

T.C.
D CLE ÜN VERS TES
SA LIK B L MLER ENST TÜSÜ

**ZOLE PERFÜZE RAT KALB NDE
DOKSORUB S N KARD OTOKS S TES
ÜZER NE MELATON N' N KORUYUCU
ETK LER N N ARA TIRILMASI**

YÜKSEK L SANS TEZ

Ecz. ZEYNEP ERDO MU

**DANI MAN
PROF. DR. MERAL ERD NÇ**

FARMAKOLOJ ANAB L M DALI

D YARBAKIR 2010

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZOLE PERFÜZE RAT KALBİNDE DOKSORUBSİN
KARDİOTOKSİTESİ ÜZERİNE MELATONUN
KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. ZEYNEP ERDOĞMUŞ

DANIŞMAN
PROF. DR. MERAL ERDOĞMUŞ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından
08 TF- 20 nolu Yüksek Lisans proje numarası ile desteklenmiştir.

DİYARBAKIR 2010

D İCLE ÜN İVERS İTESİ
SALIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

“ zole Perfüze Rat Kalbinde Doksorubisin Kardiotoksisitesi Üzerine Melatoninin Koruyucu Etkilerinin Ara tırılması ” isimli Yüksek Lisans tezi 24.06.2010 tarihinde tarafımızdan de erlendirilerek ba arılı bulunmu tur.

Tez Danı manı: Prof. Dr. Meral Erding

Tezi Teslim Eden: Ecz. Zeynep Erdo mu

Jüri Üyesinin

Ünvanı	Adı Soyadı	Üniversitesi-Fakültesi
Ba kan	: Prof. Dr. Nuriye METE	D.Ü. Tıp Fakültesi
Üye	: Prof. Dr. Meral ERD NÇ	D.Ü. Tıp Fakültesi
Üye	: Yrd. Doç. Dr. A kın HEK MO LU	D.Ü. Tıp Fakültesi
Üye	: Yrd. Doç. Dr. İker KELLE	D.Ü. Tıp Fakültesi
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Hasan AKKOÇ	D.Ü. Tıp Fakültesi

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

...../...../2010

Prof. Dr. Yusuf NERG Z

Dicle Üniversitesi

Sa lık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TE EKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini, bilgisini ve ilgisini esirgemeyen Sayın hocam Prof. Dr. Meral ERDİNÇ'e,

Tez çalışmamın deney ve istatistiksel değerlendirme amaçlarında yardımlarından ötürü Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan AKKOÇ'a,

Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Akin HEKMOZLU ve Yrd. Doç. Dr. Iker KELLE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Zeynep Erdem

Ç İNDEK İLER D İZ İN İ

1. Ön Sayfalar	Sayfa
1.1. Kapak	
1.2. İç Kapak	
1.3. Onay Sayfası.....	1
1.4. Teşekkür Sayfası.....	ii
1.5. İçindekiler Dizini.....	iii
1.6. Resimler Dizini.....	v
1.7. Tablolar Dizini.....	vi
1.8. Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	vii
2. Özet Sayfaları	
Türkçe Özet.....	ix
İngilizce Özet.....	xi
3. Tez Metni	
3.1. Giriş ve Amaç	1
3.2. Genel Bilgiler.....	2
3.2.1. Antineoplastik ilaçlar.....	2
3.2.2. Doksorubisin.....	3
3.2.2.1. Farmakokinetik Özellikleri.....	3
3.2.2.2. Doksorubisin Toksisitesi.....	4
3.2.2.3. Doksorubisin Kardiotoksisitesi.....	4
3.2.3. Serbest Radikaller.....	6
3.2.3.1. Organizmada Oluşan Serbest Radikaller.....	6
3.2.3.1.1. Süperoksit Radikali.....	6
3.2.3.1.2. Hidrojen Peroksit.....	6
3.2.3.1.3. Hidroksil Radikali.....	7
3.2.3.1.4. Singlet Oksijen.....	7
3.2.3.1.5. Nitrik Oksit.....	8
3.2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	8
3.2.3.2.1. Proteinlere Etkileri.....	8

3.2.3.2.2. Nükleik Asitler ve DNA' ya Etkileri.....	9
3.2.3.2.3. Membran Lipidlerine Etkileri.....	9
3.2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri.....	9
3.2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	10
3.2.4.1. Endojen Olan Antioksidanlar.....	10
3.2.4.1.1. Enzim Olan Antioksidanlar.....	10
3.2.4.1.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar.....	12
3.2.4.2. Eksojen Antioksidanlar.....	13
3.2.5. Melatonin.....	13
3.2.5.1. Melatonin Biyosentezi.....	14
3.2.5.2. Melatonin Farmakokineti i.....	15
3.2.5.3. Melatonin Reseptörleri.....	16
3.2.5.4. Melatoninin Fizyolojik Etkileri.....	16
3.2.5.5. Melatoninin Kalp Kası Üzerine Etkisi.....	16
3.2.5.6. Melatoninin Antioksidan Etkileri.....	17
3.3. Gereç ve Yöntem.....	20
3.3.1. Gereç.....	20
3.3.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	20
3.3.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları.....	20
3.3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	20
3.3.2. Yöntem.....	21
3.3.2.1. Farmakolojik nceleme.....	21
3.3.3. statistiksel De erlendirme.....	23
3.4. Bulgular.....	24
3.5. Tartı ma.....	29
3.6. Sonuç ve Öneriler.....	33
3.7. Kaynaklar.....	34
3.8. Özgeçmi	41

