

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

**DOKSORUBİSİN UYGULANMASININ SIÇAN BÖBREK
DOKULARINDA MEYDANA GETİRDİĞİ DEĞİŞİKLİKLER VE
TRPV1 EKSPRESYONU ÜZERİNE VİTAMİN D’NİN
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Ali GÜREL**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Bilge AYGİN**

**ELAZIĞ
2014**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Ayhan DOĞUKAN

Nefroloji Bilim Dalı Başkanı

Dahili Tıp Bilimleri Bölüm Başkanı

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

Doç. Dr. Bilge AYGEN

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde, eğitimime katkıları olan İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nın başta Anabilim dalı başkanı Prof. Dr. Emir Dönder olmak üzere tüm öğretim üyelerine; Nefroloji Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Ayhan Doğukan, Prof. Dr. Hüseyin Çeliker, Doç. Dr. Bilge Aygen, Yard. Doç. Dr. Ramazan Ulu ve tezimin hazırlanma aşamasında önemli katkıları olan Histoloji- Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr.Tuncay Kuloğlu ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard. Doç. Dr.Ebru Önalın'a teşekkür ederim.

Yine, uzmanlık eğitimi aldığım İç Hastalıkları Anabilim Dalı ve Nefroloji Bilim Dalı'nda çalışan araştırma görevlisi, hemşire, personel arkadaşlarıma ve uzmanlık eğitimim boyunca desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) Yönetim Birimi Başkanlığı tarafından TF.13.34 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Antrasiklin grubu bir antineoplastik olan doksorubisin (DXR), hayvan modellerinde ve insanlarda nefrotoksik etkiler gösterebilmektedir. Bu çalışmada doksorubisin uygulaması ile böbrek dokusunda meydana gelen değişiklikler ve TRPV1 kanalları üzerine vitamin D'nin etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada 24 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 6 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 14 günlük deney süresince Grup I'e herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup II'ye 10 mg/kg intraperitoneal (i.p) tek doz doksorubisin, Grup III'e 10 mg/kg i.p tek doz doksorubisin ile birlikte oral 200 IU/gün kolekalsiferol ve Grup IV'e oral 200 IU/gün kolekalsiferol uygulandı.

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

İmmünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında doksorubisin grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde azalma olup, vitamin D uygulamasının bu azalmayı geri döndürmediği saptandı. TUNEL tekniği ile bakılan apoptozisin doksorubisin grubunda arttığı ve vitamin D uygulamasıyla kısmen geri döndüğü saptandı. Doku malondialdehid (MDA) seviyelerinin de apoptoz bulgularıyla paralellik gösterdiği görüldü.

Bu çalışma ile doksorubisinin böbrek dokusunda meydana getirdiği değişikliklere karşı vitamin D'nin anti-apoptotik etki gösterdiği ve antioksidan etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, böbrek, trpv1, vitamin D.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VITAMIN D ON RENAL TISSUES AND TRPV1 CHANNELS OF DOXORUBICIN ADMINISTERED RATS

Doxorubicin is an antineoplastic agent in anthracycline group, and may show nephrotoxic effects in animal models and in humans. In this study we investigated the changes in the kidney tissue with doxorubicin treatment, and the effects of vitamin D on TRPV1 channels.

In this study, 24 adult male Wistar Albino rats were used. Animals were divided into 4 groups as 6 animals in each group. During the 14-day experiment period Group I did not have any application. Group II had 10 mg / kg single dose of doxorubicin intraperitoneally (ip); Group III had 10 mg / kg single dose of ip doxorubicin and oral 200 IU / day cholecalciferol; and to Group IV oral 200 IU / cholecalciferol was administered.

At the end of the experiment the rats were decapitated and kidney tissues were removed. Tissues were controlled with light microscope and embedded in paraffin blocks. The findings examined and photographed. As result of immunohistochemical staining and examination with light microscope; TRPV 1 immunoreactivity of DXR group decreased in comparison with control group, and vitamin D application did not reverse this effect. Apoptosis detected by the TUNEL method, tended to increase in the doxorubicin group and partly reversed with vitamin D administration. Tissue malondialdehyde (MDA) levels were observed to correlate with the findings of apoptosis.

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

Keywords: Doxorubicin, kidney, trpv 1, vitamin D.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Böbrek	2
1.1.1.1. Böbrek Anatomisi	2
1.1.1.2. Böbrek Embriyolojisi ve Histolojisi	4
1.1.1.3. Böbrek Fizyolojisi	6
1.1.2. Dokсорubisin	7
1.1.2.1. DXR aracılı kardiyotoksisite	9
1.1.2.2. DXR aracılı hepatotoksisite	9
1.1.2.3. DXR aracılı nekroz	9
1.1.2.4. DXR aracılı nefrotoksisite	10
1.1.3. Dokсорubisin Nefropatisinin Deneysel Modeli	10
1.1.3.1. DN Modelinin Avantaj ve Dezavantajları	10
1.1.3.2. DN’de farmakokinetik	11
1.1.3.3. DN’de DXR Uygulaması	11
1.1.3.4. DN’ne Genetik Yatkınlık	12
1.1.3.5. DN Patogenezi	12
1.1.4. Oksidatif Sistem	14
1.1.4.1. Lipid Peroksidasyonu	14
1.1.4.2. Malondialdehid	14
1.1.4.3. Lipid Peroksidasyonun Sonuçları	15
1.1.4.4. Böbrek ve Serbest Oksijen Radikalleri	16
1.1.4.5. Antioksidan Savunma Sistemleri	17

1.1.4.6. Antioksidanların Sınıflandırılması	17
1.1.4.7. Antioksidanların Olası Etki Mekanizmaları	18
1.1.5. Vitamin D	18
1.1.5.1. Vitamin D Biyoaktivasyonu	18
1.1.5.2. 1,25- (OH) ₂ D ₃ Metabolizması	21
1.1.5.3. Vitamin D'nin taşınması	22
1.1.5.5. Vitamin D'nin biyolojik etkileri	25
1.1.5.5.1. Klasik vitamin D yanıtı organlar	25
1.1.5.5.2. Vitamin D'nin klasik olmayan etkileri	26
1.1.6. Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 Kanalları (TRPV1)	27
1.1.6.1. TRPV1 ve 4 Kanallarının Elektrofizyolojik Özellikleri	28
1.1.6.2. TRPV1'in Endojen Modülatörleri	28
1.1.6.3. TRPV1 ve PI3K	29
1.1.6.4. TRPV1 ve Böbrek Fizyolojisi	29
1.1.6.5. KBY'de TRPV1	30
1.1.6.6. ABY'de TRPV1	30
2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1. Deney Hayvanları	33
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	34
2.3. Örneklerin Alınması	34
2.4. MDA düzeyinin saptanması	34
2.5. TUNEL Metodu	35
2.6. İmmünohistokimya Metodu	36
2.7. İstatistiksel analiz	37
3. BULGULAR	38
3.1. MDA düzeyi	38
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	38
3.2.1. TRPV1 İmmünreaktivitesi	38
3.3. TUNEL Bulguları	40
4. TARTIŞMA	41
5. KAYNAKLAR	47
6. ÖZGEÇMİŞ	68

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünölen renal hastalıklar	16
Tablo 2.	Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması	17
Tablo 3.	Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri	33
Tablo 4.	TUNEL boyama prosedürü	36
Tablo 5.	İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi	37
Tablo 6.	Tüm parametrelerin gruplar arasındaki değışimi	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	DXR'in yan etkileri	8
Şekil 2.	DXR'in kimyasal yapısı	8
Şekil 3.	D vitaminin metabolizması	19
Şekil 4.	D vitaminin dokulardaki etkileri	20
Şekil 5.	Vitamin D'nin böbrek tübül hücresinden difüzyonu	23
Şekil 6.	Vitamin D VDR etkileşimi	24
Şekil 7.	Aktif D vitaminin kalsiyum homeostazisindeki rolü	25
Şekil 8.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi	39
Şekil 9.	DXR verilen gruba ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.	39
Şekil 10.	DXR + Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.	39
Şekil 11.	Vitamin D verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.	39
Şekil 10.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).	40
Şekil 11.	DXR verilen gruba ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).	40
Şekil 12.	DXR + Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).	40
Şekil 13.	Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).	40

KISALTMALAR LİSTESİ

ADR	: Adriamisin
CAT	: Katalaz
DBP	: Vitamin D bağlayıcı protein
DN	: Doksorubisin nefropatisi
DXR	: Doksorubisin
FSGS	: Primer fokal segmental glomeruloskleroz
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GSH	: Glutasyon
İGSÜ	: İleri glikasyon son ürünleri
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
MDA	: Malondialdehid
PG	: Prostaglandin
SOD	: Süperoksitdismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TNF	: Tümör nekrozis faktör
TRPV1	: Transient reseptör potansiyel vanilloid 1
TRPV1	: Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 Kanalları
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ

Böbrekler, karın boşluğunda retroperitoneal olarak yerleşmiş, omurganın iki yanında bulunan organlardır (1). Böbreğin temel fonksiyonu, inen aortadan dallanan böbrek arterlerinden gelen kanın filtrasyonudur (2). Glomerüllerden süzerek oluşturdukları idrar ile, kandan toksik metabolizma ürünlerini uzaklaştırır, idrarın yoğunluk ve yapısını değiştirmek suretiyle de organizmanın sıvı-elektrolit metabolizmasını, asit-baz dengesini ayarlarlar (3). Böbrekler, maruz kaldıkları büyük miktardaki kandan filtrasyon, reabsorbsiyon ve ekskresyon fonksiyonları ile 1,5-2,5 litre idrar oluştururlar. Fazla kanlanan organlar olmaları nedeniyle kan içinde bulunan toksik maddelere de maruz kalma ve etkilenme olasılıkları fazladır (4).

Antrasiklinler, birçok solid tümör ve lösemi tedavisinde kullanılan çok geniş spektrumlu ve etkili antineoplastik ajanlardır. En yaygın kullanılan antrasiklinler doxorubisin, daunorubisin ve idarubisindir (5-7). Antrasiklinler, antitümör ve sitotoksik etkilerini, replikasyon, transkripsiyon ve rekombinasyon gibi çoğu DNA işlemleri sırasında DNA topolojisini regüle eden nükleer bir enzim olan DNA topoizomeraz II ile etkileşerek göstermektedir (8, 9). DXR kinon içeren antrasiklin grubu bir antibiyotik olup, yüksek antitümör etkinliğe sahiptir ve ilk olarak 1969'da bulunmuştur (7, 10). DXR, Streptomyces peucetius kültürlerinden izole edilmiş olup, hematolojik maligniteler, lösemi, meme kanseri ve AIDS ilişkili Kaposi sarkomu gibi neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (11, 12).

Doksorubisin aracılı nefrotoksisitenin kesin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Fakat çoğu araştırmacıya göre DXR'in oluşturduğu hücresel hasar serbest antrasiklin radikallerinin oluşturduğu ciddi plazma membranı hasarına bağlı olarak ortaya çıkar (13).

Vitamin D, makrofajlar, dendritik hücreler, CD4+ ve CD8+ T lenfositler gibi immün sistem hücrelerinde bulunan vitamin D reseptörleri aracılığıyla immün modülatör etkiler göstermektedir (14, 15). İnsan böbrek hastalıklarının vitamin D yetersizliği ya da eksikliğiyle ilişkili olduğu bilinmektedir (16).

Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1)- pozitif sensoriyal sinirlerin kardiyovasküler fonksiyonlar, kan basıncı ve vücut ağırlığı üzerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (17-23). İn vivo olarak ya da izole edilmiş perfüze

böbreklerde TRPV1'in aktivasyonu glomerüler filtrasyon hızını ve renal sodyum ve su ekskresyonunu artırır (24).

Malondialdehid poliansatüre yağ asidi peroksidasyon ürünlerinin başlıcası ve üzerinde en çok çalışılanıdır. 1960'lardan bu yana bu molekülü saptamak ve in vivo ve in vitro oksidatif stresi değerlendirmek için çeşitli metodlar kullanılmıştır (25). Reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar, "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu baskırlar (26).

Bu çalışmada antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri olduğu bilinen vitamin D'nin doksorubisin nefrotoksitesi oluşturulan ratlarda koruyucu etkileri incelenmiştir.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Böbrek

1.1.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler, filtrasyon, reabsorbsiyon ve ekskresyon fonksiyonları ile maruz kaldıkları yüksek volümdeki kandan 1,5-2,5 litre idrar oluşturlar. Karın boşluğunda, retroperitoneal yerleşmiş olan böbrekler, 130-150 gr ağırlığında, koyu kahverenkli ve gevrek yapıda parenkimi olan organlardır. Sağ böbreğin üst ucu T12, sol böbreğin üst ucu ise T11 vertebra seviyesindedir. Alt uçları L3 vertebra seviyesinde olup crista iliaca'dan yaklaşık 2,5 cm yukarıdadır. Karaciğer nedeni ile sağ böbrek, soldakinden 2 cm kadar daha aşağıdadır. Sağ böbreğin ön yüzü; adrenal bez, karaciğerin sağ lobu, kolon ascendens, fleksura koli dekstra, duodenumun ikinci parçası ve jejunum kıvrımları ile komşudur. Sol böbreğin ön yüzü; adrenal bez, dalak, mide, pankreas gövdesi, splenik damarlar, flexura koli sinistra, kolon descendensin başlangıcı ve jejunum kıvrımları ile komşudur. Böbreklerin üst-iç yüzleri adrenal bez ile komşudur. Arka yüz hafif konvektir, diyafragma, musculus (m) psoas major, m. quadratus lumborum, m. transversus abdominis, subcostal ven-arter-sinir, nervus (n) iliohypogastricus ve n. ilioinguinalis'le komşudur. Her bir böbrek, üç katmanlı bir destek ve örtü dokusu ile sarılmıştır. Bu oluşumlar derinden

yüzeye doğru fibröz kapsül, adipoz kapsül ve renal fasyadır. Fibröz kapsül, böbreği dıştan sarar. Sağlam, genişleme kabiliyeti az, bağ dokusundan yapılmış bir fibröz doku katmanıdır. Böbreklerin tüm yüzlerini hilus da dahil olmak üzere tamamen örter. Fakat böbrek dokusuna tamamen yapışmadığından kolayca altındaki dokudan sıyrılabilir. Adipoz kapsül, fibröz kapsülün dış tarafında bulunan yağ tabakasıdır. Böbreği travmalara karşı korur. Yağ dokusu renal hilustan içeri girerek sinus renalis’de bulunan oluşumların arasındaki boşlukları doldurur. Renal fasya, adipoz kapsülün dış tarafında olup, karın duvarındaki ekstrapitoneal yağ dokusunun yoğunlaşması ile oluştuğu kabul edilir. Renal fasya ve adipoz kapsül, böbreği adrenal bezle beraber sarmıştır (1, 27-29).

Böbreğin koronal kesiti yapılırsa korteks ve medulla olmak üzere iki kısımdan meydana geldiği görülür. Medulla, en içte bulunan sinus renalis ile dıştaki korteks arasında yer alır. Kırmızımsı renkte ve çizgilidir. Tepeleri sinüse tabanları ise kortekse uzanan 8-18 kadar koni görülür. Bunlar renal piramitlerdir. Bu piramitlerin tepeleri (papilla renalis) sinusta yer alan küçük kalikslere (calices minores) girer. Renal papillaların içinde porus denilen bir takım delikler bulunur. Renal piramitler, nefronun distal tübülleri ile toplayıcı tübülleri içerir. Piramidal borucukların içinde bulunan filtrattaki suyun reabsorbsiyonunu sağlayarak idrarı konsantre ederler. Toplayıcı tübüller daha büyük olan duktus papillaris (bellini kanalı)’lere, duktus papillaris’ler ise piramitlerin tepesindeki foramen papillaris’ler aracılığı ile küçük kalikslere açılırlar. Korteks, renal piramitlerin tabanı ile böbrek kapsülü arasındaki kısımdır. Sarımsı kırmızı renktedir. Korteks, piramitlerin etrafını sararak böbrek sinüsüne doğru uzanır. Korteks kökenini nefrojen dokudan alır ve idrar yapan oluşumları ihtiva eder. Çok sayıda düz ve kıvrımlı tübüller, kan damarları ve gözle görülebilen sferik yapılar (corpusculum renale)’dan oluşur. Korteksin böbrek kapsülüne yakın olan dış kısmına zona eksterna, malpighi piramitlerine yakın olan iç kısmına zona interna denir. Malpighi piramitleri arasında da daha koyu renkli kortikal bir doku bulunur. Piramitleri birbirinden ayıran bu kolonlar Bertin kolonları (columnae renales) olarak adlandırılır. Piramitlerin tabanlarından korteks içine doğru uzantılar olup, bunlara stria medullaris adı verilir. İki stria medullaris arasında kalan korteks bölümüne böbrek lobulusu denir. Her böbrek lobulusu ortasında interlobuler

arter ve ven bulunur. Bir renal piramid ve etrafını saran kortikal cevhere topluca lobus renalis denir ve sayıları 8 ila 18 arasındadır (1, 27-29).

Nefron, böbreğin en küçük fonksiyonel ünitesi olup, glomerül, Bowman kapsülü ve tübüllerden meydana gelir. Kardiyak output'un % 20-25'ini alan böbrekler, dakikada 1,2 litre, günde ise yaklaşık 1700 litre kan alır. 1700 litre kanın onda bir kadarı (yaklaşık 170 litre) glomerüler filtrat, glomeruler filtratın ise %1 kadarından (1,7-2 litre) idrar oluşur. Böbrekler, L1-L2 vertebralar arası discus seviyesinde, aorta abdominalisten ayrılan renal arterler tarafından beslenir. Aorta abdominalisten başlayan böbrek arterleri, birçok dallanmadan sonra vas afferens olarak glomerül içine girer, buradan vas efferens olarak çıkan damarlar, renal vende toplanarak sonunda vena cava inferior'a açılırlar. Böbreklerin lenf damarlarının çoğu kan damarları ile beraber hilusa doğru ilerleyerek sonunda nodi lymphatici lumbalesse dökülürler. Böbreğin yüzeyel lenf damarları ile fibröz kapsüle ait olan lenf damarları adipoz kapsüle ait olan lenf damarları ile birleşerek komşu lenf nodlarına dökülürler. Plexus renalisden çıkan sinir dalları arteria renalisini takip ederek böbreğin renal parankiminin içine ilerleyip nefronların hücrelerine kadar giderler. Parasempatikleri n.vagus'dan, sempatikleri n.splanchnicus minor ve n.splanchnicus minimus aracılığıyla Th10 -Th12 ve L1 segmentlerinden gelir (1, 27-29).

1.1.1.2. Böbrek Embriyolojisi ve Histolojisi

Genitoüriner sistem, dorsal aortanın her iki tarafındaki ürogenital kabartı denilen longitudinal bir mezoderm (intermediyer mezoderm) kabartısından gelişir. Ürogenital kabartının üriner sistemi oluşturacak olan bölümüne nefrojenik kabartı adı verilir. Gebeliğin 4. haftasında, embriyonun enine kıvrıldığı dönemde, ara mezoderm genital kabartının lateralinde yer alan segmental olarak düzenlenmiş nefrotomları oluşturmak üzere ardışık somitlerden ayrılır. Nefrojenik kabartının servikal ve yukarı torasik bölgeleri nefrotom olarak bilinen segmental hücre topluluklarını oluşturur. Nefrojenik kabartı (kordon)'nın, aşağı torasik, lumbal ve sakral bölgeleri segmentli değildir. Segmentli bölgeden pronefroz, segmentsiz bölgelerden ise mezonefroz ve metanefroz gelişir. İnsanlarda intrauterin hayatta kranialden kaudale doğru, farklı üç böbrek sistemi peş peşe ve kısmen de üst üste binecek şekilde oluşur. Bunlar; pronefroz, mezonefroz ve metanefroz'dur. Pronefroz rudimenter ve işlevsizdir;

mezonefroz intrauterin yaşamın erken döneminde kısa süre fonksiyon görebilir; metanefrozdan ise kalıcı böbrekler meydana gelir. Metanefrozda kalıcı böbrekler beşinci haftanın başında gelişimine başlarlar ve yaklaşık dört hafta sonra fonksiyonel hale gelirler. Kalıcı böbrekler mezoderm kaynaklı iki farklı kökene sahiptir;

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

Metanefrik divertikül mezonefrik duktusun kloakaya giriş yerine yakın, dışa doğru yapmış olduğu divertiküldür. Metanefrik mezoderm ise nefrojenik kordonun kaudal kısmından köken almaktadır. Metanefrik divertikül (üreter tomurcuğu); mezonefrik kanaldan dışa doğru bir büyüme ile oluşur ve bundan üreterler, renal pelvisler, kaliksler ve renal toplayıcı sistem gelişir. Metanefrik mezoderm (metanefrojenik blastem)'den ise böbreğin yapısındaki nefronlar gelişir. Kalıcı böbrekler, 9. haftadan başlayıp fetal hayat boyunca idrar oluştururlar. İdrar amniyon boşluğuna salınır ve amniyon sıvısı ile karışır. Bu idrarla karışık amniyon sıvısından fötüs hergün birkaç litre yutar. Sıvı, fötüs barsaklarından emilir, artık ürünler fötüsün kan dolaşımına oradan da temizlenmek için plasenta membranı aracılığı ile anne karnına taşınır. Doğumdan sonra, interstisyel dokunun artmasının yanı sıra, özellikle proksimal tübülüslerin ve henle kulpunun uzaması sonucu böbrek hacmi artar. Prematüre böbrekler dışında nefron oluşumunun doğumda sona erdiği bilinmektedir. Böbreklerin işlevsel olgunlaşması ise doğumdan sonra da sürmektedir (28-33).

