConti RC, Toftness BR, Lange RC, Creasey WA. Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1973; 33: 1310-1315.
18. Boulikas T, Vougiouka M. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. *Oncol Rep* 2003; 10: 1663-1682.
19. Casper ES, Kelsen DP, Alcock NW, Young CW. Platinum concentrations in bile and plasma following rapid and 6-hour infusions of cis-dichlorodiammineplatinum (II). *Cancer Treat Rep* 1979; 63: 2023-2025.
20. Cooley ME, Davis LE, DeStefano M, Abrahm J. Cisplatin: a clinical review. Part I- Current uses of cisplatin and administration guidelines. *Cancer Nursing* 1994; 17: 173-184.
21. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, Ueda N, Shah SV. In vitro and in vivo evidence suggesting a role for iron in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 1998; 53: 394-401.
22. Ozols RF, Corden BJ, Jacob J, Wesley MN, Ostchega Y, Young RC. High-dose cisplatin in hypertonic saline. *Ann Intern Med* 1984; 100: 19-24.
23. Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol* 2003; 23: 460-464.
24. Daugaard G, Abildgaard U. Cisplatin nephrotoxicity. A review. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 25: 1-9.

25. Raj GV, Iasonos A, Herr H, Donat SM. Formulas calculating creatinine clearance are inadequate for determining eligibility for Cisplatin-based chemotherapy in bladder cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3095-3100.
26. Kintzel PE, Dorr RT. Anticancer drug renal toxicity and elimination: dosing guidelines for altered renal function. *Cancer Treat Rev* 1995; 21: 33-64.
27. Aronoff GM, Berns JS, Brier ME. Drug Prescribing in Renal Failure: Dosing Guidelines for Adults. 4 ed, American College of Physicians, Palm Version, 2002.
28. Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1173-1183.
29. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73: 994-1007.
30. Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, Pavenstadt H, Koepsell H, Piechota HJ, et al. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2. *Am J Pathol* 2005; 167: 1477-1484.
31. Ludwig T, Riethmuller C, Gekle M, Schwerdt G, Oberleithner H. Nephrotoxicity of platinum complexes is related to basolateral organic cation transport. *Kidney Int* 2004; 66: 196-202.
32. Gately DP, Howell SB. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. *Br J Cancer* 1993; 67: 1171-1176.
33. Kroning R, Lichtenstein AK, Nagami GT. Sulfur-containing amino acids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 45: 43-49.
34. Townsend DM, Deng M, Zhang L, Lapus MG, Hanigan MH. Metabolism of cisplatin to a nephrotoxin in proximal tubule cells. *JASN* 2003; 14: 1-10.
35. Kuhlmann MK, Burkhardt G, Kohler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2478-2480.
36. Dobyen DC, Levi J, Jacobs C, Kosek J, Weiner MW. Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: II. Morphologic observations. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 213: 551-556.

37. Ramesh G, Reeves WB. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: 166-174.
38. Kelly KJ, Meehan SM, Colvin RB, Williams WW, Bonventre JV. Protection from toxicant-mediated renal injury in the rat with anti-CD54 antibody. *Kidney Int* 1999; 56: 922-931.
39. Lieberthal W, Triaca V, Levine J. Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs. necrosis. *Am J Physiol* 1996; 270: 700-708.
40. Ramesh G, Reeves WB. TNFR2-mediated apoptosis and necrosis in cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: 610-618.
41. Zhang JG, Lindup WE. Role of mitochondria in cisplatin-induced oxidative damage exhibited by rat renal cortical slices. *Biochem Pharmacol* 1993; 45: 2215-2222.
42. Sadzuka Y, Shimizu Y, Takino Y. Role of glutathione S-transferase isoenzymes in cisplatin-induced nephrotoxicity in the rat. *Toxicol Lett* 1994; 70: 211-222.
43. Basnakian AG, Apostolov EO, Yin X, Napirei M, Mannherz HG, Shah SV. Cisplatin nephrotoxicity is mediated by deoxyribonuclease I. *JASN* 2005; 16: 697-702.
44. Portilla D, Li S, Nagothu KK, Megyesi J, Kaissling B, Schnackenberg L, et al. Metabolomic study of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Kidney Int* 2006; 69: 2194-2204.
45. Li S, Wu P, Yarlagadda P, Vadjunec NM, Proia AD, Harris RA, et al. PPAR alpha ligand protects during cisplatin-induced acute renal failure by preventing inhibition of renal FAO and PDC activity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: 572-580.
46. Vasey PA. "Dose dense" chemotherapy in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2005; 15: 226-232.
47. Kim SW, Lee JU, Nah MY, Kang DG, Ahn KY, Lee HS, et al. Cisplatin decreases the abundance of aquaporin water channels in rat kidney. *JASN* 2001; 12: 875-882.
48. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci* 2007; 334: 115-124.
49. Lam M, Adelstein DJ. Hypomagnesemia and renal magnesium wasting in patients treated with cisplatin. *Am J Kidney Dis* 1986; 8: 164-169.