EK LLER D Z N

	Sayfa
ekil.1. Antrasiklin türevi bileşikleri kinon gruplarının semikinon radikaline indirgenmesi	5
ekil.2. Melatonin Biosentezi	15
ekil.3. Melatoninin elektron vermesi	18
ekil.4. Langendorff Sistemi.....	22
ekil.5. Langendorff Sistemi.....	23
ekil.6. Bütün gruplarda, Perfüzyon basıncı..... (mmHg) (n= 10)	26
ekil.7. Bütün gruplarda, Kalp Atım Hızı (atım/dk) (n=10).....	26
ekil.8. Bütün gruplarda, Sol Ventrikül Gelişen Basınç (mmHg) (n=10).....	27
ekil.9. Bütün gruplarda ölçülen sol ventrikülün maximum..... sistolik basıncı (mmHg/sn) (n=10)	27
ekil.10. Bütün gruplarda ölçülen sol ventrikülün minimum..... diastolik basıncı (mmHg/sn) (n=10)	28

TABLolar D Z N**Sayfa**

Tablo.1. 1L Krebs Henseleit solüsyonu içindeki maddeler	21
Tablo.2. Gruplara ait elde edilen veriler	25

S İMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

i.p	: intraperitoneal
Dox	: Dokсорubisin
Mel	: Melatonin
PB	: Perfüzyon Basıncı
KAH	: Kalp Atım Hızı
LVDP	: Sol Ventrikül Gelişen Basıncı
LV(dP/dt)max	: Sol ventrikülün birim zamandaki maksimum sistolik basıncı
LV(dP/dt)min	: Sol ventrikülün birim zamandaki minimum diastolik basıncı
DNA	: Deoksi Ribo Nükleik Asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit
i.v	: intravenöz
O₂⁻	: Süperoksit anyon radikali
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
SOD	: Süperoksit dismutaz
OH[·]	: Hidroksil radikali
Fe⁺²	: demir iyonu
Fe⁺³	: ferröz
NO	: Nitrik oksit
cGMP	: siklik guanozin monofosfat
sGC	: solübl guanilat siklaz
NOS	: Nitrik oksit sentaz
GTP	: Guanozin trifosfat
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit dismutaz
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Mn	: Mangan
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat

GSH	: Redükte glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
CAT	: Katalaz
IP₃	: nozitol trifosfat
Ca⁺⁺	: Kalsiyum iyonu
Na⁺	: Sodyum iyonu
PARS	: Poli-ADP-riboz sentaz
I/R	: skemi reperfüzyon

ÖZET

Güçlü etkili bir antineoplastik ilaç olan Doksorubisin'in klinik kullanımını kısıtlayan önemli kardiyotoksik yan etkisi bulunmaktadır. Kardiyotoksik etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber günümüzde bu etkiden sorumlu major mekanizmanın oksidatif strese bağlı doku hasarı olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, doksorubisin gibi antrasiklin grubu antineoplastiklerin yaptığı oksidatif hasara bağlı gelişen kardiyotoksisiteye karşı birçok antioksidan maddenin koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Pineal bezden salınan bir hormon olan melatoninin de serbest radikal tutucu ve antioksidan özellikleri olduğu yapılan birçok çalışma ile gösterilmiş ve bu amaçla melatonin oksidatif hasara bağlı gelişen birçok patolojide yararlı bulunmuştur.

Bu çalışma doksorubisin ile kardiyotoksisite oluşturulan ratlardan izole edilen ve invitro olarak perfüze edilen kalplerde melatoninin koruyucu etkileri araştırıldı. Bu amaçla, kullanılan erkek wistar albino ratlar dört gruba ayrıldı; 1.grup kontrol (1 ml steril saline intraperitoneal (i.p)), 2.grup Doksorubisin (dox) (tek doz, 10 mg/kg (i.p)), 3.grup Dox (tek doz, 10 mg/kg (i.p)) + melatonin (mel) (7 gün süresince günde 1 defa 10 mg/kg (i.p)), 4.grup ise sadece melatonin (7 gün süresince günde 1 defa 10 mg/kg (i.p)), verilen ratlardan oluşturuldu. Yedi günün sonunda tüm gruplarda sternotomi ile toraks açılıp kalp izole edildi. Assendan aort izole ve kanüle edilerek Langendorff sistemine takıldı. Langendorff sisteminde, peristaltik pompa yardımı ile 37 °C de ve % 5 CO₂ + % 95 O₂ karışımı ile havalandırılan Krebs'-Henseleit solüsyonu ile sabit akımla perfüze edilerek, koroner perfüzyon basıncı (PB), kalbe takılan elektrotlar yardımı ile kalp atım hızı (KAH) ve sol ventrikül içine yerleştirilen balon ile sol ventrikül gelişen basıncı (LVDP) kaydedildi. Ayrıca kalbin kontraksiyon gücünü gösteren sol ventrikülün birim zamandaki maksimum sistolik ve minimum diastolik basınçlarını ifade eden LV(dP/dt)max ve LV(dP/dt)min kaydedildi.