Nefron böbreğin işlevsel birimidir. Her böbrek 1 milyon civarında nefron içerir. Her nefron genişlemiş bir kapiller ağ olan glomerül ile onu çevreleyen çift yapraklı bir zar olan Bowman kapsülü, proksimal kıvrımlı tübül, Henle kulpunun ince ve kalın uzantıları, distal kıvrımlı tübül ve toplayıcı tübüllerden oluşmaktadır. Her böbrek cisimciğinin çapı yaklaşık 200 µm'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü denen iki tabakalı epitelden oluşmuş bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (viseral tabaka) glomerülün kapillerini dış taraftan sarar. Dış tabaka böbrek cisimciğinin dış taraftaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır. Her böbrek cisimciğinde afferent arteriyollerin girdiği ve efferent arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu bulunur.

Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitel, proksimal tübül için tipik olan tek katlı prizmatik yada tek katlı kübik epitele dönüşür. Embriyonik gelişim sırasında viseral tabaka büyük ölçüde değişime uğrayarak bu tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bu hücreler ayaklı hücreler (podosit) adını alır. Her bir primer uzantı ayakçık (pedisel) denen glomerülün kapillerlerini saran çok sayıda ikincil uzantı oluşturur. Porlu glomerül endoteli, bazal lamina ve podositlerin ayakçıkları birlikte böbrek cisimciğinin süzücü duvarını oluşturup, su ve iyonların geçmesine izin verirken hücrelerin ve büyük protein moleküllerinin geçişini engellerler (2, 34, 35).

1.1.1.3. Böbrek Fizyolojisi

Böbreklerin önemli fonksiyonlarından biri eksojen veya vücutta metabolizma sonucu oluşan atıkların organizmadan uzaklaştırılmasıdır. Oldukça kritik olan diğer bir görev, vücut sıvılarının hacim ve bileşimini kontrol etmektir. Su ve bütün elektrolitlerin vücuda giren ve vücutta oluşan miktarları arasındaki denge, önemli ölçüde böbrekler tarafından sağlanır. Böylelikle böbrekler, hücrelerin işlevlerini yapabilecekleri uygun homeostazisi sağlamış olurlar. Böbrekler toksin atılımı ve sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesi yanında vücut sıvılarının osmolalitesinin ve elektrolit yoğunluğunun düzenlenmesi, asit baz dengesinin düzenlenmesi, arteriyel kan basıncının düzenlenmesi, hormonların salgılanması, metabolize edilmesi, atılması ve glukoneogenez gibi önemli görevleri de yerine getirmektedir.

Böbreğin başlıca işlevleri şunlardır;

- Vücut sıvılarının içeriğinin korunması: Böbrekler, vücuttaki sıvı volümünü, ozmolaritesini, elektrolit içeriğini, konsantrasyonunu ve asiditesini düzenler. Bu düzenlemeyi, idrarla atılan su ve elektrolit miktarını değiştirerek sağlarlar.
- Metabolik son ürünlerin ve yabancı maddelerin vücuttan uzaklaştırılması: Metabolizma ürünleri, çeşitli toksin ve ilaçları ekskrete ederler.
- Enzim ve çeşitli hormonların sentez ve sekresyonu:
 - a) Renin, anjiyotensinojenden anjiyotensin oluşumunu katalize eden, jukstaglomerüler aparatın granüler hücreleri tarafından salgılanan bir enzimdir.

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

- b) Renal kortikal interstisyel hücreler tarafından yapılan eritropoetin, kemik iliğinde eritrosit olgunlaşmasını uyarır.
- c) Vitamin D₃'ün aktif formu olan 1,25- Dihidroksivitamin D₃, proksimal tüp epitel hücreleri tarafından oluşturulur. Bu steroid hormon vücuttaki kalsiyum ve fosfor dengesinin sağlanmasında önemli rol oynar.
- d) Pankreasta yapılan insülinin yaklaşık %20'si renal tübüler hücrelerde parçalanır.
- e) Prostaglandin (PG) sentezi yapılır. Böbrek medullası, vazodilatatör etkili olan PGA₂ ve PGE₂ sentezler (36-38).

1.1.2. Doksorubisin

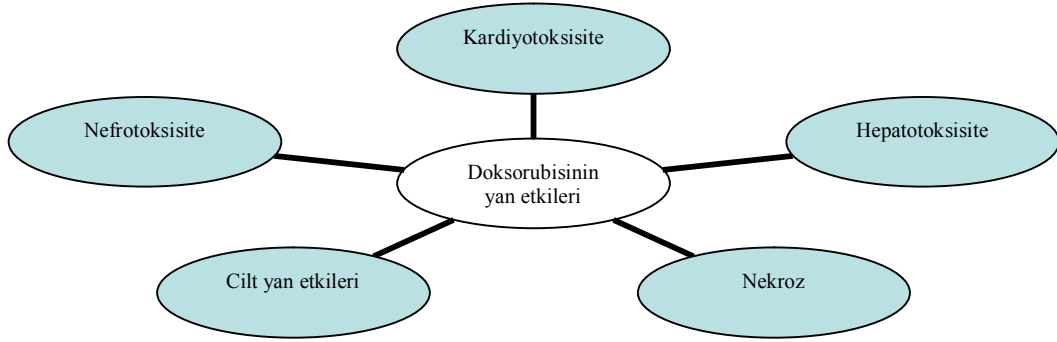
Antrasiklinler, birçok solid tümör ve lösemi tedavisinde kullanılan çok geniş spektrumlu ve etkili antineoplastik ajanlardır. En yaygın kullanılan antrasiklinler doxorubisin, daunorubisin ve idarubisindir (5-7).

Antrasiklinler, antitümör ve sitotoksik etkilerini, replikasyon, transkripsiyon ve rekombinasyon gibi çoğu DNA işlemleri sırasında DNA topolojisini regüle eden nükleer bir enzim olan DNA topoizomera II ile etkileşerek göstermektedir (8, 9).

DXR kinon içeren antrasiklin grubu bir antibiyotik olup, yüksek antitümör etkinliğe sahiptir ve ilk olarak 1969'da bulunmuştur (7,10).

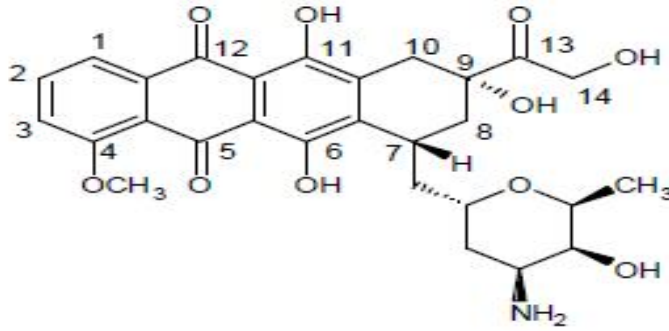
Doksorubisin, streptomyces peucetius kültürlerinden izole edilmiş olup, hematolojik maligniteler, lösemi, meme kanseri ve AIDS ilişkili Kaposi sarkomu gibi neoplastik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (11,12). DXR, over, akciğer, testis, prostat, serviks, mesane kanserleri ve Ewing sarkomu tedavisinde de etkilidir (39)

Doksorubisinin kanser tedavisindeki klinik etkinliğine hepatotoksisite, nefrotoksisite, cilt toksisitesi ve kardiyomiyopati gibi doz kısıtlaması gerektiren yan etkiler tesir etmektedir (40-42). Ayrıca DXR kilo kaybı, uzamış kullanım süresi ve yüksek doz kullanımında ölüme de neden olabilmektedir. Özellikle kardiyak yan etkilerinden kaçınmak için bir kişiye uygulanabilecek DXR dozunun 450- 550 mg/m² 'nin altında tutulması gerekir (43-45).



Şekil 1. DXR'in yan etkileri (13).

Doksorubisin kinon içeren bir tetrasiklin halka ve iki karbonlu yan zincirden ibaret olup, C-13'de karbonil parçacık, C-14'de primer alkol ve C-7'de amino şeker (daunozamin) tetrasiklin halkaya glikozidik bağla bağlanmıştır (46).



Şekil 2. DXR'in kimyasal yapısı (13).

Doksorubisinin kinon-semikinon redoks siklusunun, antineoplastik etkinliği açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Birçok çalışma DXR'in antikanser etkisini iki yolla ortaya çıkardığını öne sürmektedir. Bunlardan ilki serbest oksijen radikalleri (SOR) üretimi, öteki ise ilacın DNA molekülüne eklenip topoizomerez II'yi aktive etmek yoluyla meydana getirdiği DNA zincir kırılmalarıdır (47-50). DXR ayrıca tümör hücrelerinin immünojenitelerini de potansiyalize etmektedir. Güncel çalışmalar DXR'in kalretikülin molekülünü hücre yüzeyine aktardığını ortaya koymuştur. Bu molekülün hücrenin 'beni ye' sinyali üretmesine ve tümör hücrelerinin immün hücreler tarafından fagosite edilmesine aracılık ettiği düşünülmektedir. Sonuç olarak tümör immünojenitesi artmış olmaktadır (51-53).

DXR'in sitotoksik ajanlarla kombinasyonu ve tam hücre aşılarının transjenik farelerde antitümör yanıtı artırdığı görülmüştür (54).

1.1.2.1. DXR Aracılı Kardiyotoksisite

Kardiyotoksisite potent bir antineoplastik ajan olan DXR'in terapötik potansiyelini ve kullanımını ciddi biçimde kısıtlayan en önemli yan etkidir (12, 55).

İlaç miyokard hücrelerinde doz bağımlı birikici bir hasar oluşturup, miyokard fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır. Toplamda 500 mg/m² üzeri DXR dozlarında klinik olarak aşikar kardiyotoksisite görülebilmektedir (56, 57). Son zamanlarda DXR aracılı kardiyotoksisitenin artmış miyokardiyal SOR birikimine, bozulmuş kalsiyum homeostazına ve mitokondriyal hasra bağlı olabileceği görüşleri ağırlık kazanmıştır (42, 58-63).

1.1.2.2. DXR Aracılı Hepatotoksisite

Doksorubisinin bazal metabolizmayı etkileyerek hepatotoksik etkiler oluşturduğu bilinmektedir. DXR ile karaciğerde yalnızca SOR üretimi artmaz, aynı zamanda bunların detoksifikasyonu da azalır (64-67).

Deneyisel modellerde DXR uygulaması sonrası inflamatuvar hücrelerin granümatöz lezyonlar ve periportal fibrozis oluşturduğu da görülmüştür (68).

1.1.2.3. DXR Aracılı Nekroz

İntravenöz infüzyon yoluyla uygulanan ilacın interstisyel alana sızması ekstrasvazasyon olarak adlandırılır (69). Ekstrasvazasyon DXR uygulamasının önemli yan etkilerinden biridir. DXR canlı hücrelere direkt toksik etkiler göstererek hücre ölümüne neden olur ve hücre içindeki DXR- DNA kompleksleri intraselüler alana geçer ve bunlar yara iyileşmesini sağlayan sitokin ve büyüme faktörlerinin salınmasını engelleyerek cilt nekrozlarının gelişmesine neden olurlar. DXR cilt nekrozuna belirtilen bu mekanizmaya ek olarak bölgesel mononükleer hücre artışı ve damar konjesyonlarına sebep olarak da yol açabilir (70-72).

1.1.2.4. DXR aracılı nefrotoksisite

Doksorubisin aracılı nefrotoksisitenin kesin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır (13). Fakat çoğu araştırmacıya göre DXR'in oluşturduğu hücrel hasar serbest antrasiklin radikallerinin oluşturduğu ciddi plazma membranı hasarına bağlı olarak ortaya çıkar. DXR uygulaması sonrası böbreğin antioksidan özellikleri zayıflar ve bir tür renal akut böbrek yetmezliği (ABY) tablosu oluşur. Bunun sonucu olarak da böbrekte süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve glutatyon (GSH) gibi antioksidan moleküllerin düzeyleri azalırken, malondialdehid (MDA) ve eşdeğerleri gibi SOR moleküllerin konsantrasyonlarında belirgin artışlar görülür (73,74).

1.1.3. Doksorubisin Nefropatisinin Deneysel Modeli

Kronik böbrek hastalığı (KBH)'nın çoğu tipi glomerüloskleroz, tübülointerstisyel inflamasyon ve fibrozis gelişimiyle karakterizedir. Doksorubisin kemirgen modellerinde renal hasarı indüklediği bilinen ve primer fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS)'a benzer tablo oluşturan bir ajandır (75). Olasılıkla antrasiklinlere bağlı gelişen böbrek hasarı ilk olarak 1970'de Sternberg tarafından yayınlanmıştır (76). Adriamisin (ADR) aracılı renal hasar tanımı ise ratlarda 1976'da (77) ve farelerde ise 1998'de (78) yapılmıştır. 1977'de Burke ve arkadaşları 78 yaşında bir erkekte doksorubisin uygulaması sonrası böbrek yetmezliğini tanımlamışlardır (79). O günden bu yana doksorubisin nefropatisi (DN) etrafıca çalışılmış ve altta yatan süreçler anlaşılmaya çalışılmıştır.

1.1.3.1. DN Modelinin Avantaj ve Dezavantajları

Doksorubisin nefropatisi kolayca oluşturulabilir ve kuvvetli bir renal doku hasarlanması modelidir, zira ciddi doku hasarı oluşur ve mortalite (<5%) ve morbidite (kilo kaybı) kabul edilebilir sınırlardadır. İlaç uygulaması sonrası birkaç gün içinde böbrek hasarı gelişmeye başladığı için hasarlanma zamanlamasını öngörmek mümkündür. Yapısal ve işlevsel olarak bu hasarlama modeli, insanların kronik, proteinürik böbrek hastalığına önemli ölçüde benzerlik göstermektedir. DN modeli rat ve farelerde hemen hemen aynıdır. Hastalığın çalışılması için kemirgen modeli idealdir. Çünkü kemirgenlerin kısa üreme periyotları, hayvan ve

malzemelerin kolay ve ucuz oluğu ve genetik manipölasyonlara da olanak tanınması potansiyel avantajları oluşturmaktadır (80).

Doksorubisin nefropatisinin dezavantajlarından biri farklı doksorubisin müstahzarlarıyla aynı şiddette renal hasar oluşturulamayabilmesidir. Kuyruk veni ya da intraperitoneal DXR uygulanması yetenekli uygulayıcılar gerektirmektedir. DXR'in terapötik indeksi dar bir ilaç olması 0,5 mg/kg gibi küçük doz sapmalarının bile düşük doz uygulamasıyla yetersiz renal hasarlanma yada fazla dozda ölüme neden olabilmesiyle sonuçlanabilmektedir. DXR, DN geliştirmesi açısından tür içinde veya türler arasında değışkenlikler gösterebilmektedir.

1.1.3.2. DN'de farmakokinetik

İnsanlarda DXR plazmadan hızla temizlenir ve önemli ölçüde dokulara bağlanır. Ağırlıklı olarak karaciğer tarafından metabolize edilir. Uygulanan dozun %4-5'i 5 gün içinde idrarla atılırken, %40-50'si 7 gün içinde safra yoluyla atılır (81). Rat ve farelerde ise intravenöz uygulama sonrası ilaç hızla plazmadan temizlenip dokularda depolanır ve yavaşca idrar ve safraya salınır. DXR önemli bir metabolizmaya uğramaz. Ağırlıkla böbrekte fakat az miktarda da olsa karaciğer, kalp ve ince barsakta birikir (82). Olasılıkla nefrotoksisitenin altında bu durum yatıyor olabilir.

1.1.3.3. DN'de DXR Uygulaması

Doksorubisin uygulamasında ideal rejim tür, cins, cinsiyet, yaş, kaynak gibi faktörlere bağlıdır. Erkek Wistar ratlarda DXR dozu 1,5- 7,5 mg/ kg aralığındadır. Uygulama yolu olarak kimi çalışmalarda kuyruk veni seçilse de, ekstrevasyona bağlı cilt nekrozu bu yolun önemli komplikasyonudur. DXR'ın dar terapötik indeksine bağlı olarak uygulanan ilaç miktarındaki küçük değışimler gelişen renal hasar ciddiyetini önemli ölçüde etkileyebilir. İntrakardiyak ve intrarenal uygulamalar da olmasına rağmen, rutin deneysel modellerde kullanımları yaygın değildir. İntraperitoneal uygulama peritondan emilimdeki değışkenliklere bağlı olarak renal hasarlanma sağlamadaki standardizasyon güçlüklerine karşın, uygulama kolaylığı sağlaması nedeniyle tercih edilen bir yöntem olarak düşünölebilir (83). DN'ne erkek ratlar, dişi ratlara göre daha duyarlı ve eğilimlidir. Kastre edilmiş erkek ratlarda DN

gelişim olasılığının azalmış olması, DN patogeneğinde seks hormonlarının önemli olabileceğini düşündürmektedir (84).

Doksorubisin nefropatisinde histopatolojik değişiklikler podosit füzyonu, tübülointerstisyel inflamasyon, fibrozis ve sklerozla seyreden insan FSGS hastalığı ile benzerlikler gösterir (85). DXR glomerüler endotelde incelleme ve podosit efasmanı oluşturarak plazma proteinlerine karşı olan boyut ve yük spesifik filtrasyon bariyerinin kaybına neden olur (86). Bu değişiklikler uygulama sonrası 1-2 haftada başlamakla beraber 4. haftada en ciddi halini alır. Kemirgenlerdeki bu deneysel modelde insan nefrotik sendrom (NS) ve KBH ile uyumlu şekilde artmış kreatinin, azalmış kreatinin klerensi, azalmış serum albumini, dislipidemi ve artmış üriner protein atılımı gibi böbrek fonksiyon bozuklukları da görülür. Bu hayvanların böbreklerinin histopatolojik incelemesinde tübülointerstisyel alanda ciddi lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu görülür (85). DN'li böbreklerde CD4+ ve CD8+ hücrelerde artış olurken, dalakda artış olmaması bu hücrelerin renal hasarlanmayı modüle ettiklerini düşündürmektedir. Gebe hayvanlarda gebelik öncesi ya da sırasında DXR uygulaması ile annede olduğu kadar fütüste de renal hasarlanma ortaya çıkmaktadır (87).

1.1.3.4. DN'ne Genetik Yatkınlık

Deneysel genetik çalışmalar 16. kromozom üzerindeki resesif geçişli tek bir gen lokusunun DN'ne duyarlılığı belirlediğini göstermiştir. Bu lokustaki allellerin, 8. kromozomda bulunan ve hücrel kemoterapötik duyarlılığıyla ilgili olan arginin metiltransferaz ekspresyonuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir (88). Genetik altyapı DN'nin şiddetini de etkilemektedir. Aynı çalışmalarda, 8. kromozomdaki bir başka gen lokusunun da nefropatinin şiddet ve ilerlemesiyle ilgili olduğu ortaya konmuştur. Lenfosit sayısı da DN gelişimi açısından bir belirleyici olabilir (89).

1.1.3.5. DN Patogenezi

Adriamisin böbrekteki etkilerini, direkt glomerüler hasar ve sonrasında da tübülointerstisyel hasar oluşturma yoluyla meydana getirir. DXR glomerüler endotelial hücreler (glikokaliksi de etkileyerek), glomerül bazal membranı ve podositleri etkileyerek glomerüler filtrasyon bariyerinde değişikliklere neden olur.

Glikokaliksin kalınlığı azalır, glomerül endotel hücresi por kalınlığı artar, glomerüler elektriksel yük özgülüğü azalır ve podosit ayaksı çıkıntılarında düzleşmeler gözlenir. Tüm bu değişiklikler glomerüler endotelyal hücrelerce üretilen glikokaliksin içerdiği proteoglikan ve glikozaminoglikanların glomerül hücreleri tarafından üretiminin azalması ile ilişkilidir (90). ADR'in direkt renal hasar oluşturuıcı etkisini göz önüne sermesi bakımından, arteri bağlanan böbreklerde hasar gelişiminin olmadığı deneysel model önem taşımaktadır (91).