50. Lajer H, Kristensen M, Hansen HH, Nielsen S, Frokiaer J, Ostergaard LF, et al. Magnesium depletion enhances cisplatin-induced nephrotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 535-542.
51. Jackson AM, Rose BD, Graff LG, Jacobs JB, Schwartz JH, Strauss GM, et al. Thrombotic microangiopathy and renal failure associated with antineoplastic chemotherapy. *Ann Intern Med* 1984; 101: 41-44.
52. Koch Nogueira PC, Hadj-Aissa A, Schell M, Dubourg L, Brunat-Mentigny M, Cochat P. Long-term nephrotoxicity of cisplatin, ifosfamide and methotrexate in osteosarcoma. *Pediat Nephrol* 1998; 12: 572-575.
53. Hutchison FN, Perez EA, Gandara DR, Lawrence HJ, Kaysen GA. Renal salt wasting in patients treated with cisplatin. *Ann Intern Med* 1988; 108: 21-25.
54. Wood PA, Hrushesky WJ. Cisplatin-associated anemia: an erythropoietin deficiency syndrome. *J Clin Invest* 1995; 95: 1650-1659.
55. Wright SH, Dantzer WH. Molecular and cellular physiology of renal organic cation and anion transport. *Physiol Rev* 2004; 84: 987-1049.
56. Eraly SA, Bush KT, Sampogna RV, Bhatnagar V, Nigam SK. The molecular pharmacology of organic anion transporters: from DNA to FDA? *Mol Pharma* 2004; 65: 479-487.
57. Kekuda R, Prasad PD, Wu X, Wang H, Fei YJ, Leibach FH, et al. Cloning and functional characterization of a potential-sensitive, polyspecific organic cation transporter (OCT3) most abundantly expressed in placenta. *J Biol Chem* 1998; 273: 15971-15979.
58. Thomas MC, Tikellis C, Kantharidis P, Burns WC, Cooper ME, Forbes JM. The role of advanced glycation in reduced organic cation transport associated with experimental diabetes. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311: 456-466.
59. Yonezawa A, Masuda S, Nishihara K, Yano I, Katsura T, Inui K. Association between tubular toxicity of cisplatin and expression of organic cation transporter rOCT2 (Slc22a2) in the rat. *Biochem Pharma* 2005; 70: 1823-1831.
60. Launay-Vacher V, Izzedine H, Karie S, Hulot JS, Baumelou A, Deray G. Renal tubular drug transporters. *Nephron Physiol* 2006; 103: 97-106.

61. Kwon O, Wang WW, Miller S. Renal organic anion transporter 1 is maldistributed and diminishes in proximal tubule cells but increases in vasculature after ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: 1807-1816.
62. Sekine T, Cha SH, Tsuda M, Apiwattanakul N, Nakajima N, Kanai Y, et al. Identification of multispecific organic anion transporter 2 expressed predominantly in the liver. *FEBS Lett* 1998; 429: 179-182.
63. Groves CE, Suhre WB, Cherrington NJ, Wright SH. Sex differences in the mRNA, protein and functional expression of organic anion transporter (Oat) 1, Oat3, and organic cation transporter (Oct) 2 in rabbit renal proximal tubules. *J Pharma Exp Ther* 2006; 316: 743-752.
64. Buist SC, Cherrington NJ, Choudhuri S, Hartley DP, Klaassen CD. Gender-specific and developmental influences on the expression of rat organic anion transporters. *J Pharma Exp Ther* 2002; 301: 145-151.
65. Terlouw SA, Masereeuw R, Russel FG. Modulatory effects of hormones, drugs, and toxic events on renal organic anion transport. *Biochem Pharma* 2003; 65: 1393-1405.
66. Miller DS. Protein kinase C regulation of organic anion transport in renal proximal tubule. *Am J Physiol* 1998; 274:156-164.
67. Di Giusto G, Anzai N, Endou H, Torres AM. Elimination of organic anions in response to an early stage of renal ischemia-reperfusion in the rat: role of basolateral plasma membrane transporters and cortical renal blood flow. *Pharmacology* 2008; 81: 127-136.
68. Matsuzaki T, Watanabe H, Yoshitome K, Morisaki T, Hamada A, Nonoguchi H, et al. Downregulation of organic anion transporters in rat kidney under ischemia/reperfusion-induced acute [corrected] renal failure. *Kidney Int* 2007; 71: 539-547.
69. Sakurai Y, Motohashi H, Ueo H, Masuda S, Saito H, Okuda M, et al. Expression levels of renal organic anion transporters (OATs) and their correlation with anionic drug excretion in patients with renal diseases. *Pharm Res* 2004; 21: 61-67.
70. Brandoni A, Villar SR, Picena JC, Anzai N, Endou H, Torres AM. Expression of rat renal cortical OAT1 and OAT3 in response to acute biliary obstruction. *Hepatology* 2006; 43: 1092-1100.