Deneyler sonucunda, Doksorubisin enjeksiyonu yapılan grupta kontrol grubuna göre koroner perfüzyon basıncının ve LV(dP/dt)min değerlerinin anlamlı olarak arttığı, kalp atım hızı, LVDP ve LV(dP/dt)max değerlerinde anlamlı bir

azalma oldu u görüldü. Buna kar ılık Dox+melatonin grubunda Dox grubuna göre perfüzyon basıncının ve LV(dP/dt)min de erlerinin anlamlı olarak azaldı 1, LVDP ve LV(dP/dt)max de erlerinin ise anlamlı olarak arttı 1 gözlemlendi.

Sonuç olarak Dox grubunda bozulan kalp kontraktilesi ve kalp hemodinami i ile karakterize kardiyotoksik etkinin melatonin ile anlamlı olarak korundu u görüldü.

Anahtar kelimeler: zole kalp, Langendorff, Doksorubisin, kardiyotoksisite, melatonin.

ABSTRACT

Doxorubicin is a highly effective cancer chemotherapeutic agent and its clinical use is limited by its serious cardiotoxicity. Although the exact mechanism of its cardiotoxicity is still unknown, oxidative damage is suggested to play a major role in Doxorubicin-induced cardiotoxicity. Recent studies have showed that many antioxidant agents have protective effects on cardiotoxicity of anthracyclines like Doxorubicin.

Melatonin is a pineal secretory hormone which is shown in many studies as a free radical scavenger and antioxidant. Melatonin has been found useful in many pathology related with oxidative damage.

In this study we aimed to research the protective effect of melatonin on Dox-induced cardiotoxicity in isolated perfused rat heart. Male wistar albino rats were divided into four groups: 1.group: control (1 ml steril saline i.p), 2.group: Doxorubicin (one dose, 10mg/kg (i.p)), 3.group: Dox (one dose, 10 mg/kg (i.p)) + Melatonin (for 7 days once a day 10 mg/kg (i.p)), 4.group: melatonin (for 7 days once a day 10 mg/kg (i.p)). After 7 days, the hearts were isolated by sternotomy in all groups. After aorta isolated and cannulated by Langendorff system hearts were perfused with constant flow of Krebs- Henseleit solution (aired with 95% O₂ + 5% CO₂) and maintained at 37 °C.

Coronary perfusion pressure and -via a latex balloon inserted in the left ventricle -left ventricular developed pressure (LVDP) and heart rate by electrodes were recorded on a computer. Also LV(dP/dt)max and LV(dP/dt)min which shows max and min pressures during systole and diastole per time were recorded.

During the experiments it was observed that in Dox group coronary perfusion pressure and LV(dP/dt)min were significantly increased, heart rate, LVDP and LV(dP/dt)max were significantly reduced versus control group. In contrary in Dox + melatonin group coronary perfusion pressure and LV(dP/dt)min were significantly decreased, heart rate, LVDP and LV(dP/dt)max were significantly increased versus Dox group.

It is concluded that melatonin has protective effects on doxorubicin induced cardiotoxicity with altered heart contractility and hemodynamics.

Key Words: Isolated heart, Langendorff, Doxorubicin, cardiotoxicity, melatonin

1. G R VE AMAÇ

Birçok kanser türünün tedavisinde kullanılan güçlü etkili antineoplastik ilaç olan Doksorubisin'in önemli kardiotoxik yan etkisi vardır. Bu etkisinden dolayı doksorubisin deneysel çalışmalarda kardiotoxikite modeli olarak kullanılmaktadır. Yapılan birçok çalışmada bu kardiotoxik etkinin mekanizmaları araştırılmış ve günümüzde bu etkiden sorumlu olarak en büyük payın serbest oksijen radikallerinin neden olduğu doku hasarına ait olduğu düşünülmektedir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarını vücutta endojen antioksidan sistemler azaltmaya çalışırken ilave olarak tedavide eksojen antioksidanlar da kullanılmaktadır (1,2,3,4).

Oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu olarak kullanılan birçok antioksidan ajanlar arasında, vücutta fizyolojik olarak bulunan ve pineal bezden salınan bir hormon olan melatonin de yer almaktadır. Melatonin, patogeneğinde serbest radikallerin rol aldığı çeşitli fizyolojik olaylarda peroksinitrit, hidroksil ve süperoksit radikallerinin güçlü bir temizleyicisidir (5,6,7).

Doksorubisinin yaptığı kardiotoxikite ve oluşan bu etkiye karşı Melatonin'in koruyucu etkisi yapılan birçok çalışmada gerek biyokimyasal ve gerekse histolojik olarak gösterilmiştir (5,6,7,8).