Doksorubisin nefropatisi gelişim mekanizmaları arasında serbest radikal üretimin artması önemlidir. Myxine glutinosa (hagfish) glomerüllerinde ADR uygulaması sonrası glomerül ATPaz aktivitesi azalırken, su geçirgenliği artmakta ve bu değişiklikler sülfidril vericisi olan N-asetil sistein uygulamasıyla geri dönmektedir. İlâveten ADR uygulanması sonrası karaciğer, böbrek ve kalpte antioksidan glutatyon düzeyleri azalırken, lipid peroksid düzeylerinin arttığı görülmektedir (92). İleri glikasyon son ürünleri (İGSÜ) reseptörleri olmayan farelerin ADR aracılı podosit hasarından ve proteinüriden korunduğu görülmüştür. İGSÜ ligandı aracılı renal hasarlanmada NADP- oksidaz ve p44/p42 MAP kinaz sinyal yolaklarının aktivasyonu ve profibrotik büyüme faktörlerinin upregülasyonu önemli rol oynamaktadır (93).

Otaki ve ark. (94) DN'de slit diyaframla ilişkili değişiklikleri çalışmışlardır. ADR uygulaması sonrası 7 gün gibi erken dönemde slit diyafram molekülleri olan nefrin, podosin ve NEPH1 (fakat ZO-1 ve CD ilişkili protein değil) ekspresyonlarında podosit hasarıyla uyumlu şekilde sürekliden, sürekli olmayan dot-benzeri bir patern gelişir. Özellikle NEPH1 orantısızca etkilenir. Uygulamanın 7. gününde glomerüler lizatların immünpresipitasyon ve western blot ile çalışılması sonucu nefrinin büyük ölçüde NEPH1'e affinitesini kaybettiği görülmüştür. Bu çalışmadaki bilgi ve bulgular, doğası gereği gözlemsel olduğu için DN'de slit diyafram anormallikleri erken kritik olaylar olarak işaret edilmiştir.

Mikroarray çip teknolojisi kullanılarak yapılan gen profillemesi sonucu tanımlanan gen ağlarının DN'deki tübülointerstisyel fibrozisin potansiyel yönlendiricisi olduğu gösterilmiştir. Sadlier ve arkadaşları, fibrozis patogeneğinde daha önceden tanımlanmış yolaklar (transforme edici büyüme faktörü beta 1- bağ doku büyüme faktörü fibronektin- 1 yolağı) yanında ekstraselüler matriks üretimiyle

ilgili endoglin, clusterin ve gelsolin gibi yeni genleri de tanımlamışlardır (95). Bu genlerin bir bölümü (claudin- 1 gibi) ayrıca tübüler epitelyum hücrelerinin epitelyal-mezenkimal dönüşümü ile de ilişkilidir. ADR tübülotoksisitesi, glomerüller üzerine olan hasarlandırıcı etkilerinden bağımsız olup, tübül hücresi kemokin salınımı (CCL2 ve CCL5 gibi) ve SOR ve/veya Fas/FasL etkileşimi sonucu gelişen oksidan hasarlanma yoluyla olmaktadır.

1.1.4. Oksidatif Sistem

Oksijen doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız yapısından kurtulabilmek için başka bir oksijen atomunun dış yörüngesindeki iki elektronu ortaklaşa kullanarak “Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)”ni oluşturur (96). SOR lipid, protein ve nükleik asitler gibi hücre bileşenlerini okside etme kapasitesine sahiptir. Özellikle hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri oksidasyona duyarlıdır ve bunların oksidasyonu lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarının başlamasına neden olur. Bir reaksiyon zincirinin başlaması, öteki reaksiyon zincirlerinin başlamasına ve şiddetlenmesine neden olur ve bunun sonucunda yaygın peroksidasyon, membran lipid tabakasının yapısal bütünlüğünde bozulma, membran geçirgenliğinde artış, iyon transportunda bozulma ve hücre lizisi ortaya çıkar. SOR bileşiklerinin neden olduğu oksidatif stresin kanser, diyabet, ateroskleroz, ilaçlara bağlı nefrotoksisite gibi birçok olayın patogenezinde ve komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (97).

1.1.4.1. Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri etkisiyle ortaya çıkan bozuklukların başında hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu (LPO) gelmektedir. LPO, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membranların yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (98).

1.1.4.2. Malondialdehid

Lipidlerinin peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA)’dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit meydana gelir. Oluşan malondialdehid, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon

geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara yol açar. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilir ve bundan ötürü mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (99).

Lipid peroksidasyonu, lipid moleküllerindeki iki ansatüre bağ arasında yerleşmiş metilen grubundan bir hidrojen atomunun çıkması ile başlayan karmaşık bir olaydır. Sonuçta yeni bir karbon merkezli lipid serbest radikali oluşur. Oksijen varlığında bu yeni lipid serbest radikalinden lipid peroksitleri veya hidroperoksitleri oluşmaktadır. Bu son ürünler nispeten daha kararlı bir son ürün olan ve lipid peroksidasyonunun belirteci olarak kullanılabilen MDA'ye dönüşür (100). 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 azot bazlarıyla reaksiyona girmektedir. MDA, bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (101-103).

Malondialdehid poliansatüre yağ asidi peroksidasyon ürünlerinin başlıcası ve üzerinde en çok çalışılanıdır. 1960'lardan bu yana bu molekülü saptamak ve in vivo ve in vitro oksidatif stresi değerlendirmek için çeşitli metodlar kullanılmıştır. Biyolojik örneklerdeki başlıca MDA kaynağı, poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonudur. Geçtiğimiz 20 yıl içinde MDA lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak kabul edilmiş olup çeşitli hastalıklarda düzeyleri ölçülüp değerlendirilmiştir. Kanseri etyolojisinde lipid peroksidasyonu net bir örnek olarak değerlendirilebilir. Bu durumda MDA lipid peroksidasyonunu gösteren bir biyomarker olup aynı zamanda kanser gelişiminin de potansiyel bir nedenidir (104).

1.1.4.3. Lipid Peroksidasyonun Sonuçları

Lipid peroksitleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe, Cu gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bu nedenle Fe veya Cu tuzları lipid peroksidasyonunu katalize ederler. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intrasellüler sindirime yol açar. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin

yanında duyarlı aminoasit kalıntılarını (methionin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon tepkimeleriyle enzimleri inaktive edebilirler (105-107).

Yağ asidi hidroperoksitlerinin başka bir toksik etkisi de araşidonik asit metabolizmasında gözlenir. Yüksek lipid peroksid seviyeleri prostasiklin sentezini güçlü bir şekilde inhibe edeceğinden araşidonik asit metabolizması tromboksan sentezine doğru kayar ve sonuçta nötrofil stimülasyonu, süperoksit anyon üretimi ve trombosit agregasyonu tekrar modüle olur (26).

1.1.4.4. Böbrek ve Serbest Oksijen Radikalleri

Hayvan çalışmalarında SOR'nin akut-kronik ve/veya immün ve immün olmayan böbrek hastalarında patofizyolojik önemi saptanmıştır. Tablo 1'de patogeneze serbest oksijen radikallerinin rolü gösterilmiş renal patolojiler sıralanmıştır (108).

Tablo 1. Serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünülen renal hastalıklar

Glomerüler hastalık

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

Akut böbrek yetmezliği

- Postiskemik
- Toksik: Sisplatin, gentamisin, vankomisin, amikasin
- Kontrast nefropati, miyoglobininüri/hemoglobininüri, radyasyon

Obstruktif nefropati

Pyelonefrit

İlerleyici böbrek yetmezliği

Çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezinde rolü olduğu ortaya konmuştur. Farklı iskemi ve inflamasyon modellerinde SOR'nin glomerüler hasara neden olduğu saptanmıştır (108).

1.1.4.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest oksijen radikalleri düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması mevcuttur. Bunlar, “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya SOR’ni toplayarak lipid peroksidasyonunu baskırlar (109, 110).

1.1.4.6. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidan maddeler endojen, eksojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar olarak 3 grupta toplanırlar (111). Tablo.2’de antioksidan maddelerin sınıflaması gösterilmiştir.

Tablo 2. Antioksidan Maddelerin Sınıflandırılması

I-Endojen antioksidanlar
1-Enzim olanlar
a-Mitokontrial 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, urat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutatyon
II- Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)
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 faktör (TNF), IL-1
8- Demir şelatörleri
III- Gıda antioksidanları
1- Butylated Hydroxytoluen (BHT)
2- Butylated Hydroxyanisone (BHA)
3- Sodyum Benzoat
4- Fe-Süperoksid Dismutaz

1.1.4.7. Antioksidanların Olası Etki Mekanizmaları

1) Reaktif oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme 'toplayıcı etki' dir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Reaktif oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme 'bastırıcı etki' dir. Vitaminler, flavanoidler bu tip etkiye sahiptirler.

3) Reaktif oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki 'zincir kırıcı' etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu tip etki gösterirler.

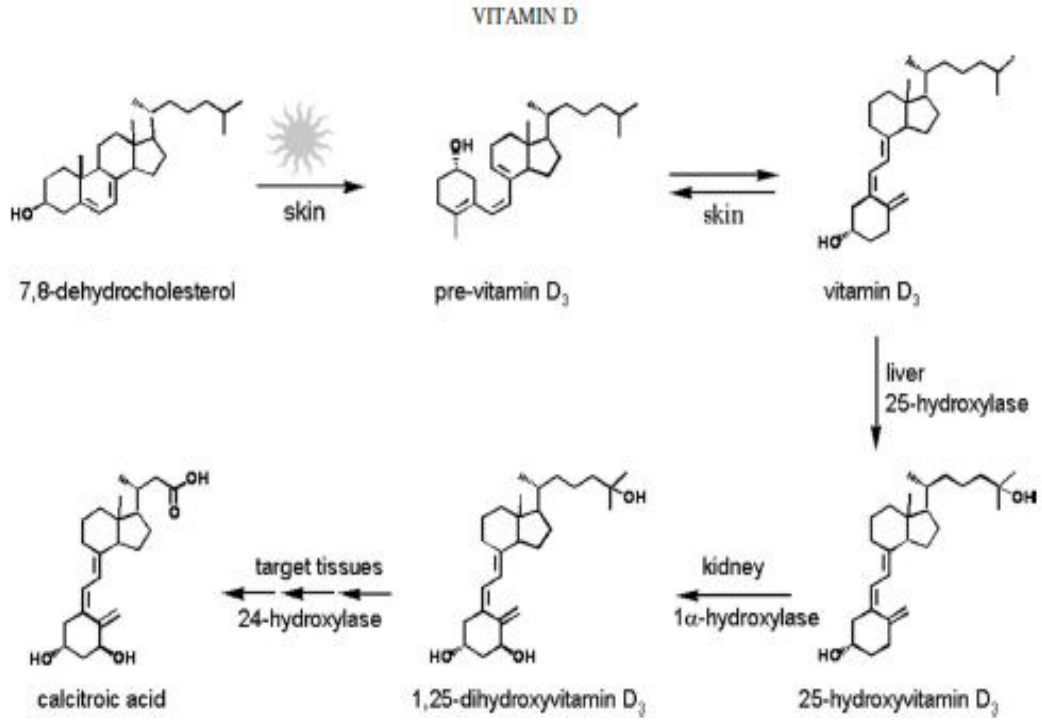
4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması 'onarıcı etki' dir (112).

1.1.5. Vitamin D

1.1.5.1. Vitamin D Biyoaktivasyonu

Vitamin D diyetle alınabildiği gibi, güneş ışığının etkisiyle ciltte de oluşturulabilir. Cildin güneş ışığındaki ultraviyole (UV) ışınlarına maruz kalması sonrası 7- dehidrokolesterol fotolitik dönüşümle previtamin D₃'e ve sonra da termal izomerizasyonla vitamin D₃'e dönüşür (113, 114). Doğal gıdaların yalnızca çok küçük bir bölümü yeterli miktarda vitamin D₂ ve D₃ içerirken, günümüzde çoğu gıdaya Vitamin D ilavesi yapılmaktadır. Yine de gıdalarla yetersiz alım, güneşten kaçınma ve güneş koruyucuların kullanımı nedeniyle vitamin D yetersizliği tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir. Bu durum, vitamin D yetersizliğinin kanser, otoimmün hastalıklar ve hipertansiyon gibi pek çok hastalıkla ilişkili olması nedeniyle önem taşır (115).

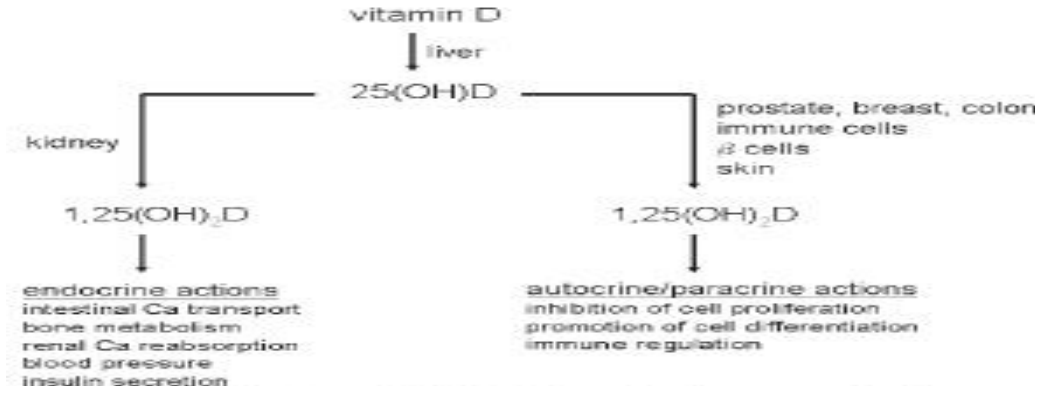
Vitamin D'nin metabolik aktivasyonundaki ilk basamak 25. karbonun başta karaciğerde olmak üzere hidroksilasyonudur.



Şekil 3. D vitaminin metabolizması

Karaciğerde CYP2C11, CYP27A1 ve CYP3A4 hariç öteki sitokrom P450 enzimlerinin çoğunun vitamin D bileşenlerini 25- hidroksile ettiği düşünülmektedir. CYP2R1 karaciğer ve testiste bulunan bir sitokrom P450 enzimi olup, hem vitamin D₂ ve hem de vitamin D₃'ü 25- hidroksile etmekte ve 2R1 gen mutasyonlarında hastalarda 25- hidroksi vitamin D düzeyleri düşük saptanmakta ve rikets görülebilmektedir (116).

Vitamin D biyoaktivasyonunda ikinci basamak ise fizyolojik koşullarda böbrekte gerçekleşen 1 alfa, 25- dihidroksivitamin D (1,25- (OH)₂ D) oluşumudur (117). (Şekil 1). Öteki bazı hücre tipleri dolaşan vitamin D düzeylerine gebelik, KBY, sarkoidoz, tüberküloz, granümatöz hastalıklar ve Romatoid artrit durumlarında etki ediyor olabilir. Fakat bu ekstrarenal kaynaklı 1,25- (OH)₂ D genellikle hücre- spesifik etkiler oluşturan otokrin/ parakrin etkilerden sorumludur. Bu güne değin 1α- hidroksilaz prostat, meme, kolon, akciğer, pankreas beta hücreleri, monositler ve paratiroid hücreleri olmak birçok hücre ve dokuda tanımlanmıştır (118). (Şekil 4).



Şekil 4. D vitaminin dokulardaki etkileri

Renal 1α -hidroksilaz aktivitesi kalsiyum homeostazını sağlamak üzere önemli biçimde kontrol altındadır. Diyet kalsiyumu direkt olarak ve indirekt olarak da parathormon (PTH) üzerinden enzim aktivitesini kontrol altında tutar (119).

Paratiroidektomi 1α - hidroksilazın hipokalsemi ile uyarılmasını köreltse de tamamen ortadan kaldırmaz (120). Kalsiyumun direkt olarak 1α - hidroksilaz aktivitesi ve mRNA'sını baskılaması insan proksimal tübül hücre hatlarında gösterilmiştir (121). Bu etkiye kalsiyum algılayıcı reseptörlerin (CaSR) aracılık edip etmediği henüz bilinmemektedir. PTH, renal proksimal tübül hücrelerinde 1α -hidroksilaz gen transkripsiyonunu artıracak biçimde cAMP üzerinde değişiklikler yaparak 1α - hidroksilaz aktivitesi ve mRNA'sını direkt olarak düzenler (122).

Diyette fosfat kısıtlanması, PTH ve kalsiyumdan bağımsız olarak 1α -hidroksilaz aktivitesi ve mRNA'sını artırır (123). Hücre kültürlerinde fosfatın 1α -hidroksilaz üzerine direkt etkisinin olmaması, diyet fosfatının etkilerine sistemik bir hormonun aracılık edebileceğini düşündürmektedir. Bu etkiye aracılık etmesi olası ajanlar son dönemde tanımlanmış olan fosfatürik faktörler yada fosfatoninler olan fibroblast büyüme faktörü 23(FGF-23), frizzled- ilişkili protein 4 (FRP-4), ve matriks ekstraselüler fosfoglikoproteinprotein (MEPE)'dir (124). FGF-23 renal fosfat reabsorbsiyonunu NPT2'yi inhibe ederek azaltır. FGF-23 fosfat yüklenmesiyle artan ve fosfat homeostazında rol alan bir moleküldür. FGF-23 eksprese eden transjenik farelerde düşük plazma fosfat düzeylerine rağmen azalmış $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_3$ düzeyleri saptanmıştır (125). FRP-4 uygulamasıyla hipofosfatemi geliştiği saptanmıştır fakat $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_3$ ve 1α - hidroksilaz düzeyleri artmamıştır ve bu durum FRP-4'ün $1,25\text{-}(\text{OH})_2\text{D}_3$ üzerine baskılayıcı etki gösterdiğini düşündürmektedir (126). Benzer şekilde MEPE'nin in vivo olarak overekspresyonu hipofosfatemiye ve $1,25\text{-}(\text{OH})_2$

D₃ düzeylerinde azalmaya neden olur (127). Böylelikle tüm fosfatoninler dolaşan 1,25- (OH)₂ D₃ düzeylerini değiştirmekte ve belki de 1 α - hidroksilaz tarafından yapılan fosfat kontrolüne aracılık etmektedir.

Aktif vitamin D₃ (D1,25-(OH)₂D₃)'ün feedback kontrolü kendi dolaşan düzeylerini sınırlar ve vitamin D intoksikasyonunu en aza indirir. Her ne kadar in vivo etkiler kısmen de olsa artmış kalsiyum, fosfat ve azalmış PTH'a bağlı olsa da böbrek hücre kültürlerinde 1 α - hidroksilaz aktivitesinin direkt baskılanması kaydedilmiştir (128). 1,25- (OH)₂ D₃ tedavisiyle 1 α - hidroksilaz mRNA'sında azalma görülür (129), fakat son kanıtlara göre bu durum 1,25- (OH)₂ D₃'ün direkt etkisinden ve reseptörünün 1 α - hidroksilaz gen promoterine olan etkisinden ziyade promoter etkinliğinin PTH (cAMP) tarafından indüklenmesinin inhibisyonuna bağlıdır (130).

Renal 1,25- (OH)₂ D₃ üretimini kontrol eden bir başka olası faktör de Klotho geni ürünüdür. Klotho geni olmayan farelerde artmış 1,25- (OH)₂ D₃, yüksek plazma kalsiyum ve fosfat düzeyleri olup, bu hayvanlar ektopik kalsifikasyonlara bağlı olarak erkenden ölürlere (131). Hiperkalsemi, hiperfosfatemi ve düşük PTH'a rağmen bazal 1 α - hidroksilaz düzeyinin yüksek olması, klotho gen ürününün 1 α - hidroksilazın negatif kontrolörü olduğunu düşündürmektedir. Klotho 1,25- (OH)₂ D₃ tarafından da indüklenmektedir (132).

Böbrek dışı dokulardaki 1 α - hidroksilaz kontrolü böbrektekinden oldukça farklı olup, lokal üretilen 1,25- (OH)₂ D₃'ün otokrin/ parakrin işlevleriyle ilişkilidir. 1,25- (OH)₂ D₃ sentez ve yıkımı sitokinler ve büyüme faktörleri gibi lokal faktörlerin kontrolündedir.