71. König J, Nies AT, Cui Y, Leier I, Keppler D. Conjugate export pumps of the multidrug resistance protein (MRP) family: localization, substrate specificity and MRP2-mediated drug resistance. *Biochim Biophys Acta* 1999; 146: 377-394.
72. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J. The multidrug resistance protein family. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1461: 347-357.
73. Roelofsen H, Muller M, Jansen PL. Regulation of organic anion transport in the liver. *Yale J Biol Med* 1997; 70: 435-445.
74. Kartenbeck J, Leuschner U, Mayer R, Keppler D. Absence of the canalicular isoform of the MRP gene-encoded conjugate export pump from the hepatocytes in Dubin-Johnson syndrome. *Hepatology* 1996; 23: 1061-1066.
75. Cui Y, König J, Buchholz JK, Spring H, Leier I, Keppler D. Drug resistance and ATP-dependent conjugate transport mediated by the apical multidrug resistance protein, MRP2, permanently expressed in human and canine cells. *Mol Pharmacol* 1999; 55: 929-937.
76. Hirohashi T, Suzuki H, Sugiyama Y. Characterization of the transport properties of cloned rat multidrug resistance-associated protein 3 (MRP3). *J Biol Chem* 1999; 274: 1518-1525.
77. Schuetz JD, Connelly MC, Sun D, Paibir SG, Flynn PM, Srinivas RV, et al. MRP4: A previously unidentified factor in resistance to nucleoside-based antiviral drugs. *Nat Med* 1999; 5: 1048-1051.
78. Sekine T, Miyazaki H, Endou H. Molecular physiology of renal organic anion transporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: 251-261.
79. Wijnholds J, Mol CA, van Deemter L, de Haas M, Scheffer GL, Baas F, et al. Multidrug-resistance protein 5 is a multispecific organic anion transporter able to transport nucleotide analogs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 7476-7481.
80. Kool M, van der Linden M, de Haas M, Baas F, Borst P. Expression of human MRP6, a homologue of the multidrug resistance protein gene MRP1, in tissues and cancer cells. *Cancer Res* 1999; 59: 175-182.
81. Avcu F. Hematolojik Malignitelerde İlaç Direnç Mekanizmaları. *Temel Moleküler Hematoloji* 2006: 61-64.

82. Basaga HS. Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1990; 68: 989-998.
83. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg* 1991; 126: 104-105.
84. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
85. Kawai Y, Nakao T, Kunimura N, Kohda Y, Gemba M. Relationship of intracellular calcium and oxygen radicals to Cisplatin-related renal cell injury. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 65-72.
86. Yilmaz HR, Iraz M, Sogut S, Ozyurt H, Yildirim Z, Akyol O, et al. The effects of erdosteine on the activities of some metabolic enzymes during cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2004; 50: 287-290.
87. Durak I, Ozbek H, Karaayvaz M, Ozturk HS. Cisplatin induces acute renal failure by impairing antioxidant system in guinea pigs: effects of antioxidant supplementation on the cisplatin nephrotoxicity. *Drug Chem Toxicol* 2002; 25: 1-8.
88. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-426.
89. Santos NA, Catao CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arc Toxicol* 2007; 81: 495-504.
90. Tuzcu M, Sahin N, Dogukan A, Aslan A, Gencoglu H, Ilhan N, et al. Protective role of zinc picolinate on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Ren Nutr* 2010; 20: 398-407.
91. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa J Med* 1996; 27: 41-50.
92. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*, 1998; 11: 342-346.
93. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *An Int Med* 1987; 107: 526-545.
94. Akkuş I. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı Konya: Mimoza Yayınları, 1995; 1: 3-95.