Çalışmamızda ratlarda Doksorubisin ile oluşturulan deneysel kardiotoxik modelde izole edilen ve invitro olarak perfüze edilen kalpte melatoninin kalbin kontraktilitesi ve fizyolojik fonksiyonları üzerindeki koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla izole edilen kalpler invitro olarak Langendorff sisteminde perfüze edilip kalbin hemodinami nin göstergesi olarak, kalp atım hızı, koroner perfüzyon basıncı, sol ventrikül geliş basıncı (LVDP) ve kalbin kontraksiyon gücünü gösteren sol ventrikülün birim zamandaki maksimum sistolik ve minimum diastolik basınçlarını ifade eden $LV(dP/dt)_{max}$ ve $LV(dP/dt)_{min}$ değerlerindeki değişiklikler araştırılacaktır.

2. GENEL B LG LER

2.1. ANT NEOPLAST K LAÇLAR

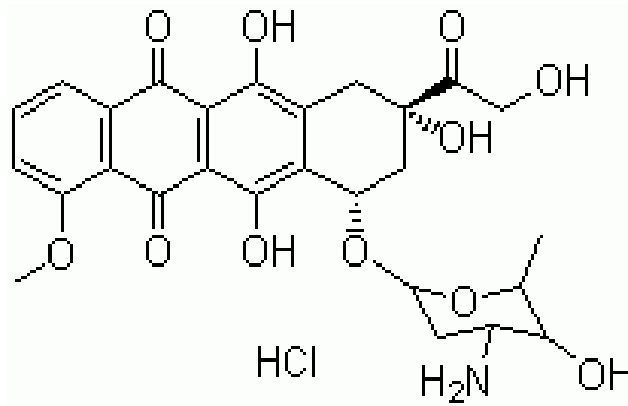
Antineoplastik kemoterapide ana ilke hastanın ya da konakçının normal hücrelerine zarar vermeden mikroorganizma ya da tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak ve onları yok etmektir (9). Malign hücre ile normal sağlıklı hücre arasındaki farkların çok az olması nedeniyle antineoplastik ilaçların selektivitesi azdır ve vücutta tümör hücrelerini yok ederken hızlı çoğalan normal hücreleri de yok edebilirler.

Antineoplastik ilaçlar, etki mekanizmalarına ve kaynaklara göre sekiz gruba ayrılır (9):

1. Alkilleyici ilaçlar
2. Antimetabolitler
3. Vinka alkaloidleri ve diğer bitkisel kaynaklı ilaçlar
4. Sisplatin ve diğer platin türevleri
5. L-asparaginaz
6. Hormon veya hormon antagonistleri
7. Sitotoksik Antibiyotikler
8. Diğer antineoplastik ilaçlar

7. grupta sözü edilen sitotoksik antibiyotikler çetli mikroorganizmaların kültürlerinden elde edilen antineoplastiklerdir. Çalı mamızda Streptomyces peucetius' dan elde edilen antrasiklin türevi bir antibiyotik olan doksorubisin kullanılmı tır. Doksorubisin, Deoksi Ribo Nükleik Asit (DNA) çift zincirinde interkalasyon yaparak DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu bozar ayrıca topoizomeraz II enzimine ba lanarak DNA hasarı olu turur (10). Doksorubisin DNA'nın eker-fosfat ba yapısına ba lanarak DNA ve Ribo Nükleik Asit (RNA) sentezini engeller. Topoizomeraz II enziminin katalizledi i DNA zincirinin kırılması ve tekrar farklı noktalardan birle tirilmesi i lemi doksorubisin tarafından engellenerek DNA zincirinde tamir edilmeyen kırılmalara neden olur.

2. 2. DOKSORUBİSİN



(8S-cis)-10-[(3-Amino-2,3,6-trideoxy-alpha-L-lyxohexopyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxyacetyl)-1-methoxynaphthacene-5,12-dione hydrochloride

Moleküler formül	$C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$
Moleküler a ırılık	579.99

Doksorubisin gö üs, over, testis, tiroid, akci er kanserlerinde ve birçok sarkomun tedavisinde klinik uygulaması olan önemli antitümör ilaçlardandır. Ayrıca akut lösemi, Hogkin hastalığı ve yaygın non-Hogkin lenfomaları içine alan hematolojik kanserlerde tek veya kombinasyon ekinde kullanılır. Mide barsak kanalından absorpsiyonu azdır ve intravenöz yolla verilir. Genelde 21 günde bir hızlı infüzyonla uygulanır (10).

2.2.1. Farmakokinetik Özellikleri

Doksorubisin enjeksiyonundan sonra ula ılan doruk kan konsantrasyonu 30 dakika içinde %50 azalır, fakat etkin seviye 20 saate kadar sürdürülür. Yapısında bulunan halka ekindeki süstitüsyonların indirgenmesi ve hidrolizi ile karaci erde metabolize edilir. İlacın ço u ve metabolitleri safra ile itrah edilir. Ayrıca yaklaşık 1/6 'sı idrarla atılır (9).