1.1.5.2. 1,25- (OH)₂ D₃ Metabolizması

Aktif vitamin D₃'ün serum kalsiyum ve fosfatını artıran yüksek potansiyeli, etkinliğini zayıflatacak bir mekanizma gerektirmektedir. Vitamin D tarafından indüklenebilen dokulardaki 24- hidroksilaz enzimi 24 ve 23. Karbon atomlarında bir seri oksidasyon tepkimesini katalizleyip yan zincir ayrılması ve böylelikle inaktivasyona neden olur. İşlevsel 24- hidroksilaz enzimi olmayan farelerde, parçalanma kapasitesinin azalmış olmasına bağlı olarak yüksek serum 1,25- (OH)₂ D₃ düzeyleri görülür (133). 24- hidroksilaz ve 1 α - hidroksilaz arasında karşılıklı bir kontrol mevcuttur. 24- hidroksilazın aktivite ve ekspresyonu fosfat tarafından

arttırılırken (123), PTH tarafından azaltılır (107). 24- hidroksilaz geni en az 2 ayrı vitamin D yanıt ögesi ihtiva eder ve bunlar da transkripsiyon reseptörleri vasıtasıyla 1,25- (OH)₂ D₃'ün etkilerine aracılık ederler (134).

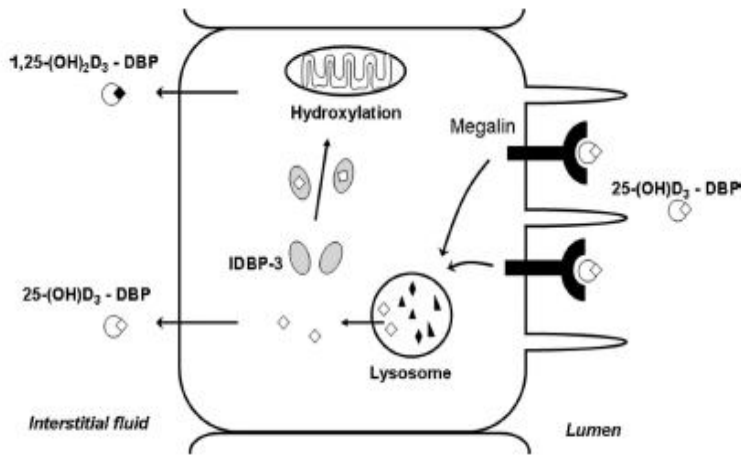
Aktif vitamin D₃ ayrıca 1,25(R)-(OH)₂D₃- 23(S), 26-lactona da dönüştürülebilir ve bu metabolit 1,25- (OH)₂ D₃ etkilerine karşı hafif antagonistik etki gösterir (135,136). Son çalışmalarda kimi hücrelerde 1,25- (OH)₂ D₃'ün 3β hidroksil grubu 3 α pozisyonuna epimerize olabildiği (3- epimeraz enzimi ile) gösterilmiş olup (137) 1,25(OH)₂-3-epi-D₃ biyolojik aktivitesini koruyarak daha yavaş metabolize olduğu gösterilmiştir. Bu epimer sayesinde spesifik olarak 3-epimeraz içeren hücrelerde hormon aktivitesinin uzaması sağlanırken, proapoptotik etkinlikleri de artmaktadır (138).

1.1.5.3. Vitamin D'nin taşınması

Vitamin D metabolitleri suda çok az çözünebilen lipofilik moleküller oldukları için dolaşımda plazma proteinlerine bağlanarak taşınırlar. Bu taşıyıcılar arasında en önemlisi vitamin D bağlayıcı protein (DBP) olup, metabolitlere afinite sırası 25(OH)D= 24,25(OH)₂D >1,25(OH)₂D > vitamin D şeklindedir (139). DBP'in plazma düzeyi, vitamin D metabolitlerinden 20 kat yüksek olup, dolaşan vitamin D bileşenlerinin %99'dan fazlası başta DBP ve daha az oranda albumin ve lipoproteinlere olmak üzere proteinlere bağlıdır. Bu durum bu bileşenlerin farmakokinetikleri açısından önemlidir. DBP- bağlı vitamin D'nin hedef hücrelere ulaşımı daha sınırlı (139) ve dolayısıyla hepatik metabolizma ve biliyer salgılanmaya daha az maruz olmaları dolayısıyla dolaşımdaki yarı ömürleri daha uzundur. Aktif vitamin D bileşenlerinin serbest formlarının konsantrasyonu arttıkça biyolojik etkinlikleri de korele biçimde artmaktadır (140). Dolayısıyla DBP, serbest vitamin D bileşenlerini tamponlayıp, intoksikasyona engel oluyor gibi görünmektedir (141). DBP düzeyleri vitamin D tarafından kontrol edilmeyip, karaciğer hastalığı, nefrotik sendrom ve malnutrisyonda azalırken, gebelik, östrojen tedavisiyle de artmaktadır. DBP düzeyleri değişse de sabit tutulma çabası içinde olan serbest 1,25- (OH)₂ D₃ düzeyleri vitamin D metabolizmasındaki self- kontrolün örneklerindendir. Esasında DBP geni olmayan farelerde düşük 25- (OH) D ve 1,25- (OH)₂ D düzeylerine karşın

rikets belirtilerinin olmaması yukarıda belirtilen serbest hormon hipotezini destekler niteliktedir.

Öte yandan 25(OH)D'nin 1 α - hidroksilaz içeren proksimal tübül hücrelerine kolayca diffüze olmadığı artık bilinmektedir. Endositik reseptör megalinden yoksun farelerde vitamin D eksikliği geliştiği ve idrarda DBP ve ona bağlı vitamin D metabolitlerinin kaybına bağlı olarak rikets geliştiği görülmüştür (142). Böylece 25(OH)D'nin proksimal tübüle girişi bazolateral yüzey boyunca difüzyon yoluyla olmayıp Şekil 5'de gösterildiği gibi fırçamsı kenardan DBP'nin reseptör aracılı alımı şeklinde olur.



Şekil 5. Vitamin D'nin böbrek tübül hücresinden difüzyonu

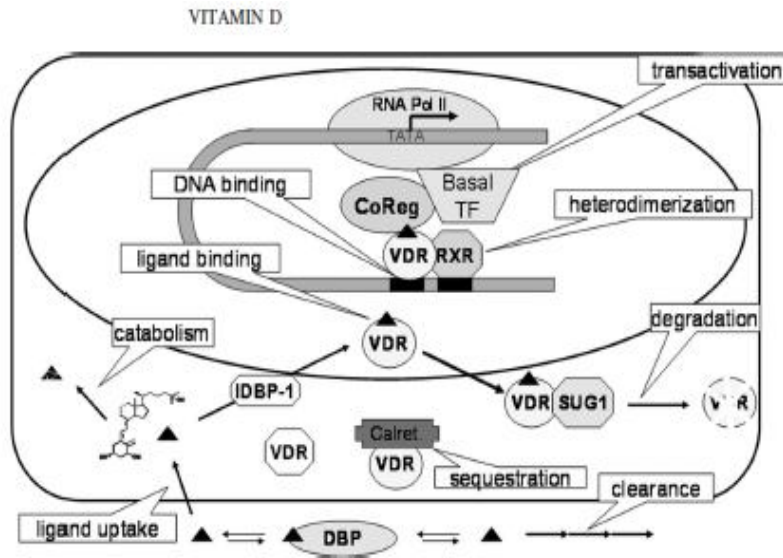
Vitamin D bağlayıcı protein geni olmayan farelerin vitamin D intoksikasyonuna dirençli olması bu mekanizmayla açıklanabilir (143). DBP geni olmayan fareler vitamin D intoksikasyonuna dirençli olduğuna göre 25(OH)D'nin DBP'den bağımsız alımı da söz konusu olmalıdır. Megalin burada endositozu kolaylaştıran protein kompleksinin bir parçasıdır. Yine reseptör ilişkili protein (RAP) de gerekli olup, yokluğu DBP'nin ekskresyonuna yol açar (144), çünkü RAP kübilinin uzaklaştırılmasını sağlar (145) ve kübilin de megalin tarafından içeri alınmadan önce DBP'nin hücre yüzeyinde sekestre olması için gerekli bir proteindir. Hücre içine girdikten sonra legumain tarafından DBP parçalanır (146) ve açığa çıkan 25(OH)D 1 α - hidroksilaz veya 24- hidroksilaz tarafından metabolize olur ve burada 25(OH)D'nin mitokondriye geçişi de pasif olmaktan ziyade kolaylaştırılmış yolla olmaktadır. Megalinin intraselüler COOH terminali en az iki vitamin D bağlayan proteinle etkileşir; bunlar IDBP-1 ve IDBP- 3'tür (147). IDBP'ler ısı şok

proteinlerinin homologları olup, 25(OH)D bileşenleri yanında östradiole de (148) bağlanırlar ve farklı fonksiyonlar gösterirler. Megalin eksprese eden hücrelerde IDBP-3'ün overekspresyonu 25(OH)D'nin hidroksile edilmek üzere mitokondriye hareketini artırır. Aslında IDBP-3, 1 α -hidroksilaz ile direkt olarak etkileşim içinde gibi görünmektedir. Öte yandan IDBP-1'in overekspresyonu 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ 'ün VDR'ne hareketini artırır. Megalinin VDR koaktivatörü olan SKI- etkileşimli protein (Skip)'e bağlandığı da gösterilmiş olup, bu da vitamin D aktivitesini kontrol ettiğinin bir başka göstergesidir (149).

Megalin düzeylerinin 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ tarafından artırılması (150), 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ üretiminde bir feed- forward (ileri besleme) mekanizması sağlar. Parsiyel (3/4) nefrektomi, ratlarda kalan böbrek dokusunda 2 hafta içinde megalin ekspresyonunda düşmeye neden olur ve sonrasında da 1 α -hidroksilaz mRNA'sında artış görülür. Böylelikle azalmış megalin seviyeleri ve renal kitle kaybına bağlı azalmış sentez kapasitesi kompanse edilmiş olur (151). Bu bulgu erken böbrek yetmezlikli olgularda vitamin D desteğinin önemini desteklemektedir.

1.1.5.4. 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ - VDR etkileşimi

Atif vitamin D $_3$ 'ün birçok biyolojik etkisi için ihtiyaç olan yüksek affinitedeki reseptör VDR olup, bu reseptör steroid hormonların nükleer reseptörleri ailesinin bir üyesidir. Bu reseptör ailesinin öteki üyeleri gibi VDR de ligand tarafından aktive edilen transkripsiyon faktörü olarak etki eder (152) (Şekil 6).

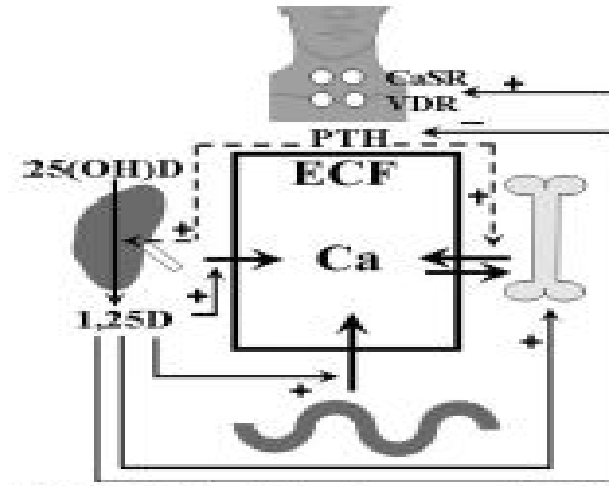


Şekil 6. Vitamin D- VDR etkileşimi

1.1.5.5. Vitamin D'nin biyolojik etkileri

1.1.5.5.1. Klasik vitamin D yanıtı organlar

Şekil 7'de özetlendiği üzere böbrek, kemik, paratiroid bezi ve barsaklar arasında mevcut olan ve normal hücre fizyolojisi ve iskelet bütünlüğünü sağlamak üzere ekstraselüler kalsiyum düzeylerini dar bir aralıkta tutan etkileşimin ana bileşenlerinden biri vitamin D endokrin sistemidir.



Şekil 7. Aktif D vitaminin kalsiyum homeostazisindeki rolü

Vitamin D ince barsaklardan kalsiyum ve fosfor absorpsiyonu için, mineralize bir kemik dokunun gelişmesi ve sürdürülmesi için ve paratiroid fonksiyonlarının düzenlenmesi için gereklidir.

Paratiroid bezleri: Vitamin D endokrin sistemi paratiroid fonksiyonunun etkin bir düzenleyicisidir. Vitamin D eksikliği paratiroid hiperplazisine, artmış PTH sentez ve salınımına neden olurken $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ uygulaması PTH sentez ve paratiroid hücre hücre büyümesini inhibe eder ve böylelikle KBY'de gelişen sekonder hiperparatiroidizm tedavisinde $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ tedavisi etkilidir (153). PTH geninin $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ - VDR kompleksi tarafından baskılanmasının yanı sıra $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ hem paratiroid bezindeki VDR düzeyini ve hem de kalsiyuma paratiroid bezinin yanıtını da kontrol eder. KBY'li farelerde serum $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ seviyesi ile paratiroid VDR protein içeriği arasında direkt ve güçlü bir korelasyon vardır (154). Dahası, profilaktik $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ uygulaması KBY progresyonuna katkıda bulunan paratiroid VDR ekspresyonundaki azalmayı engeller. KBY'de uzamış $1,25-(\text{OH})_2$

D₃ eksikliği paratiroid VDR ve CaSR düzeyinde önemli azalmaya neden olur ve bu nedenle PTH sentezini baskılamak için yüksek serum kalsiyum ya da 1,25- (OH)₂ D₃ dozlarına gereksinim duyulur (153).

Böbrek: 1,25- (OH)₂ D₃'ün böbrekteki en önemli endokrin işlevi 1 α -hidroksilazı baskılayıp, 24- hidroksilazı stimüle ederek ve proksimal tübülde megalin ekspresyonunu indükleyerek kendi homeostazı üzerine sıkı bir kontrol sağlamasıdır (150).

Aktif vitamin D₃ renal kalsiyum absorpsiyonu ve kalbindin ekspresyonunu artırıp, kalsiyumun idrara salgılanmasının en son belirleyici noktası ve yüksek VDR içeriğine sahip olan distal tübülde PTH- bağımlı kalsiyum transportunu hızlandırır (155). 1,25-(OH)₂ D₃ aracılı kalsiyum reabsorpsiyonunda, TRPV ailesinin bir üyesi olan epitelyal kalsiyum kanalları (ECaC- TRPV5) önemli bir hedeftir. İnsan böbrek ECaC promoterinde bazı VDR bağlantı bölgeleri mevcuttur. Dolaşan 1,25- (OH)₂ D₃ düzeylerindeki azalma birlikte kanalın protein ve mRNA düzeylerinin ekspresyonunda belirgin düşüşle sonuçlanır (156).

Atif vitamin D₃ tedavisi, PTH'dan bağımsız antiproliferatif etkiler yanında podosit kaybı ve hipertrofinin önlenmesi yoluyla glomerüloskleroz gelişimi ve albuminüri progresyonunu azaltır (157).

1.1.5.5.2.Vitamin D'nin klasik olmayan etkileri

Genetik, nutrisyonel ve epidemiyolojik anormallikler vitamin D endokrin sistemiyle, kalsiyum homeostazıyla ilişkisiz olarak etkileşerek hipertansiyon, bozulmuş kas fonksiyonu, enfeksiyonlara eğilim, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalıkla sonuçlanabilir (158, 159).

Vitamin D tedavisinin malign hücre büyümesini baskılayıcı, hiperproliferatif hastalıklarda apoptozisi indükleyici, immün yanıtı modüle edici, insülin salınımı- kas fonksiyonlarını- sinir sistemini kontrol edici etkileri çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur.

Renin- anjiyotensin sistemi (RAS) kan basıncı, elektrolitler ve volüm homeostazının düzenlenmesinde merkezi bir rol üstlenmektedir. Birçok çalışma yetersiz güneş ışığı maruziyeti veya düşük serum 1,25- (OH)₂ D₃ düzeyleriyle yüksek

kan basıncı ve/ veya yüksek plazma renin aktivitesi arasında ilişki saptamışlardır (160, 161).

Aktif vitamin D₃ renin-anjiyotensin sistemi için negatif bir endokrin düzenleyici olarak görev yapmaktadır. VDR geni olmayan farelerde renin ekspresyonunda belirgin artış ve plazma anjiyotensin II üretimindeki artışa bağlı olarak hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve su alımında artış ortaya çıkar. Vahşi farelerde yapılan doğrulayıcı çalışmalarda 1,25-(OH)₂ D₃ sentezinin inhibisyonu ile renin ekspresyonunun arttığı görülmüş ve 1,25-(OH)₂ D₃ uygulamasıyla, serum kalsiyumundaki değişimlerle ilişkisiz olarak VDR- aracılı bir mekanizmayla renin üretimi baskılanmıştır. Sonuçta vitamin D, RAS sisteminin down- regülasyonuna neden olur.

1.1.6. Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 Kanalları (TRPV1)

Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 (TRPV1)- pozitif sensoriyal sinirlerin kardiyovasküler fonksiyonlar, kan basıncı ve vücut ağırlığı üzerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (17-23). Kalp dokusunda eksprese edilen TRPV1'in aktivasyonu, kalsitonin geni ilişkili peptid (CGRP) ve substans P (SP) salınımı yoluyla (162) kalbi iskemi/ reperfüzyon hasarından korur ve bu TRPV1 aktivasyonu CGRP salınımına bağlı gelişen vazodilatasyona bağlı olarak sistemik kan basıncında düşmeyle sonuçlanır (163-167). TRPV1'i ve/ veya TRPV1'in alt yollarını aktive eden ilaçların böbrekleri (168) ve akciğerleri (169) iskemi aracılı hasarlanmadan koruduğu tanımlanmıştır. Son dönemlerde TRPV1 kanalları endotel hücrelerinde saptanmış ve bunların kan basıncı regülasyonu ve doku kan akımında önemli işlevler yerine getirdiği ortaya konmuştur. Diyetle alınan kapsaisinle kronik olarak aktive edilen TRPV1'in endotele bağlı vazodilatasyonu iyileştirdiği ve hipertansiyonu önlediği saptanmıştır (170). Endotelial TRPV4 kanalları, endotele elementer kalsiyum akışını sağlayan iyon kanalları olarak fonksiyon görür ve damarsal fonksiyonları düzenler (171). TRPV1 ve 4 birçok sistemik vasküler yatakta eksprese edilse de renal vasküler yapılarıdaki göreceli ve bölgesel dağılımı tam olarak bilinmemektedir (172, 173). Bu kanalların sağlık ve hastalık durumlarındaki fonksiyonlarını netleştirmek için biyolojik özelliklerini ve endojen modülatörler tarafından regülasyonlarını anlamak büyük önem taşır. TRPV kanalları, multimerler

oluşturarak iletim ve kapı özelliklerinde özgünlük sağlayan fonksiyonel çeşitlilikler gösterebilmektedirler (174, 175). TRPV1 agonist ve antagonistleri çeşitli koşullarda analjezik ilaçlar olarak denenmektedir.

1.1.6.1. TRPV1 ve 4 Kanallarının Elektrofizyolojik Özellikleri

Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid kanalları, tıpkı TRP ailesinin öteki üyeleri gibi 6 transmembran parçası ve intraselüler C ve N terminalleri olan peptidlerdir. Bu polipeptidler fonksiyonel kanallar oluşturmak üzere beşerli olarak bir araya gelirler. TRP kanalları esasen seçici olmayan katyon kanallarıdır. TRPV kanalları ise sodyuma göre, kalsiyum ve magnezyum için oldukça seçicidir. TRPV1 için $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ seçiciliği 4-10:1 ve TRPV4 için ise 6:1 gibi hafif düzeydedir (176-178).

Nativ TRPV1 kanalları daha çok dorsal kök gangliyonları ile gangliyon trigeminale ve nodosum'da çalışılmıştır. Nativ TRPV1'in akım- voltaj ilişkisi, dışı doğru olan akım şeklindedir ve tersine çevirme potansiyeli ise fizyolojik çözeltielerde 0 mV'a yakındır. Tek kanal kondüktansı ise yaklaşık 80 pS'dir (179). Bu kanallar sıcak ve asit gibi potansiyel tehlikeli koşulları algılayabilmektedirler. Buna göre TRPV1 kanalları 43°C üzeri ısı ve 5,9 altı pH'da aktive olurlar. TRPV1 kanallarının elektrofizyolojik özelliklerinin çoğunun saptanmasında, eksojen TRPV1 aktivatörü olan ve acı biberden elde edilen kapsaisin ve endojen aktivatör olarak da anandamid ve N- araziidonoil- dopamin kullanılmıştır (178, 179).