95. De Martinis BS, Bianchi MD. Effect of vitamin C supplementation against cisplatin-induced toxicity and oxidative DNA damage in rats. *Pharmacol Res* 2001; 44: 317-320.
96. Kılınç K. Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biokimya Dergisi* 1995; 10: 60-89.
97. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41-54.
98. Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *CMLS* 2000; 57: 779-795.
99. Lynch ED, Gu R, Pierce C, Kil J. Reduction of acute cisplatin ototoxicity and nephrotoxicity in rats by oral administration of allopurinol and ebselen. *Hear Res* 2005; 201: 81-89.
100. Nisar S, Feinfeld DA. N-acetylcysteine as salvage therapy in cisplatin nephrotoxicity. *Ren Fail* 2002; 24: 529-533.
101. Thiagarajan M, Sharma SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci* 2004; 74: 969-985.
102. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med* 1991; 57: 1-7.
103. Thomas-Eapen NE. Turmeric: the intriguing yellow spice with medicinal properties. *Explore (NY)* 2009; 5: 114-115.
104. Limtrakul P, Lipigornngoson S, Namwong O, Apisariyakul A, Dunn FW. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett* 1997; 116: 197-203.
105. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Advances Exp Med And Bio* 2006; 595:1-75.
106. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1955-1968.
107. Demircioğlu Y, Yaman M, Şimşek I. Kadınların baharat kullanım alışkanlıkları üzerine bir araştırma. *Türk Silahlı Kuvvetleri Koruyucu Hekim Bülteni* 2007; 6: 161-168.

108. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett* 2005; 223: 181-190.
109. Pari L, Tewas D, Eckel J. Role of curcumin in health and disease. *Arch Physiol Biochem* 2008; 114: 127-149.
110. Pelletier VA. Curcimin. *J Pharma Biomed Analys* 1815: 50.
111. Lampe V, Kostanecki V. Curcimin. *Ber Dtsch Chem Ges* 1910; 43: 2163.
112. Lampe V. Curcimin. *Ber Dtsch Chem Ges* 1913; 46: 2235.
113. Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 486-494.
114. Curcuminin keto ve enol formu. www.edinformatics.com/culinaryarts/food_encyclopedia/turmeric.htm Erişim Tarihi: 10.08.2012
115. Wichitnithad W, Jongaroonngamsang N, Pummangura S, Rojsitthisak P. A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. *PCA* 2009; 20: 314-319.
116. Ansari MJ, Ahmad S, Kohli K, Ali J, Khar RK. Stability-indicating HPTLC determination of curcumin in bulk drug and pharmaceutical formulations. *J Pharma Biomed Analys* 2005; 39: 132-138.
117. Marczylo TH, Steward WP, Gescher AJ. Rapid analysis of curcumin and curcumin metabolites in rat biomatrices using a novel ultraperformance liquid chromatography (UPLC) method. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 797-803.
118. Yang KY, Lin LC, Tseng TY, Wang SC, Tsai TH. Oral bioavailability of curcumin in rat and the herbal analysis from *Curcuma longa* by LC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 853: 183-189.
119. Wahlstrom B, Blennow G. A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 1978; 43: 86-92.
120. Ravindranath V, Chandrasekhara N. Absorption and tissue distribution of curcumin in rats. *Toxicology* 1980; 16: 259-265.
121. Ravindranath V, Chandrasekhara N. Metabolism of curcumin--studies with [3H]curcumin. *Toxicology* 1981; 22: 337-344.

122. Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA, Normolle DP, Djuric Z, et al. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 1411-1417.
123. Clinical development plan: curcumin. *J Cell Biochem* 1996; 26: 72-85.
124. Chueh SC, Lai MK, Liu IS, Teng FC, Chen J. Curcumin enhances the immunosuppressive activity of cyclosporine in rat cardiac allografts and in mixed lymphocyte reactions. *Transplant Proc* 2003; 35: 1603-1605.
125. Anand P, Kunnumakkara AB, Newman RA, Aggarwal BB. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular pharmaceutics* 2007; 4: 807-818.
126. Miquel J, Bernd A, Sempere JM, Diaz-Alperi J, Ramirez A. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. *Arch Gerontol Geriatr* 2002; 34: 37-46.
127. Soudamini KK, Unnikrishnan MC, Soni KB, Kuttan R. Inhibition of lipid peroxidation and cholesterol levels in mice by curcumin. *Indian J Physiol Pharmacol* 1992; 36: 239-243.
128. Awasthi S, Pandya U, Singhal SS, Lin JT, Thivyanathan V, Seifert WE, et al. Curcumin-glutathione interactions and the role of human glutathione S-transferase P1-1. *Chem Biol Interact* 2000; 128: 19-38.
129. Unnikrishnan MK, Rao MN. Curcumin inhibits nitrite-induced methemoglobin formation. *FEBS Lett* 1992; 301: 195-196.
130. Araujo CC, Leon LL. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96: 723-728.
131. Wright JS. Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *J Mol Struct* 2002; 591: 207-217.
132. Jovanovic SV, Steenken S, Boone CW, Simic MG. H-atom transfer is a preferred antioxidant mechanism of curcumin. *J Am Chem Soc* 1999; 121: 9677-9681.
133. Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, Kumar MS, Unnikrishnan MK, Satav JG, et al. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 475-484.