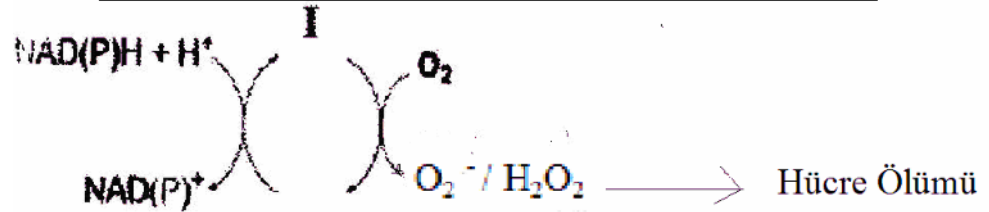
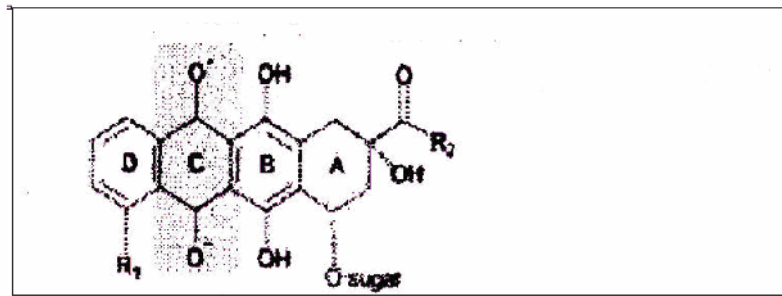
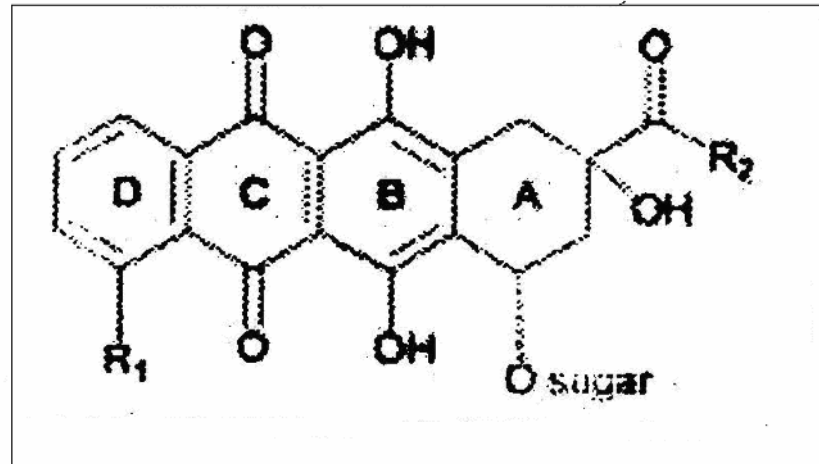
2.2.2. Doksorubisin Toksisitesi

Gastrointestinal sisteme ait ikayetler, alopesi, mukozit, stomatit en sık rastlanan geri dönü ümlü yan etkilerdendir. Doz sınırlamasını gerektiren en önemli yan etki kemik ili i depresyonudur (10). Bilirubin konsantrasyonunun yükselmesi dozun azaltılması gerekti ini gösterir. Lokal olarak damar dı na sızması sonucu ciddi doku nekrozu meydana gelir. En önemli ve ciddi yan etkisi lipid peroksidasyonu sonucu serbest radikallerin olumuna ba lı ortaya çıkan kardiotoksisitedir (1,2,3).

2.2.3. Doksorubisin Kardiotoksisitesi

Miyositler aktif olarak ço alan hücreler olmadığı için doksorubisinin olu turdu u miyosit hasarı; toksik oksijen radikallerinin üretimi ve oksidatif stresin artması, böylece membranların lipid peroksidasyona u ramaları eklindedir (4,11).

Kardiotoksik etkilerin ara tırılmasında ço u ara tırmacı doksorubisin yapısında bulunan tetrasiklik halka yapısında ki kinon ve hidrokinon kromofor grupları üzerinde yo unla mı tır (12). Doksorubisin bir amino ekerin ba lı oldu u tetrasiklik aglikon yapısındadır. Yapısında bulunan kinon halkası, sitokrom P450 redüktaz ve ksantin oksidaz enzimleri tarafından semikinon radikaline indirgenir (ekil 1). Serbest radikallerin kardiyak sitozol ve mitokondriyal fraksiyonlarında olumu fazladır (13,14,15). Bunlar, oksijen molekülünü indirgeyerek süperoksit anyon radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) olumuna neden olurlar. H_2O_2 ve O_2^- serbest radikallerin temizlenmesini sa layan endojen glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin azalmasına neden olarak oksidatif stresi artırır ve kardiyomiyopati ile konjestif kalp yetmezli i olumunu kolayla ır (16,17,18,19).



ekil.1. Antrasiklin türevi bile iklerin yapısında bulunan kinon gruplarının semikinon radikaline indirgenmesi

Kardiyomiyopatide anormal elektrokardiografi, miyofibril kaybı, sol ventrikül disfonksiyonu, sitoplazmik vakuolizasyon, miyosit atrofisi, fibrosis gibi de iimler gözlenmi tir. Doksorubisine ba lı kardiyotoksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol oynadı ı bulguların belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmi tir.