Nativ TRPV4 kanallarıysa ağırlıklı olarak böbrek, karaciğer, akciğer, kalp, damarsal yapılar, yağ dokusu ve duyu gangliyonlarda çalışılmıştır (180). TRPV4 kanalları ısıyla ve mekanik olarak aktive olan kanallardır. Bu kanalların sistemik osmotik basınç ayarlanmasında etkili olduğu gösterilmiştir (181-184). Farklı TRPV kanal alt tipleri arasında birçok farklı heteromultimer oluşabildiği düşünülmektedir.

1.1.6.2. TRPV1'in Endojen Modölatörleri

Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 Kanalları, TRP kanalları arasında en iyi bilinenidir, çünkü biberin (chilli pepper) acı ve ısı oluşturan bileşeni olan kapsaisinin hedef molekülü olarak keşfedilmiştir. Ağrı tedavisinde kapsaisinin hem geleneksel halk tıbbında ve hem de deneysel ağrı araştırmalarında uzun bir geçmişi vardır. Julius ve arkadaşları TRPV1'i kapsaisinin hedef molekülü olarak keşfetmiş ve

TRPV1'in asidik pH gibi kimyasal ve 43 °C üzerindeki ısılar gibi fiziksel uyaranları bütünleştiren polimodal bir katyon kanalı olduğunu ortaya koymuşlardır (179). Organizmanın sıcaklığının algılanması ve beden ısısının düzenlenmesinde önemli fonksiyonları olan TRPV1 birçok nöronda saptanmıştır.

Bu bilgiler ışığında, TRPV1'i aktive eden ligandlar organizma tarafından sıcak ve ağrılı olarak algılanır. Chilli pepper yanında TRPV1 kanallarını aktive eden birçok bitkisel bileşenler dışında son yıllarda örümcek, akrep ve tarantula zehirleri de TRPV1 ligandı olarak tanımlanmıştır. Endojen TRPV1 iyon kanal aktivatörleri 'endovanilloidler' olarak adlandırılmakta olup, bunlar araşidonik asit metabolizması ürünleridir ve 5-, 12-, 20- lipooksijenaz ürünleri ve N- açıl dopamin konjugatlarını kapsamaktadırlar. Fakat hem eksojen ve hem de endojen bu aktivatörlerin fizyolojik rolleri ve moleküler etki yolları henüz tam olarak anlaşılmamıştır (185).

1.1.6.3. TRPV1 ve PI3K

Fosfatidilinositid 3- kinaz (PI3K) yolağının akut ve kronik böbrek hasarında rol oynadığı bilinmektedir (186-191). Fosfatidilinositid 3- fosfat (PIP₃), sınıf 1 PI3K lipid kinazlar ailesi tarafından oluşturulan membrana bağlı bir ikincil mesajcıdır. PIP₃ ve alt bileşenleri, reseptör tirozin kinazlarının büyüme faktörü reseptör ailesine ait hücre yüzey reseptörleri ve/ veya G- protein- çiftli (eşli) reseptörlerinin kontrolü altındadır. PI3K ve TRPV1 arasındaki etkileşim sonucunda sinir büyüme faktörünün (NGF) plazma membranındaki kanalların sayısını artırdığı düşünülmektedir (192). TRPV1'in plazma membranındaki yeniden dağılımına PI3K yanında insülin ve IGF-1 gibi öteki bazı stimulusların da neden olduğu gösterilmiştir (193, 194). İnsülin ve IGF-1'in kanalı fosforile ederek reseptör duyarlılığını artırdığı (195) ve PI3K yolağına benzer şekilde TRPV1 mRNA veya protein düzeylerini artırdığı (196, 197) da düşünülmektedir.

1.1.6.4. TRPV1 ve Böbrek Fizyolojisi

İn vivo olarak ya da izole edilmiş perfüze böbreklerde TRPV1'in aktivasyonu glomerüler filtrasyon hızını ve renal sodyum ve su ekskresyonunu artırır (24). TRPV1'in renal etkilerinde olasılıkla purinerjik P2Y₂ reseptör aktivasyonu rol oynamaktadır (198).

Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 kanalları renal korteks ve medullada tübüllerde eksprese edilir (199, 200). Ayrıca renal pelvis, pelviüreterik bileşke ve üreteri innerve eden TRPV1 pozitif sensoriyal sinirler de tanımlanmıştır (201, 202). TRPV1'in renal pelviste düşük basınç baroreseptörü olarak işlev gördüğü ve mekanik uyarılara yanıt olarak primer renal afferent C liflerinden nöropeptid salınımını regüle ettiği gösterilmiştir (203). Bir taraf renal pelvisinde eksprese edilen TRPV1'in aktivasyonu aynı taraf afferent renal sinir aktivitesi (ARNA)'nde artış, karşı tarafta diürez, natriürez ve renal pelvisten SP ve CGRP salınımına neden olur (204, 205). Aksine TRPV1 agonisti kapsaisin tarafından ARNA stimülasyonu, sempatoinhibitör sistemin kuvvetle etki etmesine neden olur ve bu, merkezi sempatik akım (out- flow) üzerine olan elektriksel afferent etkilerden ziyade nörokinin 1 reseptör yolağı üzerinden etki eden nörokinin salınımı üzerinden olmaktadır (206). Tüm bu bilgiler TRPV1'in renal filtrasyon fonksiyonunun ve sodyum ve homeostazının sağlanmasında yaşamsal rolü olduğunu ortaya koymaktadır (20). Bu nedenle TRPV1 disfonksiyonunun renal ekskresyon fonksiyonunun ve hemodinamik homeostazın bozulmasına neden olabileceği söylenebilir (207). İlaveten, böbrekle ilgili olabilecek şekilde TRPV1'in endotel hücreleri üzerinde de olası rolü mevcuttur (208).

1.1.6.5. KBY'de TRPV1

Kronik böbrek yetmezliği (KBY)'de TRPV1 ile ilgili bilinenler oldukça sınırlıdır. Güncel bilgiler, TRPV1 aktivasyonunun renal fibrozis üzerine yararlı etkileri olabileceği yönündedir. Dört hafta boyunca deoksikortikosteron asetat (DOKA) tuzu verilmiş olan, tek taraflı nefrektomi yapılmış farelerde TRPV1 aktivasyonunun kronik renal fibrozise karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir (209). Öte yandan, DOKA tuzu ile hipertansiyon sağlanmış olan TRPV1 knock- out farelerde renal inflamatuvar yanıtların şiddetlendiği görülmüştür (210).

1.1.6.6. ABY'de TRPV1

Vanilloid reseptör agonistleri olasılıkla akut iskemik böbrek hasarında renoprotektif rol oynamaktadır. TRPV1 endotelial vazorelaksasyonda da önemli rol oynamaktadır. Ueda ve arkadaşları ratlarda iskemik ABY'de kapsaisinin (iskemiden

30 dakika önce, oral uygulama) etkilerini incelemişlerdir (211). İskemik ABY, tek taraflı nefrektomiden 2 hafta sonra 45 dakika boyunca sol renal arter ve venin oklüde edilip, sonrasında da reperfüze edilmesiyle sağlanmıştır. Kapsaisin, doza bağımlı olarak iskemi/ reperfüzyona bağlı renal disfonksiyonu azaltmıştır. Ayrıca kapsaisin tedavisiyle iskemi/ reperfüzyon aracılı nötrofil infiltrasyonu, renal süperoksit üretimi ve renal tümör nekrozis faktör (TNF) alfa mRNA ekspresyonu azalmıştır. Öte yandan kapsaisin, renal interlökin (IL)- 10 mRNA ekspresyonu ve IL- 10 plazma düzeylerini artırmıştır. Benzer etkiler bir başka TRPV1 agonisti olan resiniferatoksinin subkutan uygulamasıyla da gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, TRPV1 agonistlerinin iskemi/ reperfüzyon hasarına karşı böbrek üzerinde koruyucu etkileri olduğunu ortaya koymaktadır. Ueda ve arkadaşları (211) TRPV1 tarafından inflamatuvar yanıtın inhibisyonunun renoprotektif etki açısından önemli olduğunu göstermişlerdir. Takip eden diğer bir çalışmada, benzer etkiler bir başka oral TRPV1 agonisti olan SA13353 (1-(2-(1- adamantil)etil)-1- pentil- 3-(3-(4- piridil)propil)üre) uygulamasıyla da görülmüştür (212).

Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 kanallarının iskemik ABY'deki rolünün değerlendirildiği bir başka çalışmada farelerde TRPV1 aktivatörü olarak sentetik N- oktanoil- dopamin (NOD) kullanmışlardır (213). Öteki böbreği çıkartılmış farelerde, intravenöz NOD verildikten 1 saat sonra renal arter 45 dakika boyunca klampe edilmiştir. Klempin açılmasından hemen önce hayvanlara 2. Doz NOD verilmiş ve renal fonksiyonlar 0, 1, 3, 5. günlerde değerlendirilmiştir. Birçok doku yanında böbrekleri de innerve eden dorsal kök gangliyonlarında NOD, TRPV1 kanallarını aktive etmiştir. Dopamin ve salınan alan gruplara kıyasla NOD, renal fonksiyonlar ve renal epitelyum hasarını düzeltmiştir. Bu bilgiler, ABY sonrası bozulan renal fonksiyonların, TRPV1'in NOD ile aktivasyonu sonrası hafiflediğini ortaya koymaktadır.

Duysal nöronların aktivasyonu iskemi/ reperfüzyon aracılı ABY'nin patolojik gelişim sürecinde önemli rol oynamaktadır (214). Duysal nöronların aktivasyonu başlıca endotelial PGI₂ üretimini artırmak yoluyla inflamatuvar yanıtı zayıflatır ve akut renal hasarı azaltır.

Deneyssel modellerde TRPV1 aktivasyonunun, adipogenez ve obesiteyi önlediği (215), endotel aracılı vazorelaksasyonu düzelter, hipertansiyonu önlediği

(208) vasküler lipid birikimini önleyip, ateroskleroza azalttığı (216, 217) gösterilmiş olmasına karşın, konuyla ilgili kapsamlı klinik çalışmalar yeterli değildir.

Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 kanal modulatorlerinin yan etkilerinin termogenez üzerine olduğu düşünülmektedir (218). TRPV1'in kapsaisin tarafından aktivasyonu, vücut ısısında geçici düşmelere sebep olurken, TRPV1 antagonistleri ise artmış vücut sıcaklığına neden olur.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı tarafından Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nde yapıldı. Çalışmanın yapılabilmesi için gerekli olan etik onay, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 12.06.2013 tarih, 2013/05 sayılı toplantıdan 74 numaralı karar ile alındı.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada FÜDAM'dan temin edilen 8 haftalık Wistar Albino cinsi, 24 adet erkek (250- 350g) rat kullanıldı. Ratlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Grupların kendi içinde homojen olmasına ve gruplardaki rat ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek gruplar oluşturuldu. Çalışmamızda kullanılacak ratlar 21° C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulacak özel olarak yaptırılan ve her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler çelik kaplarda, su cam biberonlarda (normal çeşme suyu) add-libitum olarak verildi. Bütün gruplardaki hayvanlar deneye başlanmadan önce tartılıp ve haftalık tartımları yapıldı. Gruplarda bulunan bütün ratlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu. Sıçanlar Elazığ Yem Fabrikası'nda özel olarak hazırlanan pelletler şeklindeki sıçan yemleriyle beslendi. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 3'de gösterilmiştir. Deney hayvanlarının deneysel uygulama yapılncaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin bileşenleri

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

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Hayvan alışmaları, toplam 24 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. İlk ağırlık ölçümleri yapılarak ağırlıkları kaydedildi. Toplam 4 deney grubu řu şekilde oluşturuldu: kontrol (grup 1), doksorubisin (grup 2), doksorubisin+vitamin D (grup 3) ve vitamin D (grup 4).

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

Doksorubisin grubu (Grup 2) (n:6): Deneyin 1. günü doksorubisin hidroklorid ($C_{27}H_{29}NO_{11}HCl$) (Doxo Teva 50 mg flakon) 5 cc serum fizyolojikte çözüldü ve 10 mg/kg/i.p. tek doz uygulandı.

Doksorubisin+vitamin D grubu (Grup 3) (n:6): Deneyin 1.günü doksorubisin hidroklorid ($C_{27}H_{29}NO_{11}HCl$) (Doxo Teva 50 mg flakon) 5 cc serum fizyolojikte çözüldü ve 10 mg/kg/i.p. tek doz uygulandı. Daha sonra deney süresince oral olarak 200 IU/gün/rat dozunda damlalık ile kolekalsiferol (Devit- 3 damla, 50.000 IU/15 ml, Deva, İstanbul) uygulandı.

Vitamin D grubu (Grup 4) (n:6): Deney boyunca oral olarak 200 IU/gün/rat dozunda damlalık ile kolekalsiferol (Devit- 3 damla, 50.000 IU/15 ml, Deva, İstanbul) uygulandı.

2.3. Örneklerin Alınması

Bütün gruplardaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75 mg/kg)+xylazine (10 mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokuları histolojik çalışma için % 10'luk formol solüsyonunda tespit edildi.

2.4. MDA düzeyinin saptanması

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

(Tri-kloro asetik asit), 1 ml % 0,067 TBA (2-Thio barbitürik asit), 1 ml distile su ve 0.5 ml % 4'lük HCl ilave edildi.

Hazırlanan karışım 90°C'de 120 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Tüpler 5 dak. 5000 rpm'de santrifüj edildi ve oluşan süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alındı ve bütanole karşı 532 nm'de okundu (219).

2.5. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, catno: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 4). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplandı. Kesit kalınlığı, skala bar: 50µm'dır.

Tablo 4. TUNEL boyama prosedürü

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksidaz blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) + Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilin	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.6. İmmünohistokimya Metodu

Parafin bloklardan 5–6µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block, TA-125-HP, LabVision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, LabVision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilüe edilen primer antikör (Rabbit polyclonal TRPV1 primary antibody, bs-1931R,

Biossantibodies, Boston, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylatedGoat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbitIgG), TP-125-BN, LabVision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, LabVision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, LabVision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilin ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume VisionMount, TA-125-UG, LabVision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

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

Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

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

2.7. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri student T 'paired' ve one-way ANOVA testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. MDA düzeyi

Doksorubisin verilen grup, kontrol grubu ve vitamin D verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak artmış bulundu (her biri için $p<0,05$). Doksorubisin + vitamin D verilen grup sadece doksorubisin verilen grupla kıyaslandığında böbrek dokularında MDA düzeyi anlamlı olarak azalmış bulundu ($p<0,05$). Tüm parametrelerin gruplar arasındaki değişimi Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Tüm parametrelerin gruplar arasındaki değişimi

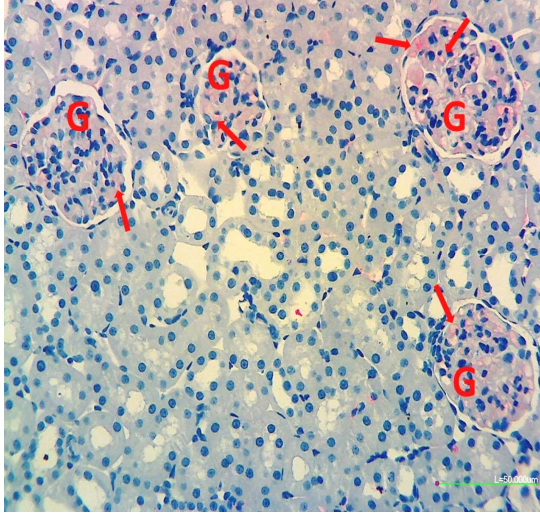
	MDA (ortalama± standart sapma)	Apoptotik indeks (%)
Kontrol	130,32±7,81	3,67±1,03
DXR	253,30±1,99 ^a	15,17±3,76 ^a
DXR+ vit D	149,43±8,40 ^b	8,17±0,75 ^{abc}
Vit D	145,84±23,62 ^b	3,17±0,98 ^b

a kontrole göre; b DXR grubuna göre; c Vit D grubuna göre anlamlı farklılığı ifade etmektedir ($p<0,05$).

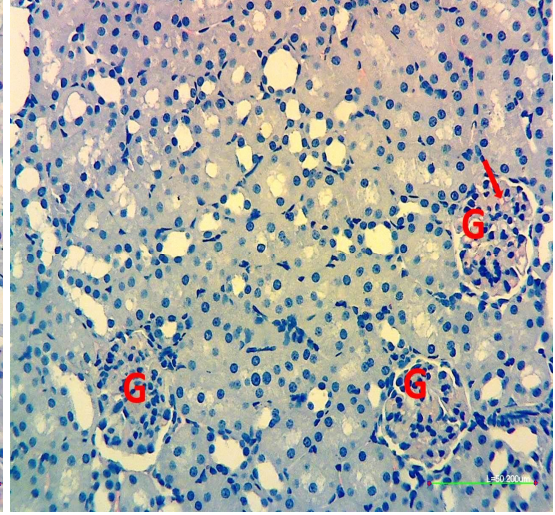
3.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.2.1. TRPV1 İmmünreaktivitesi

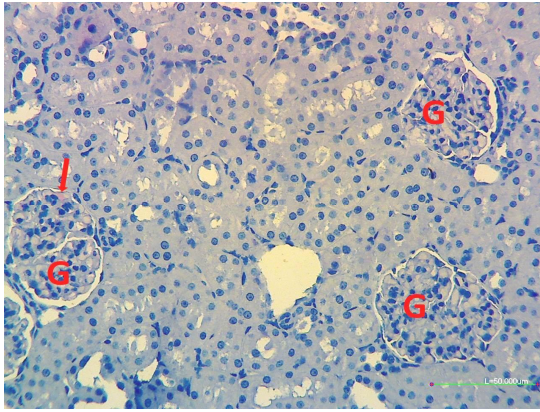
Transient reseptör potansiyel vanilloid 1 kanalları immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TRPV1 immünreaktivitesi böbrek dokusunda sadece glomerüllerde gözlemlendi. TRPV1 immünreaktivitesi kontrol grubunda +3 yaygınlığında görüldü (Şekil 8). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DXR grubunda TRPV1 immünreaktivitesinde belirgin bir azalma vardı ve +2 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 9). Vitamin D’nin tedavi olarak verildiği DXR + Vitamin D grubunda ise DXR grubuna göre TRPV1 immünreaktivitesinde belirgin azaldığı izlendi ve +1 olarak değerlendirildi (Şekil 10). Sadece Vitamin D verilen grupta ise TRPV1 immünreaktivitesi +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 11).



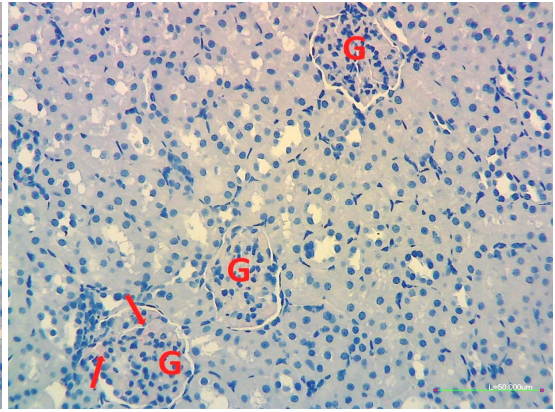
Şekil 8. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda +3 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi



Şekil 9. DXR verilen gruba ait böbrek dokusunda +2 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.



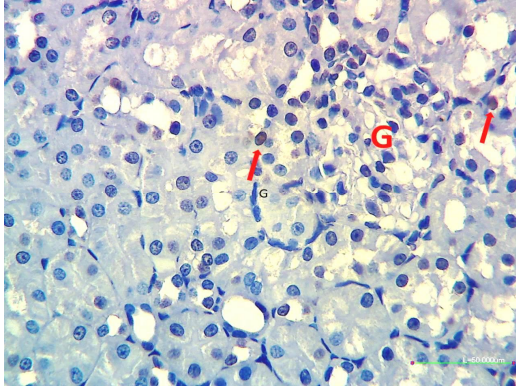
Şekil 10. DXR + Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.



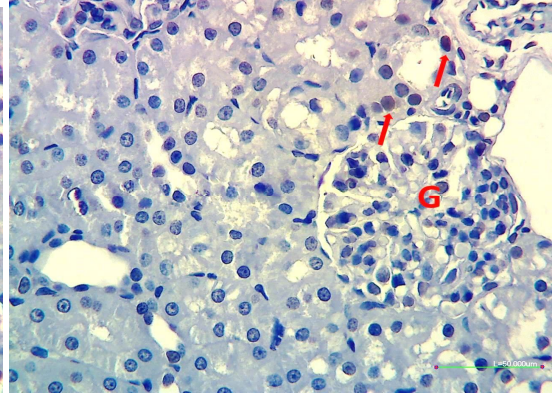
Şekil 11. Vitamin D verilen gruba ait böbrek dokusunda +1 yaygınlığında TRPV1 immunreaktivitesi.