134. Manikandan P, Sumitra M, Aishwarya S, Manohar BM, Lokanadam B, Puvanakrishnan R. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 1967-1980.
135. Cohly HH, Taylor A, Angel MF, Salahudeen AK. Effect of turmeric, turmerin and curcumin on H₂O₂-induced renal epithelial (LLC-PK1) cell injury. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 49-54.
136. Jones EA, Shahed A, Shoskes DA. Modulation of apoptotic and inflammatory genes by bioflavonoids and angiotensin II inhibition in ureteral obstruction. *Urology* 2000; 56: 346-351.
137. Naito M, Wu X, Nomura H, Kodama M, Kato Y, Kato Y, et al. The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *J Atheroscler Thromb* 2002; 9: 243-250.
138. Shen SQ, Zhang Y, Xiang JJ, Xiong CL. Protective effect of curcumin against liver warm ischemia/reperfusion injury in rat model is associated with regulation of heat shock protein and antioxidant enzymes. *WJG* 2007; 13: 1953-1961.
139. Chan MM, Huang HI, Fenton MR, Fong D. In vivo inhibition of nitric oxide synthase gene expression by curcumin, a cancer preventive natural product with anti-inflammatory properties. *Biochem Pharmacol* 1998; 55: 1955-1962.
140. Calabrese V, Butterfield DA, Stella AM. Nutritional antioxidants and the heme oxygenase pathway of stress tolerance: novel targets for neuroprotection in Alzheimer's disease. *Ital J Biochem* 2003; 52: 177-181.
141. Hong J, Bose M, Ju J, Ryu JH, Chen X, Sang S, et al. Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related beta-diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A(2), cyclooxygenases and 5-lipoxygenase. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1671-1679.
142. Jain SK. Hyperglycemia can cause membrane lipid peroxidation and osmotic fragility in human red blood cells. *J Biol Chem* 1989; 264: 21340-21345.
143. Majithiya JB, Balaraman R. Time-dependent changes in antioxidant enzymes and vascular reactivity of aorta in streptozotocin-induced diabetic rats treated with curcumin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 697-705.

144. Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kano S, Naito E, Takeda S, et al. Curcumin anticipates the suppressed body weight gain with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice. *J Health Sci* 2004; 50: 474-482.
145. Ghoneim AI, Abdel-Naim AB, Khalifa AE, El-Denshary ES. Protective effects of curcumin against ischaemia/reperfusion insult in rat forebrain. *Pharmacol Res* 2002; 46: 273-279.
146. Madan B, Ghosh B. Diferuloylmethane inhibits neutrophil infiltration and improves survival of mice in high-dose endotoxin shock. *Shock* 2003; 19: 91-96.
147. Piper JT, Singhal SS, Salameh MS, Torman RT, Awasthi YC, Awasthi S. Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 445-456.
148. Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-kappa B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane) [corrected]. *J Biol Chem* 1995; 270: 24995-25000.
149. Chan MM. Inhibition of tumor necrosis factor by curcumin, a phytochemical. *Biochem Pharmacol* 1995; 49: 1551-1556.
150. Ciolino HP, Daschner PJ, Wang TT, Yeh GC. Effect of curcumin on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A1 in MCF-7 human breast carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 197-206.
151. Jagetia GC, Aggarwal BB. "Spicing up" of the immune system by curcumin. *J Clin Immunol* 2007; 27: 19-35.
152. Li X, Liu X. Effect of curcumin on immune function of mice. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005; 25: 137-140.
153. Churchill M, Chadburn A, Bilinski RT, Bertagnolli MM. Inhibition of intestinal tumors by curcumin is associated with changes in the intestinal immune cell profile. *J Surg Res* 2000; 89: 169-175.
154. South EH, Exon JH, Hendrix K. Dietary curcumin enhances antibody response in rats. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1997; 19: 105-119.
155. Lantz RC, Chen GJ, Solyom AM, Jolad SD, Timmermann BN. The effect of turmeric extracts on inflammatory mediator production. *Phytomedicine* 2005; 12: 445-452.