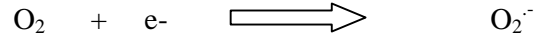
2.3. SERBEST RAD KALLER

Serbest radikaller, dı orbitalinde bir ya da daha fazla e lenmemi elektron ta ıyan moleküllerdir. E lenmemi elektronlar stabil halde olmadı ından serbest radikaller bir ba ka molekülle etkile erek kararlı hale gelme e ilimindedirler (20).

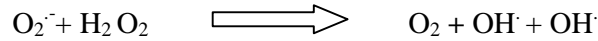
2.3.1. Organizmada Olu an Serbest Radikaller

2.3.1.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$) :

Aerobik organizmalarda oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit anyon radikali meydana gelir.



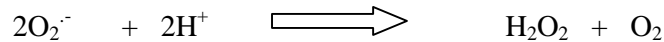
Organizmada genel bir oksitleyici gibi davranmaktadır. Haber-Weiss adı verilen reaksiyon sonucunda hidroksil radikalinin olu ması, süperoksit anyon radikallerinin doku hasarına yol açmasında esas tehlikeli mekanizmadır.



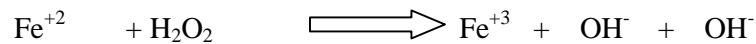
Süperoksit radikali, ortam pH'sının dü ük oldu u durumlarda bir proton alarak daha reaktif olan perhidroksil radikaline (HO_2^{\cdot}) dönü ebilir. Ancak ortamın pH'sı fizyolojik sınırlarda iken olu an perhidroksil formu % 1'in altındadır (21).

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2):

H_2O_2 , membranlardan kolayca geçebilen uzun ömürlü bir oksidandır. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olmaktadır. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizasyonu ile olu ur. ki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni olu tururlar.



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içerisinde yer alır ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve zararlı serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturur. Ayrıca geçiş metalleri ile reaksiyona girerek daha güçlü oksidanlar oluşturur. Ortamda fazla miktarda hidrojen peroksit bulunması durumunda, proteine bağlı demir (Fe^{+2}) ferröz (Fe^{+3}) haline yükseltgenir ve hidroksil radikali oluşturur. Oluşan bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir (Egil, 2022,23). Hidrojen peroksit biyolojik membranları geçebildiğinden intrasellüler olarak fosfolipidleri, karbonhidratları, metalo proteinleri ve DNA'yı hasara uğrattır (23,24,25).



2.3.1.3. Hidroksil Radikali:

Hidroksil radikali (OH^\cdot), hidrojen peroksidin geçiş metallere indirgenmesi ile meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucu da hidroksil radikali oluşturabilmektedir. Yarılma ömrü çok kısadır ve oluşturduğu büyük hasara neden olabilmektedir.



2.3.1.4. Singlet (Tekli) Oksijen:

Enerji absorpsiyonu ile uyarılan oksijenin paylaşmadığı elektronları, spinlerini değiştirerek ayrı ayrı ya da aynı orbitali işgal edebilir. Bu iki forma singlet oksijen adı verilmektedir. Gerçekte bir serbest radikal değildir, fakat serbest radikal reaksiyonları sırasında üretilmesinden dolayı serbest oksijen radikalleriyle birlikte değerlendirilen bir reaktif oksijen ürünüdür.

2.3.1.5. Nitrik Oksit (NO⁻):

Endotel kaynaklı gev etici faktör (EDRF) olan NO insan vücudunda çok çe itli hücreler tarafından salgılanan en önemli fizyolojik transmitterlerden biridir. NO, siklik guanozin monofosfat (cGMP) üzerinden etki gösteren potent bir periferik vasküler düz kas gev etici olarak 1979'da tanımlanmıştır. NO hem hücre içi hem de hücre dışı nda düzenleyici i lev gören küçük, reaktif bir serbest radikal moleküldür. NO'nun en önemli fizyolojik hedefi, solübl guanilat siklaz (sGC) enziminin hem grubudur. Lipofilik serbest radikal olan NO, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılı ıyla L-argininden sentezlenir. Düz kas hücresine geçen NO, guanilat siklazı uyararak, guanozin trifosfatın (GTP) cGMP'ye dönü ümünü sa lar. Artan cGMP de protein kinazı ve iyon kanallarını aktif hale getirir. Sekestrasyon ve hücre dışı na çıkarılma yolu ile hücre içi kalsiyum azalır ve gev eme sa lanır (26). cGMP'nin fizyolojik etkisi 3'5' ba ının fosfodiesteraz enzimi tarafından hidrolize edilmesi ile sonlanır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona u ratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da de i tirir. NO, olu mu olan serbest oksijen radikaller ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit olu turmakta ve bunu da ileri dekompozisyonla HO• radikaline dönü türmektedir (22).