3.3. TUNEL Bulguları

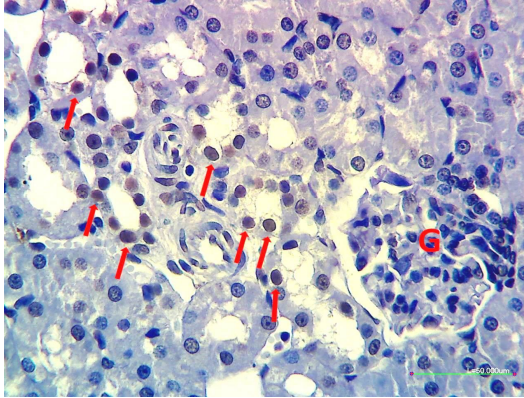
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrek dokusunda kontrol ve Vitamin D gruplarında benzerdi (Şekil 10, 11). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DX grubunda anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$) (Şekil 12). DX grubu ile kıyaslandığında DX + Vitamin D grubunda ise anlamlı bir azalma vardır ($p<0.05$) (Şekil 13).



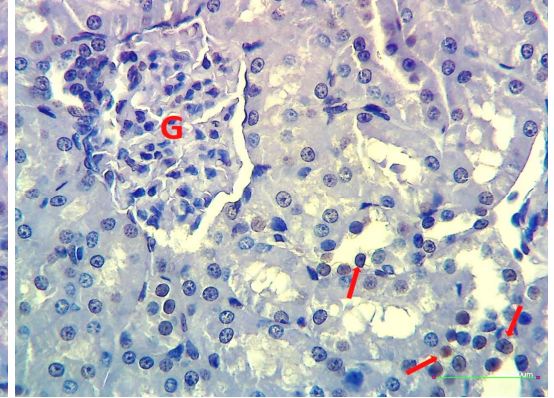
Şekil 10. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).



Şekil 11. Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).



Şekil 12. DXR verilen gruba ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).



Şekil 13. DXR + Vitamin D grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→). Glomerül (G).

4. TARTIŞMA

Böbrekler, maruz kaldıkları büyük miktardaki kandan filtrasyon, reabsorbsiyon ve ekskresyon fonksiyonları ile 1,5-2,5 litre idrar oluştururlar. Fazla kanlanan organlar olmaları nedeniyle kan içinde bulunan toksik maddelere de maruz kalma ve etkilenme olasılıkları fazladır. Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılmaları sonucu özellikle hızlı bir biçimde çoğalmakta olan gastrointestinal, hematopoetik sistem hücreleri ve testiste önemli toksik etkilerin olduğu bilinmektedir. Antineoplastikler içinde böbrek üzerine de toksik etkileri bulunan birçok ajan bilinmektedir. Doksorubisin molekülünün de içinde bulunduğu antrasiklinler, birçok solid tümör ve lösemi tedavisinde kullanılan çok geniş spektrumlu ve etkili antineoplastik ajanlardır. Nefrotoksisite, antrasiklin antibiyotiklerin önemli yan etkilerinden birisidir. Doksorubisine bağlı nefrotoksisitenin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Doksorubisin nefrotoksisitesi olasılıkla, DXR'in oluşturduğu serbest antrasiklin radikallerinin oluşturduğu ciddi plazma membranı hasarına bağlı olarak ortaya çıkar. Doksorubisin serbest oksijen radikalleri ve antioksidan sistemler arasında dengesizliğe neden olur. Lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonu ile kanıtlanan oksidan-antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması DN'de doku hasarına katkıda bulunmaktadır (13).

Çetin'in (4) yaptığı çalışmada doksorubisin uygulaması sonrası böbrek dokularında immünhistokimyasal olarak pre-apoptotik olarak bax ve kaspaz-3 immünreaktivitesinde ve lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde belirgin artış saptamışlardır. Doksorubisin uygulaması öncesi nikotinamid tedavisinin böbrek dokusunu olasılıkla antioksidan ve antienflamatuar etkileri nedeniyle DN'ne karşı koruduğu gözlenmiştir (220). Kurkuminin DN'ne bağlı proteinüri, albuminüri, hipoalbuminemi ve hiperlipidemiye karşı koruyucu etkisi olduğu ve idrarda DN'ne bağlı olarak artan N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (tübüler hasar belirteci), fibronektin, glukozamino glukan ve plazma kolesterolündeki artışları inhibe ettiği saptanmıştır. Kurkumin DN'ne bağlı azalan GFR'yi kısmen düzeltmiş olup, tüm bu etkilerini oksidatif hasarı baskılayıp, böbrek glutatyon içeriği ve glutatyon peroksidaz aktivitesini artırarak yaptığı gözlenmiştir (221). Domatesten elde edilen likopenin DN'li farelere uygulanmasıyla serum üre, kreatinin düzeylerinde düşme yanında glutatyon ve ilgili öteki antioksidan

enzim aktivitelerinin arttığı ve histopatolojik değişikliklerde iyileşmeler olduğu saptanmıştır (222). Luffa acutangula ekstraktının da antioksidan özellikleri dolayısıyla DN'de biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde düzelmeye neden olduğu hayvan modelinde ortaya konmuştur (223). Deneysel bir çalışmada koenzim-Q10, oksidan maddelerin düzeylerini azaltarak DN'de biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde düzelmeye neden olmuştur (224). Rashikh ve ark. (225) çalışmalarında DXR verilen farelerde kan basıncı, plazma renin aktivitesi, plazma üre- kreatinini, doku malondialdehid düzeylerinde artış; plazma albumin, total proteini ve renal dokuda indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan moleküllerde azalma saptamışlardır. Histopatolojik olarak podosit ayaksı çıkıntılarında daralma, glomerül bazal membranında genişleme ve slit por çapında azalma görülmüştür. Direkt renin inhibitörü olan aliskiren uygulamasıyla belirtilen bu patolojik süreç önlenebilmiştir. Telmisartan ve kaptoprilin DN'ne etkilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada her iki molekülün de DN'ne karşı eşit sayılabilecek düzeyde koruyucu etkiler gösterdiği saptanmıştır. Her 2 grup ilacın da bu etkilerine antioksidan özellikleri ve iNOS ekspresyonunu düşürmelerinin büyük ölçüde aracılık ettiği düşünülmektedir (226). Zingiber officinale roscoe (zencefil) uygulamasının, renal antioksidan sistemi aktive ederek ve GST düzeylerini artırarak, DN'de bozulmuş olan biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde düzelmeye neden olduğu saptanmıştır (227). Silymarin uygulamasının, renal lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve GST düzeylerini artırarak, DN'de bozulmuş olan biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde düzelmeye neden olduğu saptanmıştır (228).

Literatürdeki diğer çalışmalara benzer olarak lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerini DXR uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptadık.

Böbrek hastalıkları ve vitamin D yetersizliği arasındaki ilişki hakkında güncel bilgiler mevcuttur (16, 19). Aktif vitamin D böbrekte üretilir ve vitamin D eksikliği KBH'da erkenden gelişir. Birçok klinik kanıt vitamin D'nin renoprotektif etkilerini ortaya koymaktadır (229). Hojs ve ark. (230) diyaliz öncesi dönemdeki sekonder hiperparatiroidisi olan KBY hastalarında 1µg/gün parikalsitol ile 6 aylık takip döneminde 24 saatlik idrar albumini ve kantitatif proteinürde anlamlı azalma

saptamışlardır. RAS blokörü ilaçlarla proteinürinin azaltılması yoluyla KBY ilerleyişindeki azalmaya rağmen, KBY tanılı birçok olguda proteinüri sebat edebilmekte ve bu durum KBY progresyonu için bağımsız bir risk faktörü teşkil etmektedir. Benzer olarak De Borst ve ark. (231) bu hasta popülasyonunda aktif vitamin D tedavisiyle proteinüride anlamlı azalma saptamışlardır. He ve ark. (232) ise çalışmalarında DN’nde parikalsitol uygulamasının podosit hasarı, proteinüri ve böbrek hasarını Wnt/ β -katenin sinyal yolağını ve proinflamatuvar sitokin salınımını inhibe ederek azalttığını gözlemlemişlerdir. Bu konuda yapılan başka bir çalışmada Panichi ve ark. (233) mezengiyoproliferatif glomerülonefritin deneysel bir modeli olan anti-Thy-1.1 nefriti oluşturdıkları ratlarda, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ uygulamasının glomerüler hiperselülarite ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak, böbrekteki apoptotik sürecin gerilediğini saptamışlardır. Puromisin aminonükleozid nefroz modelinde oluşan podosit hasarlanmasına karşı da, aktif vitamin D ve analoglarının kullanımıyla podosit hasarlanmasının anlamlı ölçüde önlendiği ortaya konmuştur (234). Dabak ve ark. (235) DN modelinde vitamin D uygulamasının histopatolojik değişiklikleri kısmen de olsa geriye döndürdüğünü saptamışlardır. Çalışmamızda da doksorubisin ile birlikte vitamin D tedavisi uygulanan ratlarda MDA düzeyleri DXR grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı. Tüm bu bulgular vitamin D uygulamasının antioksidan sistem üzerinden DN’de protektif etkileri olabileceğini desteklemektedir.

Doksorubisin uygulamasının apoptotik etkisine olasılıkla p53 proteini aracılık etmektedir. Sabuncuoğlu S. çalışmasında akciğer hücrelerinde DXR’in apoptoza neden olduğunu göstermiş ve bir antioksidan olan aminoguanidin uygulamasıyla apoptozisin azaldığını saptamıştır (236). Zhao D ve ark. (237) da güncel çalışmalarında DXR’in osteosarkom hücrelerinde apoptozis ilişkili proteinler olan kaspas 3 ve sitokrom C düzeylerini artırarak ve mitokondriyal membran potansiyelini ise azaltarak apoptozisi artırdığını ortaya koymuşlardır.

Çalışmamızda da DXR uygulanan grupta apoptotik indeks kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptandı. Vitamin D tedavisi uygulanan DXR grubunda ise apoptotik indeks DXR grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı.

Vitamin D tedavisinin malign hücre büyümesini baskılayıcı, hiperproliferatif hastalıklarda apoptozisi indükleyici, immün yanıtı modüle edici, insülin salınım-kas fonksiyonlarını- sinir sistemini kontrol edici etkileri çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (14, 15).

Seergeev ve Song (238) 2014 yılında ratlarda oluşturdukları obezite modelinde vitamin D ve kalsiyum alımının, yağ dokusunda kalpain ve kaspaz- 12 proteazları aktive ederek apoptozisi artırdığını ortaya koymuşlardır.

Bir vitamin D analogu olan EB1089 molekülünün mide kanseri hücre popülasyonunda proliferasyonu azalttığı, apoptozisi artırdığı ve mitokondriyal hasarlanmaya neden olduğu görülmüştür (239).

Öte yandan, multipl skleroz relapslı olguların serumlarıyla muamele edilen insan umbilikal ve endotel hücrelerine bu maruziyet öncesi aktif vitamin D uygulamasının endotel hücre apoptozisini anlamlı ölçüde azalttığı ve hücre ömrünün uzadığı görülmüştür (240).

Bir dipeptid olan JBP485, rat böbrek dokusunda organik anyon taşıyıcıları tarafından ekskrete edilmekte ve karaciğer ve gastrointestinal sistem üzerine koruyucu rol oynamaktadır. Ratlara aktif vitamin D uygulaması sonrası JBP485'in plazma konsantrasyonunda artış, renal klerensinde azalma saptanmış olup, bu etki olasılıkla böbrek dokusunda organik anyon taşıyıcısı ekspresyonundaki azalmaya bağlıdır (241). Vitamin D nedenli hiperkalsemi, ratlarda polüri, natriürez ve fosfatüriyle seyreder. Vitamin D nedenli hiperkalsemi durumlarında immünblotting ile tip 1 bumetanid duyarlı Na-K-2Cl ortak taşıyıcısı (BSC-1)'nin başta medulla olmak üzere tüm böbrekte azaldığı saptanmıştır. Yine aynı durumlarda Kir 1.1 potasyum kanalları (ROMK)'nda da azalma saptanırken; medullada Na/H değiştirici kanal 3 ve Na-K-ATPaz'da ise azalma dikkati çekmemiştir. Proksimal tübüllerde ise tip 2 Na- P(i) ortak taşıyıcısında anlamlı azalma olup, bu da fosfatüriyi açıklamaktadır. Böylelikle kalın çıkan kolda BSC-1 ve ROMK yoğunluğundaki azalma hiperkalsemi ilişkili üriner konsantrasyon defektini açıklamaktadır. Ayrıca tip 2 Na- P(i) yoğunluğundaki azalma ise artmış fosfatüriyi açıklamaktadır (242).

Literatürde, TRPV-1 kanallarının aktivasyonunun adipogenez ve obeziteyi önlediği; TRPV1- shRNA'nın intratekal uygulanmasının kan basıncını artırdığı; akut miyokard enfarktı durumunda serotonin yanında TRPV-1 artışının ani bradikardi ve

hipotansiyonu (Bezold- Jarisch refleksi) tetiklediği yönünde çokça deneysel çalışmaya rastlanmaktadır (17-23).

İzole edilmiş perfüze böbreklerde TRPV1'in aktivasyonunun renal perfüzyon basıncını azalttığı, glomerüler filtrasyon hızını ve renal sodyum ve su ekskresyonunu ise olasılıkla eş zamanlı kalsitonin geni ilişkili peptid ve substans P reseptörlerinin uyarımı ve böylelikle de bu maddelerin artmış salınımı yoluyla sağladığı saptanmış olup, bu bulgular TRPV1'in renal hemodinamikler ve itrah fonksiyonları üzerinde kilit bir rol üstlendiğini düşündürmektedir (24).

TRPV1 agonistlerinin iskemi/ reperfüzyon hasarına karşı böbrek üzerinde koruyucu ve antiinflamatuvar etkileri olduğu Ueda ve ark. (211) tarafından ortaya konmuştur. Bir başka çalışmada ise ABY sonrası bozulan renal fonksiyonların, TRPV1'in NOD ile aktivasyonu sonrası hafiflediği saptanmıştır (212).

Transient reseptör potansiyel katyon kanalı C6 (TRPC6), podositler tarafından üretilen bir slit diyafram proteinidir. TRPC6 mutasyonları otozomal dominant FSGS'ye neden olmaktadır. TRPC6 ekspresyonunun artması da kazanılmış proteinürik böbrek hastalığına neden olur. RAS blokörü ilaçlar ile bu patolojilerde gerileme olmaktadır. DXR uygulaması ile TRPC6 ekspresyonu artar ve kazanılmış proteinüri tablosu gözlenir. 1,25-dihidroksi vitamin D3 tedavisi ile de TRPC6 ekspresyonu ve proteinürinin azaldığı saptanmıştır (243).

Bu çalışmada böbrek dokusu TRPV1 immünreaktivitesinin DXR uygulamasıyla azaldığı ve bu durum üzerine vitamin D uygulamasının olumlu bir etkide bulunmadığı saptanmıştır. Öte yandan yine çalışmamızda, doksorubisin uygulanarak meydana getirilen böbrek hasarı, vitamin D uygulamasıyla önemli ölçüde düzelmiştir. Bu düzelme apoptotik belirteç olan TUNEL immünreaktivitesinde belirgin bir azalma gözlenerek tespit edilmiştir. Vitamin D'nin bu etkisi olasılıkla antioksidan etkileriyle ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak çalışmamızda;

- DXR uygulamasının böbrek dokularında apoptozisi ve MDA seviyelerini artırdığını, vitamin D'nin ise bu etkiyi kısmen geriye döndürdüğünü,
- Doksorubisin apoptozis göstergesi olan TUNEL immünreaktivitesini artırdığını, yine vitamin D'nin bu etkiyi de azalttığını saptadık.

Bu bulgular ışığında daha detaylı çalışmalarla vitamin D'nin doksorubisin gibi kemoterapotiklere bağı gelişen toksik etkilerin azaltılmasında alternatif bir tedavi seçeneğı olarak kullanılabileceğı düşünölebilir.

Epidemiyolojik ve gözlemsel çalışmalar vitamin D ile hipertansiyon ve ateroskleroz gibi kardiyovasküler hastalıklar arasında ilişkiye işaret etmektedir. Bu süreçte renin-anjiyotensin sistemi bozukluğu görülürken, hipertansiyon ve endotel disfonksiyonu da artmış kardiyovasküler hastalık riskine katkıda bulunur.

5. KAYNAKLAR

1. Sarsılmaz M. Anatomi. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2009.
2. Carlos JL, Carneiro J, Temel Histoloji. Aytekin Y. Solakoğlu S. (Çev. Ed.). İstanbul, Nobel Tıp Yayınevleri, 2009.
3. Erkoçak A. Özel Histoloji. 1. Baskı Ankara: Ajans, 1973.
4. Çetin F. Doksorubisin Uygulanmasının Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Benfotiamin'in Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2014.
5. Weiss RB. The anthracyclines: will we ever find a better Doxorubicin? Semin Oncol 1992; 19: 670–686.
6. Giantris A, Abdurrahman L, Hinkle A, Asselin B, Lipshultz, SE. Anthracycline-induced cardiotoxicity in children and young adults. Crit Rev Oncol Hemat 1998; 27: 53–68.
7. Franco Z, Graziella P, Paola P. Role of the sugar moiety in the pharmacological activity of anthracyclines: development of a novel series of disaccharide analogs. BiocFm Pharmacol 2001; 61: 933–938.
8. Zunino F, Capranico G. DNA topoisomerase II as the primary target of anti-tumor anthracyclines. Anticancer Drug Des 1990; 5: 307–17.
9. Chen AY, Liu LF. DNA topoisomerases: essential enzymes and lethal targets. Annu. Rev Pharmacol Toxicol 1994; 34, 191–218
10. Singh H, Kapoor VK, Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Second ed. Vallabh Prakashan 2005.
11. Lee J, Sung N, Kim J, Kima J, Raghavendrana HRB, Yoob Y, et al. Effect of gamma irradiation on spleen cell function and cytotoxicity of Doxorubicin. Chem Biol Interact 2008; 173: 205–214.
12. Zhu S, Kukreja RC, Das A, Chen Q, Lesnefsky JE, Xi L. Dietary nitrate supplementation protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by improving mitochondrial function. J Am Coll Cardiol 2011; 57: 2181-2189.
13. Amandeep K, Manpreet K, Ramica S, Sunil K. Doxorubicin: a critical review on toxicity. J Pharma Res 2012; 5: 2890-2894.

14. Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in human leukocytes. *Science* 1983; 221: 1181–1183.
15. Veldman CM, Cantorna MT, De Luca HF. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys* 2000; 374: 334–338.
16. LaClair RE, Hellman RN, Karp SL, Kraus M, Ofner S, Li Q, et al. Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: A cross-sectional study across latitudes in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 1026–1033
17. Zvara A, Bencsik P, Fodor G, Csont T, Hackler L, Dux M et al. Capsaicin sensitive sensory neurons regulate myocardial function and gene expression pattern of rat hearts: a DNA microarray study. *FASEB J* 2006; 20: 160–162.
18. Wang Y, Wang DH. Neural control of blood pressure: focusing on capsaicin-sensitive sensory nerves. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2007; 7: 37–46.
19. Zhang LL, Yan Liu D, Ma LQ, Luo ZD, Cao TB, Zhong J, et al. Activation of transient receptor potential vanilloid type-1 channel prevents adipogenesis and obesity. *Circ Res* 2007; 100: 1063–1070.
20. Xie C, Wang DH. Effects of a high-salt diet on TRPV-1-dependent renal nerve activity in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Nephrol* 2010; 32: 194–200.
21. Yu SQ, Wang DH. Intrathecal injection of TRPV1 shRNA leads to increases in blood pressure in rats. *Acta Physiol (Oxf)* 2011; 203: 139–147.
22. Ditting T, Freisinger W, Siegel K, Fiedler C, Small L, Neuhuber W, et al. Tonic postganglionic sympathetic inhibition induced by afferent renal nerves? *Hypertension* 2012; 59: 467–476.
23. Lupinski SL, Schlicker E, Pedzinska-Betiuk A, Malinowska B. Acute myocardial ischemia enhances the vanilloid TRPV1 and serotonin 5-HT₃ receptor-mediated Bezold-Jarisch reflex in rats. *Pharmacol Rep* 2012; 63: 1450–1459.
24. Li J, Wang DH. Increased GFR and renal excretory function by activation of TRPV1 in the isolated perfused kidney. *Pharmacol Res* 2008; 57: 239–246.
25. Gürel A. Kemoterapiye İkincil Nötropenik Hastalarda Oksidatif Stres Ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2010.