156. Siddiqui AM, Cui X, Wu R, Dong W, Zhou M, Hu M, et al. The anti-inflammatory effect of curcumin in an experimental model of sepsis is mediated by up-regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Crit Care Med* 2006; 34: 1874-1882.
157. Sidhu GS, Singh AK, Thaloor D, Banaudha KK, Patnaik GK, Srimal RC, et al. Enhancement of wound healing by curcumin in animals. *Wound Repair Regen* 1998; 6: 167-177.
158. Mani H, Sidhu GS, Kumari R, Gaddipati JP, Seth P, Maheshwari RK. Curcumin differentially regulates TGF-beta1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *Bio Factors* 2002; 16: 29-43.
159. Sidhu GS, Mani H, Gaddipati JP, Singh AK, Seth P, Banaudha KK, et al. Curcumin enhances wound healing in streptozotocin induced diabetic rats and genetically diabetic mice. *Wound Repair Regen* 1999; 7: 362-374.
160. Thaloor D, Miller KJ, Gephart J, Mitchell PO, Pavlath GK. Systemic administration of the NF-kappaB inhibitor curcumin stimulates muscle regeneration after traumatic injury. *Am J Physiol* 1999; 277: 320-329.
161. Phan TT, See P, Lee ST, Chan SY. Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *J Trauma* 2001; 51: 927-931.
162. Swarnakar S, Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Maity P, Sharma AV. Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *J Biol Chem* 2005; 280: 9409-9415.
163. Singh AK, Sidhu GS, Deepa T, Maheshwari RK. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett* 1996; 107: 109-115.
164. Rao CV, Rivenson A, Simi B, Reddy BS. Chemoprevention of colon carcinogenesis by dietary curcumin, a naturally occurring plant phenolic compound. *Cancer Res* 1995; 55: 259-266.
165. Huang HC, Jan TR, Yeh SF. Inhibitory effect of curcumin, an anti-inflammatory agent, on vascular smooth muscle cell proliferation. *Eur J Pharmacol* 1992; 221: 381-384.

166. Thaloor D, Singh AK, Sidhu GS, Prasad PV, Kleinman HK, Maheshwari RK. Inhibition of angiogenic differentiation of human umbilical vein endothelial cells by curcumin. *Cell Growth Differ* 1998; 9: 305-312.
167. Aggarwal BB, Bhatt ID, Ichikawa H, Ahn KS, Sethi G, Sandur SK, et al. Curcumin-biological and medicinal properties. *Turmeric the genus curcuma*. Ravindran PN, Babu KN, Sivaraman K (Eds). CRC Press, 2007: 297-368.
168. Mahmoud NN, Carothers AM, Grunberger D, Bilinski RT, Churchill MR, Martucci C, et al. Plant phenolics decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 921-927.
169. Iqbal M, Sharma SD, Okazaki Y, Fujisawa M, Okada S. Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacol Toxicol* 2003; 92: 33-38.
170. Menon LG, Kuttan R, Kuttan G. Inhibition of lung metastasis in mice induced by B16F10 melanoma cells by polyphenolic compounds. *Cancer Lett* 1995; 95: 221-225.
171. Kuo ML, Huang TS, Lin JK. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1317: 95-100.
172. Chen H, Zhang ZS, Zhang YL, Zhou DY. Curcumin inhibits cell proliferation by interfering with the cell cycle and inducing apoptosis in colon carcinoma cells. *Anticancer Res* 1999; 19: 3675-3680.
173. Korutla L, Kumar R. Inhibitory effect of curcumin on epidermal growth factor receptor kinase activity in A431 cells. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1224: 597-600.
174. Aggarwal S, Takada Y, Singh S, Myers JN, Aggarwal BB. Inhibition of growth and survival of human head and neck squamous cell carcinoma cells by curcumin via modulation of nuclear factor-kappaB signaling. *Int J Cancer* 2004; 111: 679-692.
175. Shishodia S, Amin HM, Lai R, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) inhibits constitutive NF-kappaB activation, induces G1/S arrest, suppresses proliferation and induces apoptosis in mantle cell lymphoma. *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 700-713.

176. Inano H, Onoda M, Inafuku N, Kubota M, Kamada Y, Osawa T, et al. Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initiation of mammary tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1835-1841.
177. Mohandas KM, Desai DC. Epidemiology of digestive tract cancers in India. V. Large and small bowel. *Indian J Gastroenterol* 1999; 18: 118-121.
178. Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, Banerjee S, Newman RA, Bueso-Ramos CE, et al. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res* 2005; 1: 7490-7498.
179. Sen S, Sharma H, Singh N. Curcumin enhances Vinorelbine mediated apoptosis in NSCLC cells by the mitochondrial pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 331: 1245-1252.
180. Huang MT, Lou YR, Ma W, Newmark HL, Reuhl KR, Conney AH. Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Res* 1994; 54: 5841-5847.
181. Dorai T, Cao YC, Dorai B, Buttyan R, Katz AE. Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer. III. Curcumin inhibits proliferation, induces apoptosis, and inhibits angiogenesis of LNCaP prostate cancer cells in vivo. *The Prostate* 2001; 47: 293-303.
182. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV. Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *CMLS* 2008; 65: 1631-1652.
183. Inano H, Onoda M. Radioprotective action of curcumin extracted from *Curcuma longa* LINN: inhibitory effect on formation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, tumorigenesis, but not mortality, induced by gamma-ray irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 735-743.
184. Chendil D, Ranga RS, Meigooni D, Sathishkumar S, Ahmed MM. Curcumin confers radiosensitizing effect in prostate cancer cell line PC-3. *Oncogene* 2004; 23: 1599-1607.
185. Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci* 2005; 76: 1575-1588.

186. Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes. *Endocrinology* 2008; 149: 3549-3558.
187. Shah BH, Nawaz Z, Pertani SA, Roomi A, Mahmood H, Saeed SA, et al. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor- and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca²⁺ signaling. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 1167-1172.
188. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 533-540.
189. Han S. Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin. *Dyes and Pigments* 2005; 64: 157-161.
190. Reddy RC, Vatsala PG, Keshamouni VG, Padmanaban G, Rangarajan PN. Reddy Curcumin for malaria therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 326: 472-474.
191. Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *J Ethnopharmacol* 1995; 49: 163-169.
192. Rasmussen HB, Christensen SB, Kvist LP, Karazmi A. A simple and efficient separation of the curcumins, the antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*. *Planta Med* 2000; 66: 396-398.
193. Sng JC, Taniura H, Yoneda Y. Histone modifications in kainate-induced status epilepticus. *Eur J Neurosci* 2006; 23: 1269-1282.
194. Sumanont Y, Murakami Y, Tohda M, Vajragupta O, Watanabe H, Matsumoto K. Prevention of kainic acid-induced changes in nitric oxide level and neuronal cell damage in the rat hippocampus by manganese complexes of curcumin and diacetylcurcumin. *Life Sci* 2006; 78: 1884-1891.
195. Gukovsky I, Reyes CN, Vaquero EC, Gukovskaya AS, Pandol SJ. Curcumin ameliorates ethanol and nonethanol experimental pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 284: 85-95.
196. Holt PR, Katz S, Kirshoff R. Curcumin therapy in inflammatory bowel disease: a pilot study. *Dig Dis Sci* 2005; 50: 2191-2193.

197. Kim DC, Kim SH, Choi BH, Baek NI, Kim D, Kim MJ, et al. Curcuma longa extract protects against gastric ulcers by blocking H2 histamine receptors. *Biolog Pharm Bull* 2005; 28: 2220-2224.
198. Karatepe M. Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America* 2004; 22: 362-365.
199. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
200. Weichert-Jacobsen KJ, Bannowski A, Küppers F, Loch T, Stöckle M. Direct Amifostine effect on renal tubule cells in rats. *Cancer Res* 1999; 59: 3451-3453.
201. Kojima R, Sekine T, Kawachi M, Cha SH, Suzuki Y, Endou H. Immunolocalization of multispecific organic anion transporters, OAT1, OAT2, and OAT3, in rat kidney. *JASN* 2002; 13: 848-857.
202. Schneider R, Sauvant C, Betz B, Otremba M, Fischer D, Holzinger H, et al. Downregulation of organic anion transporters OAT1 and OAT3 correlates with impaired secretion of para-aminohippurate after ischemic acute renal failure in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: 1599-1605.
203. Hediger MA, Johnson RJ, Miyazaki H, Endou H. Molecular physiology of urate transport. *Physiology* 2005; 20: 125-133.
204. Rafey MA, Lipkowitz MS, Leal-Pinto E, Abramson RG. Uric acid transport. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 511-516.
205. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates Cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *JASN* 2001; 12: 2683-2690.
206. Kadikoylu G, Bolaman Z, Demir S, Balkaya M, Akalin N, Enli Y. The effects of desferrioxamine on cisplatin-induced lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rat kidneys. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23: 29-34.
207. Shino Y, Itoh Y, Kubota T, Yano T, Sendo T, Oishi R. Role of poly (ADP-ribose) polymerase in cisplatin-induced injury in LLC-PK1 cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 966-977.