2.3.2. Serbest Radikallerin Etkileri

2.3.2.1. Proteinlere Etkileri:

Doymamı ba ve sülfür içeren moleküller serbest radikallerle kolayca reaksiyona girdi i için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Glutatyon redüktaz ve gliseraldehit 3 fosfat dehidrojenaz gibi reaktiviteleri için aminoasitlere ba ımlı olan enzimler, serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek inhibe edilirler (27,28). Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde fragmentasyon ve çapraz ba lanmalar meydana gelebilir. Bunlar da protein fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilece i gibi, immun sistemi uyarabilecek antijenik de i iklikler de olu turabilirler.

2.3.2.2. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri:

DNA yapısında oksidatif hasara yol açan birçok faktör vardır. Bunlar (iyonize radyasyon, çözümlü kimyasallar) aırı derecede serbest radikaller meydana getirip DNA'da hasara yol açabilirler. Serbest radikaller DNA' da tek veya çift ba kırıklarına yol açarak mutasyon ve karsinogeneze neden olurlar. Hidrojen peroksit, DNA'daki demir ve bakır ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşur (24,25). Oluşan hidroksil radikali nükleik asitlerde kromozom de i ikli ine ve hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olur (29,30).

2.3.2.3. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid peroksidasyonu):

Serbest radikallerin etkilerine en duyarlı olan dokular lipidlerdir. Hücre membranı serbest radikaller için kritik bir bariyerdir, çünkü serbest radikaller hücre komponentleri ile etkileşim için bu bariyeri geçmek zorundadırlar. Membran yapısında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamı ba ları, serbest radikaller ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu oluşturur. Zincirleme reaksiyonlar sonucunda oldukça zararlı ürünler oluşur ve oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Doymamı yağ asitlerinden bir hidrojen atomunun çıkması ile peroksidasyon ba lar ve lipid radikali oluşur. Bu radikal, çift ba ların yerini de i tirir ve oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikaline dönüşür. Lipid peroksil radikali di er doymamı yağ asitlerine de etki ederek yeni radikaller oluşur. Hidrojen atomları alarak hidroperoksitlere dönüşürler. Hidroperoksitlerin parçalanması sonucu lipid alkoksi radikalleri açığa çıkar (22,24).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerin tiobarbütirik asit ile reaksiyona girmesi sonucu malondialdehit (MDA) ortaya çıkar. MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılır.

2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri:

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çözümlü ürünler meydana gelir ve bunlar, çözümlü patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve oksialdehit meydana gelir (24,25).

2.4. ANT OKS DAN SAVUNMA S STEMLER

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir.

Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma bazı prensipler içinde gerçekleşmektedir. Öncelikle oksidanların organizmadaki düzeylerini artırıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması ya da serbest radikalleri tetikleyen biyokimyasal reaksiyonların bir ya da birkaç basamağında kırılması ve oluşan mediyatörlerle aktive olan inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine geçmesini önlemek gerekmektedir. Oluşan oksidanları inaktif hale getirmek amacıyla kullanılan antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve ekzojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirler (31).

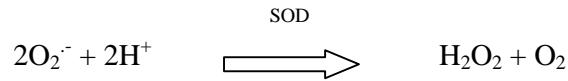
2.4.1. Endojen Olan Antioksidanlar:

Endojen antioksidanlar enzim ve enzim yapısında olmayan sistemler olarak iki bölümde incelenir (24,32).

2.4.1.1. Enzim Olan Antioksidanlar:

1. Süperoksit Dismutaz (SOD) :

SOD enzimi, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Katalizlediği reaksiyonu aşağıdaki gibidir:



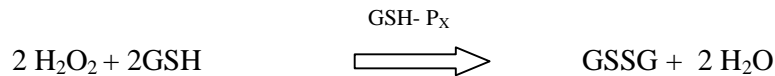
nsanda SOD' un üç tipi bulunmaktadır. Bunlar sitozolde bulunan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren dimerik izomerler (Cu/Zn-SOD), mitokondride bulunan mangan (Mn) içeren tetramerik izomerler (Mn-SOD), ve ekstraselüler SOD'dur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür. Genel olarak, hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu/Zn- SOD'dur. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intrasellüler süperoksit düzeyleri düşük tutulur. Enzimin primer fonksiyonu, hücreleri süperoksit

radikalinin zararlı etkilerinden korumaktır. Bu ekilde hücrelerdeki lipid peroksidasyonu da inhibe edilmi olur (33).

2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-P_x) :

GSH-P_x, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Tetramerik yapıdadır ve dört selenyum atomu ihtiva etmektedir.