26. Dilek ME. Sisplatin Nefrotoksitesisi Oluşturulan Ratlarda Sesamol Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2013.
27. Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2000.
28. Ozan H. Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi, 2004.
29. Kuran O. Sistemik Anatomi. İstanbul: Filiz Kitapevi, 1983.
30. O valle KW, Nahirney C. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. (Çev Ed). Güneş Tıp Kitabevleri, 2009.
31. Şeftalioğlu A. Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. Üçüncü Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1998.
32. Moore KM, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H. (Çev. Ed.) 303-314. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.
33. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. Basaklar AC (Çev. Ed.) 9. Baskı. İstanbul, Palme Yayınları, 2005.
34. Mescher A. (ed). Lange Basic Histology Flash Cards. ISBN-10:9780071637985.
35. Güven MC. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. Ankara: ANTIP A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları, 2002
36. Guyton ve Hall. Tibbi Fizyoloji. Yeğen B (Çev Ed). 12. Basım. Nobel Tıp Kitabevi, 2010.
37. Greenberg MS. Böbrek Hastalıkları Soylu A, Kavukçu S (Çev Ed). 4. Baskı İstanbul, Güven Bilimsel Yay, 2008.
38. Erdil F, Elbas ÖN. Cerrahi Hastalıkları Hemşireliği. Genişletilmiş 4. Baskı, Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 2001.
39. Tan C, Tasaka H, Yu KP, Murphy ML, Karnofsky DA. Daunomycin, an antitumor antibiotic, in the treatment of neoplastic disease. Clinical evaluation with special reference to childhood leukemia. Cancer 1967; 20: 333–353.
40. Maurie M, Barbara K, Gertrude P. Grade 3 liposomal- Doxorubicin-induced skin toxicity in a patient following complete resolution of moderately severe sunburn. Gynecol Oncol 2004; 94: 578–580.

41. Yagmurca M, Bas O, Mollaoglu H, Sahin O, Nacar A, Karaman O, Songuret A. Protective effects of erdosteine on doxorubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Arch Med Res* 2007; 38: 380-385.
42. Patil L, Balaraman R. Effect of green tea extract on doxorubicin induced cardiovascular abnormalities: antioxidant action. *Iran J Pharm Res* 2011; 10: 89-96.
43. Dresdale RD, Bonow R, Wesely ST, Palmer L, Barr D, Mathison TD, Rosenberg SA. Prospective evaluation of doxorubicin-induced cardiomyopathy resulting from postsurgical adjuvant treatment of patients with soft tissue sarcomas. *Cancer* 1983; 52: 51.
44. Olson RD, Mushlin PS. Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses. *FASEB J* 1990; 4: 3076.
45. Isaac NP, Mary JS, Mostafa AS, Matthew M. Shri NG. Etiology of sarcoplasmic reticulum calcium release channel lesions in doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Toxicol* 1992; 72, 189- 206.
46. Minotti G, Cavaliere AF, Mordente A, Rossi M, Schiavello R, Zamparelli R, Possati, G. Secondary alcohol metabo- lites mediate iron delocalization in cytosolic fractions of myocar- dial biopsies exposed to anticancer anthracyclines. Novel linkage between anthracycline metabolism and iron-induced cardiotoxicity. *J Clin Invest* 1995; 95: 1595–1605.
47. Kang YJ, Chen Y, Epstein PN. Suppression of doxorubicin cardiotoxicity by overexpression of catalase in the heart of transgenic mice. *J Biol Chem* 1996; 271, 12610–12616.
48. Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Ifrim I, Grotzinger K, Young RC. Adriamycin: the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 1997; 197: 165–167.
49. Berlin V, Haseltine WA. Reduction of Adriamycin to a semiquinone- free radical by NADPH cytochrome P-450 reduc- tase produces DNA cleavage in a reaction mediated by molecular oxygen. *J Biol Chem* 1981; 256: 4747-4756.
50. Saltiel E, McGuire W. Doxorubicin (Adriamycin) Cardiomyopathy-A critical review. *West J Med* 1983; 139: 332-341.
51. Tripathi KD. *Essentials of Medical Pharmacology*. Sixth ed. New Delhi: Jaypee Publishers, 2008

52. Obeid M. ERP57 membrane translocation dictates the immunogenicity of tumor cell death by controlling the membrane translocation of calreticulin. *J Immunol* 2008; 181: 2533-2543.
53. Obeid M, Panaretakis T, Tesniere A, Joza N, Tufi R, Apetoh L, et al. Leveraging the immune system during chemotherapy: moving calreticulin to the cell surface converts apoptotic death from “silent” to immunogenic. *Cancer Res* 2007; 67: 7941-7944.
54. Machiels JP, Reilly RT, Emens LA, Ercolini AM, Lei RY, Weintraub D, et al. Cyclophosphamide, doxorubicin, and paclitaxel enhance the antitumor immune response of granulocyte/macrophage-colony stimulating factor-secreting whole-cell vaccines in HER-2/neu tolerized mice. *Cancer Res* 2001; 61, 3689-3697.
55. Liu X, Chen Z, Chua CC, Ma Y, Youngberg AG, Hamdy R, Chua BH. Melatonin as an effective protector against Doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Am J Physiol* 2002; 283: 254–263.
56. Minow RA, Benjamin RS, Gottlieb JA. Adriamycin (NSC-123127), cardiomyopathy—an overview with determination of risk factors. *Cancer Chemother Rep* 1975; 6: 195-201.
57. Sriskandan S, O’Brien MER, Smith IE, Collins P, Gore ME. Aggressive management of doxorubicin-induced cardiomyopathy associated with ‘low’ doses of Doxorubicin. *Postgrad Med J* 1994; 70: 759-761.
58. Zheng J, Lee HCM, Sattar MMB, Huang Y, Bian J. Cardioprotective effects of epigallocatechin-3-gallate against doxorubicin-induced cardiomyocyte injury. *Eur J Pharmacol* 2011; 652: 82– 88.
59. Kalyanaraman B, Perez-Reyes E, Mason RP. Spin-trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anticancer drugs. *Biochim Biophys Acta* 1980; 630: 119-130.
60. Singal PK, Iliskovic N. Doxorubicin-induced Cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 339: 900-905.
61. Doroshow JH. Doxorubicin-induced cardiac toxicity. *N Engl J Med* 1991; 324: 843–845.
62. Xu MF, Tang PL, Qian ZM, Ashraf M. Effects by Doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. *Life Sci* 2001; 68: 889–901.

63. Khan M, Shobha JC, Mohan IK. Protective Effect of Spirulina against Doxorubicin-induced Cardiotoxicity. *Phytother Res* 2005; 19: 1030–1037.
64. Durak I, Ozturk HS, Kavutcu M, Birey M, Yel M, Guven T, Olcay E, et al. Protective role of antioxidant vitamins on adriamycin-induced free radical production and cardiotoxicity in guinea pigs. *Cancer Res Ther Cont* 1998; 5: 133–141.
65. Kalender S, Kavutcu M, Kalender Y, Olcay E, Yel M, Ates A. Protective role of antioxidant Vitamin E and catechin on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Cancer Res Ther Cont* 2001; 11: 175–182.
66. Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats The effects of vitamin E and catechin. *Toxicol* 2005; 209: 39–45.
67. Kwiecien I, Michalska M, Wlodek L. The selective effect of cystathionine on doxorubicin hepatotoxicity in tumor-bearing mice. *Eur J Pharmacol* 2006; 550: 39–46.
68. El-Sayyad HI, Ismail MF, Shalaby FM, Abou-El-Magd RF, Gaur RL, Fernando A, et al. Histopathological effects of cisplatin, doxorubicin and 5-fluorouracil (5-FU) on the liver of male albino rats. *Int J Biol Sci* 2009; 5: 466–473.
69. Yilmaz M, Demirdover C, Mola F. Treatment options in extravasation injury: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109: 2418–2423.
70. Dorr RT, Alberts DS, Chen HG. Experimental model of doxorubicin extravasation in the mouse. *J Pharmacol Methods* 1980; 4: 237–250.
71. Gokcimen A, Cim A, Tola HT, Bayram D, Kocak A, Ozgüner F, Ayata A. Protective effect of N-acetylcysteine, caffeic acid and vitamin E on doxorubicin hepatotoxicity. *Hum. Exp. Toxicol* 2007; 26: 519–525.
72. Yasar Bilge SN, DüNDAR E, Sahin MF, Gülbas Z. Erythropoietin Improves the healing of skin necrosis resulting from doxorubicin extravasation in a rat model. *Curr Ther Res* 2011; 72: 141–149.
73. Ajith TA, Aswathy MS, Hema U. Protective effect of Zingiber officinale roscoe against anticancer drug doxorubicin-induced acute nephrotoxicity. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 3178–3181.
74. Shinde N, Jagtap A, Undale V, Kakade S, Kotwal S, Patil R. Protective effect of Lepidium sativum against doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2010; 1: 42–49.

75. Lee VWS, Harris DCH. Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* 2011; 16: 30–38.
76. Sternberg SS. Cross-striated fibrils and other ultrastructural alterations in glomeruli of rats with daunomycin nephrosis. *Lab Invest* 1970; 23: 39–51.
77. Bucciarelli E, Binazzi R, Santori P, Vespasiani G. Nephrotic syndrome in rats due to adriamycin chlorhydrate. *Lav Ist Anat Istol Patol Univ Studi Perugia* 1976; 36: 53–69.
78. Chen A, Sheu LF, Ho YS. Experimental focal segmental glomerulosclerosis in mice. *Nephron* 1998; 78: 440–52
79. Burke JF, Laucius JF, Brodovsky HS, Soriano RZ. Doxorubicin hydrochloride-associated renal failure. *Arch Intern Med* 1977; 137: 385–388.
80. Pippin JW, Brinkkoetter PT, Cormack-Aboud FC. Inducible rodent models of acquired podocyte diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: 213–229.
81. Adriamycin Health Communication Network. 2010 [Cited 11 August 2010.] Available from URL: <http://www.pfizer.com.au/DisplayPI.aspx?PDFDocumentID=2d46c4ce-308d-4b9f-8ac4-106563185b48>. Eriřim Tarihi: 10.05.2014
82. Yesair DW, Schwartzbach E, Shuck D, Denine EP, Asbell MA. Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species. *Cancer Res* 1972; 32: 1177–1183.
83. Johansen PB. Doxorubicin pharmacokinetics after intravenous and intraperitoneal administration in the nude mouse. *Cancer Chemother Pharmacol* 1981; 5: 267–270.
84. Sakemi T, Ohtsuka N, Tomiyoshi Y, Morito F. Sex difference in progression of adriamycin-induced nephropathy in rats. *Am J Nephrol* 1996; 16: 540–47.
85. Wang Y, Wang YP, Tay YC, Harris DC. Progressive adriamycin nephropathy in mice: sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney Int* 2000; 58: 1797–804.
86. Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 114–122.
87. Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K. Histological and histochemical assessment of the effects of a single dose adriamycin on fetal rat kidney. *Acta Histochem* 2005; 107: 215–220.

88. Zheng Z, Schmidt-Ott KM, Chua S. A Mendelian locus on chromosome 16 determines susceptibility to doxorubicin nephropathy in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 2502–2507.
89. Lee VW, Wang Y, Qin X. Adriamycin nephropathy in severe combined immunodeficient (SCID) mice. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3293–3298.
90. Liang CL, Wu JB, Lai JM, Ye SF, Lin J, Ouyang H, et al. Protection effect of zhen-wu-tang on adriamycin-induced nephrotic syndrome via inhibiting oxidative lesions and inflammation damage. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 131604.
91. De Boer E, Navis G, Tiebosch AT, De Jong PE, De Zeeuw D. Systemic factors are involved in the pathogenesis of proteinuria-induced glomerulosclerosis in adriamycin nephrotic rats. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2359–2366.
92. Barbey MM, Fels LM, Soose M. Adriamycin affects glomerular renal function: Evidence for the involvement of oxygen radicals. *Free Radic Res Commun* 1989; 7: 195–203.
93. Guo J, Ananthakrishnan R, Qu W. RAGE mediates podocyte injury in adriamycin-induced glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 961–972.
94. Otaki Y, Miyauchi N, Higa M. Dissociation of NEPH1 from nephrin is involved in development of a rat model of focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: 1376–1387.
95. Sadlier DM, Connolly SB, Kieran NE. Sequential extracellular matrix-focused and baited-global cluster analysis of serial transcriptomic profiles identifies candidate modulators of renal tubulointerstitial fibrosis in murine adriamycin-induced nephropathy. *J Biol Chem* 2004; 279: 29670–29680.
96. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in Inflammation. Secondmessengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993; 506–522.
97. Young SG, Parthasarathy S. Why are low density lipoproteins atherogenic? *West J Med* 1994; 160: 153-164.
98. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Açıkgoz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2004; 202: 227-235.

99. Valko M, Rhodes CJ, Mancol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160: 1-40.
100. Gutteridge JM. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 1993; 19: 141-58.
101. Borek C. Free-radical processes in multistage carcinogenesis. *Free Radic Res Commun* 1991; 12: 745-750.
102. Khanzode SS, Muddeshwar MG, Khanzode SD, Dakhale GN. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different stages of breast cancer. *Free Radic Res* 2004; 38: 81-85.
103. Borek C, Ong A, Mason H, Donahue L, Biaglow JE. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 1490-1494.
104. Blatter MC, James RW, Messmer S, Barja F, Pometta D. Identification of a distinct human high-density lipoprotein subspecies defined by a lipoprotein-associated protein, K-45. Identity of K-45 with paraoxonase. *Eur J Biochem* 1993; 211: 871-879.
105. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free radical in molecular biology. J Aging and disease* 1984; 65: 53-66.
106. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J Nutr* 1989; 119: 109-111.
107. Braugher M, Chose L, Pregenter F. Oxidation of ferrous iron during peroxidation of lipid substrates. *J Biochemica and Biohysica Acta* 1987; 921: 457-464.
108. Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int* 1994; 45: 1-9.
109. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 479-480.
110. Isbir T. Antioksidan Sistemler. *Endotel. İzmir Tabip Odası Tıpta Temel Bilimler Kolu Sonbahar Okulu* 1994; 21: 92-98.
111. Abraham NG, Lavrovsky Y. Transfection of human heme oxygenase gene into. *Proc Natl Acad Sci* 1995; 92.
112. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 1984; 222: 1-15.

113. Holick MF, Frommer JE, McNeill SC, Richtand NM, Henley JW, Potts JT. Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D₃ in skin. *Biochem Biophys Res Commun* 1977; 76: 107–114.
114. Okano T, Yasumura M, Mizuno K, and Kobayashi T. Photochemical conversion of 7-dehydrocholesterol into vitamin D₃ in rat skins. *J Nutr Sci Vitaminol* 1977; 23: 165–168.
115. Adriana S. Dusso, Alex J. Brown and eduardo slatopolsky. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: 8–28.
116. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, and Russell DW. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 7711–7715.
117. Fraser DR and Kodicek E. Unique biosynthesis by kidney of a biological active vitamin D metabolite. *Nature* 1970; 228: 764–766.
118. Hewison M, Zehnder D, Chakraverty R, Adams JS. Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 α -hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 31–38.
119. Omdahl JL, Gray RW, Boyle IT, Knutson J, De Luca HF. Regulation of metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by kidney tissue in vitro by dietary calcium. *Nat New Biol* 1972; 237: 63–64.
120. Garabedian M, Holick MF, Deluca HF, Boyle IT. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 1673–1676.
121. Bland R, Hughes SV, Stewart PM, Hewison M. Direct regulation of 25-hydroxyvitamin D₃ 1-hydroxylase by calcium in a human proximal tubule cell line (Abstract). *Bone* 1998; 23: 260.
122. Henry HL and Norman AW. Vitamin D: metabolism and biological actions. *Annu Rev Nutr* 1984; 4: 493–520.
123. Tanaka Y, Deluca HF. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 1973; 154: 566–574.
124. Schiavi SC, Kumar R. The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis. *Kidney Int* 2004; 65: 1–14.

125. Shimada T, Urakawa I, Yamazaki Y, Hasegawa H, Hino R, Yoneya T, et al. FGF-23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter type IIa. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314: 409–414.
126. Berndt T, Craig TA, Bowe AE, Vassiliadis J, Reczek D, Finnegan R, et al. Secreted frizzled-related protein 4 is potent tumor-derived phosphaturic agent. *J Clin Invest* 2003; 112: 785–794.
127. Rowe PSN, Kumagai Y, Garrett R, Blacher R, Escobada A, Mundy GR. CHO-cells expressing MEPE, PHEX and co-expressing MEPE/PHEX cause major changes in BMD, Pi and serum alkaline phosphatase in nude mice (Abstract). *J Bone Miner Res* 2002 17: 211.
128. Henry HL. Regulation of the hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ in vivo and in primary cultures of chick kidney cells. *J Biol Chem* 1979; 254: 2722–2729.
129. Monkawa T, Yoshida T, Wakino S, Shinki T, Anazawa H, Deluca HF, et al. Molecular cloning of cDNA and genomic DNA for human 25-hydroxyvitamin D₃ 1-hydroxylase. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 239: 527–533.
130. Brenza HL, Kimmeljehan C, Jehan F, Shinki T, Wakino S, Anzawa H, et al. Parathyroid hormone activation of the 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase gene promoter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1387–1391.
131. Yoshida T, Fujimori T, Nabeshima Y. Mediation of unusually high concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D in homozygous klotho mutant mice by increased expression of renal 1-hydroxylase gene. *Endocrinology* 2002; 143: 683–689.
132. Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, Fukuda K, Nabeshima Y. Klotho, a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 2393–2403.
133. Arnaud R, Arabian A, Glorieux FH. Abnormal bone development in mice deficient for the vitamin D-24-hydroxylase gene. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 126.
134. Chen KS and DeLuca HF. Cloning of the human 1,25-dihydroxyvitamin D-3 24-hydroxylase gene promoter and identification of two vitamin D-responsive elements. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1263: 1–9.

135. Ishizuka S, Kurihara N, Hakeda S, Maeda N, Ikeda K, Kumegawa M, Norman AW. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃[1,25-(OH)₂D₃]-26,23-lactone inhibits 1,25-(OH)₂D₃-mediated fusion of mouse bone marrow mononuclear cells. *Endocrinology* 1998; 123: 781–786.
136. Ishizuka S and Norman AW. Metabolic pathways from 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-26,23-lactone. Stereo-retained and stereo-selective lactonization. *J Biol Chem* 1987; 262: 7165–7170.
137. Bischof MG, Siu-Caldera ML, Weiskopf A, Vouros P, Cross HS, Peterlik M, Reddy GS. Differentiation-related pathways of 1,25-dihydroxycholecalciferol metabolism in human colon adenocarcinoma-derived Caco-2 cells: production of 1,25-dihydroxy-3 ϵ -epi-cholecalciferol. *Exp Cell Res* 1998; 241: 194–201.
138. Nakagawa K, Sowa Y, Kurobe M, Ozono K, Siu-Caldera ML, Reddy GS, et al. Differential activities of 1,25-dihydroxy-16-ene-vitamin D₃ analogs and their 3-epimers on human promyelocytic leukemia (HL-60) cell differentiation and apoptosis. *Steroids* 2001; 66: 327–337.
139. Cooke NE, Haddad JG. Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocr Rev* 1989; 10: 294–307.
140. Bikle DD, Gee E. Free, and not total, 1,25-dihydroxyvitamin D regulates 25-hydroxyvitamin D metabolism by keratinocytes. *Endocrinology* 1989; 124: 649–654.
141. Bouillon R, Van Assche FA, Van Baelen H, Heyns W, De Moor P. Influence of the vitamin D-binding protein on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. Significance of the free 1,25-dihydroxyvitamin D₃ concentration. *J Clin Invest* 1989; 67: 589–596.
142. Nykjaer A, Dragun D, Walther D, Vorum H, Jacobsen C, Herz J, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D₃. *Cell* 1999; 96: 507–515.
143. Safadi F, Thornton P, Magiera H, Hollis B, Gentile M, Haddad J, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest* 1999; 103: 239–251.
144. Birn H, Vorum H, Verroust PJ, Moestrup SK, Christensen EI. Receptor-associated protein is important for normal processing of megalin in kidney proximal tubules. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 191–202.