208. Badary OA, Abdel-Maksoud S, Ahmed WA, Owieda GH. Naringenin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci* 2005; 76: 2125-2135.
209. Sener G, Satioglu H, Kabasakal L, Arbak S, Oner S, Ercan F, et al. The protective effect of melatonin on cisplatin nephrotoxicity. *Fundam Clin Pharmacol* 2000; 14: 553-560.
210. Timurkaan M. Sisplatin Nefrotoksisitesi Oluşturulan Ratlarda Epigallokateşin Gallatın Etkilerinin Araştırılması. Elazığ: Fırat Üniversitesi; İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2010.
211. Ulu R. Sisplatin Nefrotoksisitesinde Thymoquinone'nin Koruyucu Etkisinin Araştırılması. Elazığ: Fırat Üniversitesi; İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2011.
212. Fujieda M, Morita T, Naruse K, Hayashi Y, Ishihara M, Yokoyama T, et al. Effect of pravastatin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol* 2011; 30: 603-615.
213. el Daly ES. Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J Pharm Belg* 1998; 53: 87-93.
214. Capizzi RL. Amifostine reduces the incidence of cumulative nephrotoxicity from cisplatin: laboratory and clinical aspects. *Semin Oncol* 1999; 26: 72-81.
215. Yoshida M, Iizuka K, Terada A, Hara M, Nishijima H, Akinori, et al. Prevention of nephrotoxicity of cisplatin by repeated oral administration of ebselen in rats. *Tohoku J Exp Med* 2000; 191: 209-220.
216. Sato S, Yamate J, Saito T, Hosokawa T, Saito S, Kurasaki M. Protective effect of taurine against renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002; 365: 277-283.
217. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43: 145-150.
218. Donatus IA, Sardjoko, Vermeulen NP. Cytotoxic and cytoprotective activities of curcumin. Effects on paracetamol-induced cytotoxicity, lipid peroxidation and glutathione depletion in rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1990; 39: 1869-1875.
219. Reddy AC, Lokesh BR. Effect of dietary turmeric (*Curcuma longa*) on iron-induced lipid peroxidation in the rat liver. *Food Chem Toxicol* 1994; 32: 279-283.

220. Singhal SS, Awasthi S, Pandya U, Piper JT, Saini MK, Cheng JZ, et al. The effect of curcumin on glutathione-linked enzymes in K562 human leukemia cells. *Toxicology Lett* 1999; 109: 87-95.
221. Barclay LR, Vinqvist MR, Mukai K, Goto H, Hashimoto Y, Tokunaga A, et al. On the antioxidant mechanism of curcumin: classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Organic Lett* 2000; 2: 2841-2843.
222. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez-Tortosa CL, et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 147: 371-378.
223. Nirmala C, Anand S, Puvanakrishnan R. Curcumin treatment modulates collagen metabolism in isoproterenol induced myocardial necrosis in rats. *Mol Cell Biochem* 1999; 197: 31-37.
224. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257-267.
225. Jain SK, Palmer M. The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 593-596.
226. Sajithlal GB, Chithra P, Chandrakasan G. Effect of curcumin on the advanced glycation and cross-linking of collagen in diabetic rats. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1607-1614.
227. Kato K, Ito H, Kamei K, Iwamoto I. Stimulation of the stress-induced expression of stress proteins by curcumin in cultured cells and in rat tissues in vivo. *Cell Stress Chaperones* 1998; 3: 152-160.
228. Safirstein R, Miller P, Dikman S, Lyman N, Shapiro C. Cisplatin nephrotoxicity in rats: defect in papillary hypertonicity. *Am J Physiol* 1981; 241: 175-185.
229. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khattab MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002; 132: 123-128.
230. Kuhad A, Pilkhwai S, Sharma S, Tirkey N, Chopra K. Effect of curcumin on inflammation and oxidative stress in cisplatin-induced experimental nephrotoxicity. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 10150-10155.

231. Sayed-Ahmed MM, Eissa MA, Kenawy SA, Mostafa N, Calvani M, Osman AM. Progression of cisplatin-induced nephrotoxicity in a carnitine-depleted rat model. *Chemotherapy* 2004; 50: 162-170.
232. Bolaman Z KM, Demir S, Kadıköylü G, Barutca S, Atalay H, Aslan D. Effect of α -Tocopherol on lipid peroxidation. Caused by cisplatin in Rat Kidney. *Turk J Hematol* 2003; 20: 35–38.
233. Husain K, Morris C, Whitworth C, Trammell GL, Rybak LP, Somani SM. Protection by ebselen against cisplatin-induced nephrotoxicity: antioxidant system. *Mol Cell Biochem* 1998; 178: 127-133.
234. Halliwell B. Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovasc Res* 2000; 47: 410-418.

6. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Gölbaşı'nda doğdum. İlk ve ortaöğrenimimi Gaziantep'de tamamladım. 2002 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Aralık 2008'de Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde İç Hastalıkları ihtisasına başladım ve halen devam etmekteyim.