145. Nykjaer A, Fyfe JC, Kozyraki R, Leheste JR, Jacobsen C, Nielsen MS, et al. Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D₃. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13895–13900.
146. Yamane T, Takeuchi K, Yamamoto Y, Li YH, Fujiwara M, Nishi K, et al. Legumain from bovine kidney: its purification, molecular cloning, immunohistochemical localization and degradation of annexin II and vitamin D-binding protein. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1: 108–120.
147. Adams JS, Chen H, Chun RF, Nguyen L, Wu S, Ren SY, et al. Novel regulators of vitamin D action and metabolism: lessons learned at the Los Angeles Zoo. *J Cell Biochem* 2003; 88: 308–314.
148. Gacad MA, Adams JS. Proteins in the heat shock 70 family specifically bind 25-hydroxyvitamin D-3 and 17-estradiol. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1264–1267.
149. Petersen HH, Hilpert J, Militz D, Zandler V, Jacobsen C, Roebroek AJ, Willnow TE. Functional interaction of megalin with the megalin binding protein (MegBP), a novel tetratricopeptide repeat- containing adaptor molecule. *J Cell Sci* 2003; 116: 453–461.
150. Liu W, Yu WR, Carling T, Juhlin C, Rastad J, Ridefelt P, et al. Regulation of gp330/megalyn expression by vitamins A and D. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 100–107.
151. Takemoto F, Shinki T, Yokoyama K, Inokami T, Hara S, Yamada A, et al. Gene expression of vitamin D hydroxylase and megalin in the remnant kidney of nephrectomized rats. *Kidney Int* 2003; 64: 414–420.
152. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999; 277: 157–175.
153. Dusso AS, Thadhani R, Slatopolsky E. Vitamin D receptor and analogs. *Semin Nephrol* 2004; 24: 10–16.
154. Denda M, Finch J, Brown AJ, Nishii Y, Kubodera N, Slatopolsky E. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 22-oxacalcitriol prevent the decrease in vitamin D receptor content in the parathyroid glands of uremic rats. *Kidney Int* 1996; 50: 34–39.
155. Friedman PA, Gesek FA. Vitamin D₃ accelerates PTH-dependent calcium transport in distal convoluted tubule cells. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1993; 265: 300–308.

156. Hoenderop JG, Muller D, Van Der Kemp AW, Hartog A, Suzuki M, Ishibashi K, et al. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1342–1349.
157. Schwarz U, Amann K, Orth SR, Simonaviciene A, Wessels S and Ritz E. Effect of 1,25 (OH)₂ vitamin D₃ on glomerulosclerosis in subtotaly nephrectomized rats. *Kidney Int* 1998; 53: 1696–1705.
158. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 362–371.
159. Zittermann A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br J Nutr* 2003; 89: 552–572.
160. Li YC. Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. *J Cell Biochem* 2003; 88: 327–331.
161. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP. 1,25- Dihydroxyvitamin D₃ is a negative endocrine regulator of the renin- angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229–238.
162. Zhong B, Wang DH. TRPV1 gene knockout impairs preconditioning protection against myocardial injury in isolated perfused hearts in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 1791–1798.
163. Franco-Cereceda A, Rudehill A. Capsaicin-induced vasodilatation of human coronary arteries in vitro is mediated by calcitonin gene-related peptide rather than substance P or neurokinin A. *Acta Physiol Scand* 1989; 136: 575–580.
164. Li J, Wang DH. Function and regulation of the vanilloid receptor in rats fed a high salt diet. *J Hypertens* 2003; 21: 1525–1530.
165. Li J, Kaminski NE, Wang DH. Anandamide-induced depressor effect in spontaneously hypertensive rats: role of the vanilloid receptor. *Hypertension* 2003; 41: 757–762.
166. Scotland RS, Chauhan S, Davis C, De Felipe C, Hunt S, Kabir J, et al. Vanilloid receptor TRPV1, sensory C-fibers, and vascular autoregulation: a novel mechanism involved in myogenic constriction. *Circ Res* 2004; 95: 1027–1034.
167. Kawasaki H, Takatori S, Zamami Y, Koyama T, Goda M, Hirai K, et al. Paracrine control of mesenteric perivascular axo-axonal interaction. *Acta Physiol (Oxf)* 2011; 203: 3–11.

168. Rayamajhi S, Contractor T, Wang DH. The potential of TRPV1 agonists for treating ischemia/reperfusion- induced renal injuries. *Curr Opin Investig Drugs* 2009; 10: 963–970.
169. Wang H, Wang DH, Galligan JJ. P2Y2 receptors mediate ATP-induced resensitization of TRPV1 expressed by kidney projecting sensory neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: 1634– 1641.
170. Yang D, Luo Z, Ma S, Wong WT, Ma L, Zhong J, et al. Activation of TRPV1 by dietary capsaicin improves endothelium-dependent vasorelaxation and prevents hypertension. *Cell Metab* 2010; 12: 130–141.
171. Sonkusare SK, Bonev AD, Ledoux J, Liedtke W, Kotlikoff MI, Heppner TJ, et al. Elementary Ca^{2+} signals through endothelial TRPV4 channels regulate vascular function. *Science* 2012; 336: 597–601.
172. Kaßmann M, Harteneck C, Zhu Z, Nürnberg B, Tepel M, Gollasch M. Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1), TRPV4, and the kidney. *Acta Physiol* 2013; 207: 546–564.
173. Zhang DX, Gutterman DD. Transient receptor potential channel activation and endothelium-dependent dilation in the systemic circulation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011; 57: 133–139.
174. Hellwig N, Albrecht N, Harteneck C, Schultz G, Schaefer M. Homo and heteromeric assembly of TRPV channel subunits. *J Cell Sci* 2005; 118: 917–928.
175. Cheng W, Yang F, Takanishi CL, Zheng J. Thermosensitive TRPV channel subunits coassemble into heteromeric channels with intermediate conductance and gating properties. *J Gen Physiol* 2007; 129:191–207.
176. Strotmann R, Harteneck C, Nunnenmacher K, Schultz G, Plant TD. OTRPC4, a nonselective cation channel that confers sensitivity to extracellular osmolarity. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 695–702.
177. Caterina MJ. Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: 64–76.
178. Nilius, B. Transient receptor potential (TRP) cation channels: rewarding unique proteins. *Bull Mem Acad R Med Belg* 2007; 162: 244–253.

179. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997; 389: 816–824.
180. Baylie RL, Brayden JE. TRPV channels and vascular function. *Acta Physiol (Oxf)* 2011; 203: 99–116.
181. Liedtke W, Friedman JM. Abnormal osmotic regulation in *trpv4*^{-/-} mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 13698–13703.
182. Liedtke W, Tobin DM, Bargmann CI, Friedman JM. Mammalian TRPV4 (VR-OAC) directs behavioral responses to osmotic and mechanical stimuli in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 14531–14536.
183. Harteneck C, Reiter B. TRP channels activated by extracellular hypo-osmoticity in epithelia. *Biochem Soc Trans* 2007; 35: 91–95.
184. Harteneck C, Schultz G. TRPV4 and TRPM3 as volume-regulated cation channels. Liedtke WB, Heller S (eds). *TRP ion channel function in sensory transduction and cellular signaling cascades*, Chapter 10. CRC Press, *Transient Receptor Potential Vanilloid And The Kidney*. *Acta Physiol* 2013; 207, 546–564.
185. Andrukhova O, Smorodchenko A, Egerbacher M, Streicher C, Zeitz U, Goetz R, et al. FGF23 promotes renal calcium reabsorption through the TRPV5 channel. *EMBO J* 2014; 33: 229–246.
186. Barber DF, Bartolome A, Hernandez C, Flores JM, Redondo C, Fernandez-Arias C, et al. PI3K γ inhibition blocks glomerulonephritis and extends lifespan in a mouse model of systemic lupus. *Nat Med* 2005; 11: 933–935.
187. Kuwana H, Terada Y, Kobayashi T, Okado T, Penninger JM, Irie-Sasaki J, et al. The phosphoinositide-3 kinase γ -Akt pathway mediates renal tubular injury in cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int* 2008; 73: 430–445.
188. Satake A, Takaoka M, Nishikawa M, Yuba M, Shibata Y, Okumura K, et al. Protective effect of 17 β -estradiol on ischemic acute renal failure through the PI3K/Akt/eNOS pathway. *Kidney Int* 2008; 73: 308–317.
189. Zheng X, Xie L, Qin J, Shen H, Chen Z, Jin Y. Effects of wortmannin on phosphorylation of PDK1, GSK3- β , PTEN and expression of Skp2 mRNA after ischemia/reperfusion injury in the mouse kidney. *Int Urol Nephrol* 2008; 40: 185–192.

190. Harris DP, Vogel P, Wims M, Moberg K, Humphries J, Jhaver KG, et al. Requirement for class II phosphoinositide 3-kinase C2alpha in maintenance of glomerular structure and function. *Mol Cell Biol* 2011; 31: 63–80.
191. Kim SH, Jang YW, Hwang P, Kim HJ, Han GY, Kim CW. The reno-protective effect of a phosphoinositide 3-kinase inhibitor wortmannin on streptozotocin-induced proteinuric renal disease rats. *Exp Mol Med* 2012; 44: 45–51.
192. Stein AT, Ufret-Vincenty CA, Hua L, Santana LF, Gordon SE. Phosphoinositide 3-kinase binds to TRPV1 and mediates NGF-stimulated TRPV1 trafficking to the plasma membrane. *J Gen Physiol* 2006; 128: 509–522.
193. Van Buren JJ, Bhat S, Rotello R, Pauza ME, Premkumar LS. Sensitization and translocation of TRPV1 by insulin and IGF-I. *Mol Pain* 2005; 1: 17.
194. Gao H, Miyata K, Bhaskaran MD, Derbenev AV, Zsombok A. Transient receptor potential vanilloid type 1-dependent regulation of liver-related neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus diminished in the type 1 diabetic mouse. *Diabetes* 2012; 61: 1381–1390.
195. Akiba Y, Kato S, Katsube K, Nakamura M, Takeuchi K, Ishii H, Hibi T. Transient receptor potential vanilloid subfamily 1 expressed in pancreatic islet beta cells modulates insulin secretion in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 219–25.
196. Lilja J, Laulund F, Forsby A. Insulin and insulinlike growth factor type-I up-regulate the vanilloid receptor-1 (TRPV1) in stably TRPV1-expressing SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Neurosci Res* 2007; 85: 1413–1419.
197. Kao DJ, Li AH, Chen JC, Luo RS, Chen YL, Lu JC, Wang HL. CC chemokine ligand 2 upregulates the current density and expression of TRPV1 channels and Nav1.8 sodium channels in dorsal root ganglion neurons. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 189.
198. Wang M, Ji P, Wang R, Zhao L, Xia Z. TRPV1 agonist capsaicin attenuates lung ischemia-reperfusion injury in rabbits. *J Surg Res* 2012; 173: 153–160.
199. Zhu Y, Wang Y, Wang DH. Diuresis and natriuresis caused by activation of VR1-positive sensory nerves in renal pelvis of rats. *Hypertension* 2005; 46: 992–997.
200. Feng NH, Lee HH, Shiang JC, Ma MC. Transient receptor potential vanilloid type 1 channels act as mechanoreceptors and cause substance P release and sensory activation in rat kidneys. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: 316–325.

201. Guo A, Vulchanova L, Wang J, Li X, Elde R. Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites. *Eur J Neurosci* 1999; 11: 946–958.
202. Rolle U, Brylla E, Tillig B. Immunohistochemical detection of neuronal plexuses and nerve cells within the upper urinary tract of pigs. *BJU Int* 1999; 83: 1045–1049.
203. Steagall RJ, Sipe AL, Williams CA, Joyner WL, Singh K. Substance P release in response to cardiac ischemia from rat thoracic spinal dorsal horn is mediated by TRPV1. *Neuroscience* 2012; 214: 106–119.
204. Zhu W, Oxford GS. Phosphoinositide-3-kinase and mitogen activated protein kinase signaling pathways mediate acute NGF sensitization of TRPV1. *Mol Cell Neurosci* 2007; 34: 689–700.
205. Xie C, Sachs JR, Wang DH. Interdependent regulation of afferent renal nerve activity and renal function: role of transient receptor potential vanilloid type 1, neurokinin1, and calcitonin gene-related peptide receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 325: 751–757.
206. Ditting T, Tiegs G, Rodionova K, Reeh PW, Neuhuber W, Freisinger W, Veelken R. Do distinct populations of dorsal root ganglion neurons account for the sensory peptidergic innervation of the kidney? *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297: 1427–1434.
207. Wang DH, Zhao Y. Increased salt sensitivity induced by impairment of sensory nerves: is nephropathy the cause? *J Hypertens* 2003; 21: 403–409.
208. Yang BH, Piao ZG, Kim YB, Lee CH, Lee JK, Park K, et al. Activation of vanilloid receptor1 (VR1) by eugenol. *J Dent Res* 2003; 82: 781–785.
209. Wang Y, Wang DH. Protective effect of TRPV1 against renal fibrosis via inhibition of TGF-beta/Smad signaling in DOCA-salt hypertension. *Mol Med* 2011; 17: 1204–1212.
210. Wang Y, Wang DH. Aggravated renal inflammatory responses in TRPV1 gene knockout mice subjected to DOCA-salt hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297: 1550–1559.
211. Ueda K, Tsuji F, Hirata T, Takaoka M, Matsumura Y. Preventive effect of TRPV1 agonists capsaicin and resiniferatoxin on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51: 513–520.

212. Ueda K, Tsuji F, Hirata T, Murai M, Aono H, Takaoka M, Matsumura Y. Preventive effect of SA13353 [1-[2-(1-adamantyl)ethyl]-1-pentyl-3-[3-(4-pyridyl) propyl]urea], a novel transient receptor potential vanilloid 1 agonist, on ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 329: 202–209.
213. Tsagogiorgas C, Wedel J, Hottenrott M, Schneider MO, Binzen U, et al. N-octanoyl-dopamine is an agonist at the capsaicin receptor TRPV1 and mitigates ischemia-induced acute kidney injury in rat. *PLoS One* 2012; 7: 43525.
214. Mizutani A, Okajima K, Murakami K, Mizutani S, Kudo K, Uchino T, et al. Activation of sensory neurons reduces ischemia/reperfusion-induced acute renal injury in rats. *Anesthesiology* 2009; 110: 361–369.
215. Palmer RK, Lunn CA. TRP channels as targets for therapeutic intervention in obesity: focus on TRPV1 and TRPM5. *Curr Top Med Chem* 2013; 13: 247-257.
216. Ma L, Zhong J, Zhao Z, Luo Z, Ma S, Sun J, et al. Activation of TRPV1 reduces vascular lipid accumulation and attenuates atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2011; 92: 504–513.
217. Lee J, Saloman JL, Weiland G, Auh QS, Chung MK, Ro JY. Functional interactions between NMDA receptors and TRPV1 in trigeminal sensory neurons mediate mechanical hyperalgesia in the rat masseter muscle. *Pain* 2012; 153: 1514–1524.
218. Yoneshiro T, Aita S, Kawai Y, Iwanaga T, Saito M. Nonpungent capsaicin analogs (capsinoids) increase energy expenditure through the activation of brown adipose tissue in humans. *Am J Clin Nutr* 2012; 95: 845–850.
219. Ronald BP. Spectrophotometric measurement of secondary lipid oxidation products. *Curr Prot Food Anal Chem* 2001; 2.4.1–2.4.8
220. Ayla S, Seckin I, Tanriverdi G, Cengiz M, Eser M, Soner BC, Oktem G. Doxorubicin induced nephrotoxicity: protective effect of nicotinamide. *Int J Cell Biol* 2011; 2011: 390238.
221. Venkatesan N, Punithavathi D, Arumugam V. Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol* 2000; 129: 231-234.
222. Koul A, Shubrant, Gupta P. Phytomodulator potential of lycopene from *Lycopersicum esculentum* against doxorubicin induced nephrotoxicity. *Indian J Exp Biol* 2013; 51: 635-645.

223. Jadhav VB, Thakare VN, Suralkar AA, Naik SR. Ameliorative effect of *Luffa acutangula* Roxb on doxorubicin induced cardiac and nephrotoxicity in mice. *Indian J Exp Biol* 2013; 51: 149-156.
224. El-Sheikh AA, Morsy MA, Mahmoud MM, Rifaai RA, Abdelrahman AM. Effect of coenzyme-q10 on Doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Adv Pharmacol Sci* 2012; 2012: 981461.
225. Rashikh A, Pillai KK, Ahmad SJ, Akhtar M, Najmi AK. Aliskiren alleviates doxorubicin-induced nephrotoxicity by inhibiting oxidative stress and podocyte injury. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2013; 14: 14-22.
226. Ibrahim MA, Ashour OM, Ibrahim YF, El-Bitar HI, Gomaa W, Abdel-Rahim SR. Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT(1)-receptor antagonism equally improve doxorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Pharmacol Res* 2009; 60: 373-381.
227. Reddy YA, Chalamaiah M, Ramesh B, Balaji G, Indira P. Ameliorating activity of ginger (*Zingiber officinale*) extract against lead induced renal toxicity in male rats. *J Food Sci Technol* 2014; 51: 908-914.
228. El-Shitany NA, El-Haggag S, El-desoky K. Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46: 2422-2428.
229. Jin T, Youhua L, Laura A. Williams, Dick de Zeeuw. Potential role of active vitamin D in retarding the progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 321–328.
230. Hojs N, Bevc S, Balon BP, Hojs R, Ekart R. Paricalcitol reduces proteinuria in non-dialysis chronic kidney disease patients. *Ther Apher Dial* 2013; 17: 368-372.
231. de Borst MH, Hajhosseiny R, Tamez H, Wenger J, Thadhani R, Goldsmith DJ. Active vitamin D treatment for reduction of residual proteinuria: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24: 1863-1871.
232. He W, Kang YS, Dai C, Liu Y. Blockade of Wnt/ β -catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 90-103.
233. Panichi V, Migliori M, Taccola D, Filippi C, De Nisco L, Giovannini L, et al. Effects of 1,25(OH)₂D₃ in experimental mesangial proliferative nephritis in rats. *Kidney Int* 2001; 60: 87-95.

234. Matsui I, Hamano T, Tomida K, Inoue K, Takabatake Y, Nagasawa Y, et al. Active vitamin D and its analogue, 22-oxacalcitriol, ameliorate puromycin aminonucleoside-induced nephrosis in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 2354-2361.
235. Dabak DO, Kuloglu T, Ozercan MR. Effects of Vitamin D3 (Cholecalciferol) on Adriamycin-Induced Nephrotoxicity. *Renal Failure* 2009; 31: 400–405.
236. Sabuncuoğlu S. Antiapoptotic effect of aminoguanidine on doxorubicin- induced apoptosis. *Mol Cell Bioche*. 2014 May 17 (Epub ahead of print).
237. Zhao D, Yuan H, Yi F, Meng C, Zhu Q. Autophagy prevents doxorubicin- induced apoptosis in osteosarcoma. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1975-1981.
238. Sergeev IN, Song Q. High vitamin D and calcium intakes reduce diet- induced obesity in mice by increasing adipose tissue apoptosis. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58: 1342- 1348.
239. Wang W, Zhao CH, Zhang N, Wang J. Vitamin D analog EB1089 induces apoptosis in a subpopulation of SGC-7901 gastric cancer cells through a mitochondrial-dependent apoptotic pathway. *Nutr Cancer* 2013; 65: 1067- 1075.
240. Dehghani L, Meamar R, Etemadifar M, Sheshde ZD, Shaygannejad V, Sharifkhah M et al. Can vitamin d suppress endothelial cells apoptosis in multiple sclerosis patients? *Int J Prev Med* 2013;4: 211-215.
241. Miao Q, Liu Q, Wang C, Meng Q, Guo X, Sun H et al. Inhibitory effect of 1 alpha 25 dihydroxyvitamin D3 on excretion of JBP485 via organic anion transporters in rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2013; 48: 351-359.
242. Wang W, Kwon TH, Li C, Frøkjaer J, Knepper MA, Nielsen S. Reduced expression of Na- K-2Cl cotransporter in medullary TAL in vitamin D- induced hypercalcemia in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282: 34-44.
243. Sonneveld R, Ferrè S, Hoenderop JG, Dijkman HB, Berden JH, Bindels RJ, et al. Vitamin D down-regulates TRPC6 expression in podocyte injury and proteinuric glomerular disease. *Am J Pathol*. 2013; 182: 1196-1204.

6. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Elazığ Bahçelievler İlkokulu, orta ve lise öğrenimimi ise Elazığ Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni kazandım ve 2001 yılında aynı üniversiteden mezun oldum. 2002-2003 yılları arasında Amasya'nın Merzifon ilçesinde hava tabip asteğmen olarak askerlik görevimi yaptım. 2003-2006 yılları arasında Elazığ 112 Acil Servis'te tabip olarak görev yaptım. 2006 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD'da ihtisas eğitimime başlayıp, ihtisasımı 2010 yılında tamamladım. Bir yıla yakın süreyle Elazığ Palu Devlet Hastanesi'nde İç Hastalıkları uzmanı olarak görev yaptım. 2011 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD Nefroloji BD'nda yan dal ihtisas eğitimine başladım. Halen Nefroloji BD'nda yan dal araştırma görevlisi olarak eğitimime devam etmekteyim. Yabancı dilim İngilizce'dir.