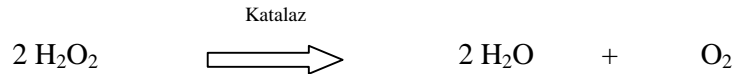
Diyetteki selenyum deste i enzim aktivitesini modüle etmektedir. Enzim aktivitesi heksoz monofosfat yolunda üretilen nikotianamid adenin dinükleotit fosfata (NADPH) ba ımlıdır. Dü ük konsantrasyonlardaki H₂O₂, öncelikle GSH-Px tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutasyonun okside glutatyona çevrildi i ortamda hidrojen peroksidi yüksek spesifite ile detoksifiye etmektedir. Redükte glutasyonun (GSH) okside glutasyon (GSSG) haline dönü tü ü reaksiyonda GSH-Px enzimiyle hidrojen peroksit suya indirgenmi olur (24). Olu an reaksiyon u ekildedir:



3. Katalaz (CAT) :

Glikoprotein yapısında bir hemoproteindir. Her biri ferriprotoporfirin grubu içeren dört adet alt üniteden oluşur. Ferriprotoporfirin, prostetik grubunda +3 değerlikli Fe atomu bulunan protoporfirin IX halkasıdır. Eritrositler yüksek oranda CAT içermekte olup, CAT aktivitesinin %98'den fazlasını sağlarlar. CAT enzim aktivitesinin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Enzim dokularda başlıca mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunmaktadır. Bundan başka endoplazmik retikulum ve stoplazmada da aktivite göstermektedir. CAT, okside edici enzimlerin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksidi direkt olarak suya dönüştürür (33). Ortamdaki hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda hidrojen peroksidi substrat olarak kullandığı diğer antioksidan enzimler (GSH-Px) devreye girerek hidrojen peroksidi ortamdan uzaklaştırırlar. Aynı etkileri gösteren CAT ve GSH-Px enzimleri, hücre içi yerleşimleri ve etki yerleri bakımından farklılıklar gösterirler. CAT enzimi

peroksidlerde daha etkin iken, GSHPx enzimi ba lca sitozol ve mitokondride etkindir. Katalizledi i reaksiyon u ekildedir:



CAT'ın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil-etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere kar ıdır. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez.

2.4.1.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar:

1. Vitamin C: Suda eriyen vitaminlerden olan askorbik asit (vitamin C) ince barsaklardan kolayca emilir. Sıcaklı a kar ı dayanıksızdır (32). Organizmada hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak antioksidan etki gösterir. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek inaktif hale getirir.

2. Vitamin E: Tokoferol yapısında bulunur ve alt tipleri mevcuttur. - tokoferol en yüksek biyolojik ve antioksidan aktivite gösterir. Yapısında bulunan fenolik hidroksil gruplu aromatik halka vitaminin aktif kısmını olu turur ve antioksidan özellik kazandırır. Miyokard ve mitokondri membranında fazla miktarda bulunur. Hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre ya asitlerini serbest radikallerden korur. Süperoksit ve hidroksil radikalini, singlet oksijeni, lipid peroksi radikallerini ve di er radikalleri indirger (25).

3. Karotenoidler : β- karoten, A vitamini prekürsürüdür. Peroksi ve süperoksit radikali ile direkt etkile erek antioksidan etki gösterir (34,35).

4. Seruloplazmin: Ferro demiri (Fe²⁺) feri demire (Fe³⁺) yükseltarak Fenton reaksiyonunu ve serbest radikal olu umun inhibe eder (36,37,38)

5. Ürik asit: Pürin metabolizmasında son ürün olarak ürik asit olu ur. Singlet O₂ ve peroksil radikalleri için güçlü bir temizleyicidir (37,39).

6. Sistein: Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır (40).

7. Transferin: Dola ımdaki serbest demiri ba lar.

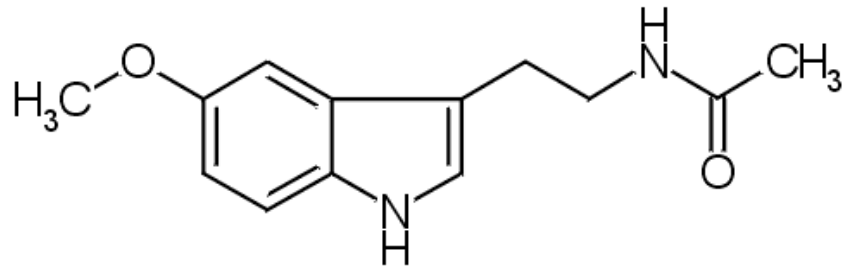
8. Albümin: Hipoklorik asit ve ROOH toplayıcısıdır (25).

9. Glutasyon (GSH): Serbest radikaller ve peroksitler ile reaksiyona girer. Proteinlerdeki -SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona kar ı korur. Fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (41).

2.4.2. Ekzojen Antioksidanlar:

Ekzojen antioksidanlar serbest radikallerin salınımını engelleyerek, olumsuz radikalleri temizleyerek veya endojen antioksidan savunma sistemini güçlendirerek etki ederler. Yapılan birçok çalışmada gerek besin olarak kullanılan maddelerin gerekse tedavide de iki amaçlarla kullanılan allopurinol, N-asetil sistein, mannitol, melatonin, vitaminler ve pentoksifilin gibi ilaçların antioksidan etkileri olduğu görülmüştü ve bu amaçla kullanılmaya başlanmıştır. Bu tür ekzojen antioksidanların sayıları her geçen gün artmaktadır (42,43).

2.5. MELATONİN (C₁₃H₁₆N₂O₂)



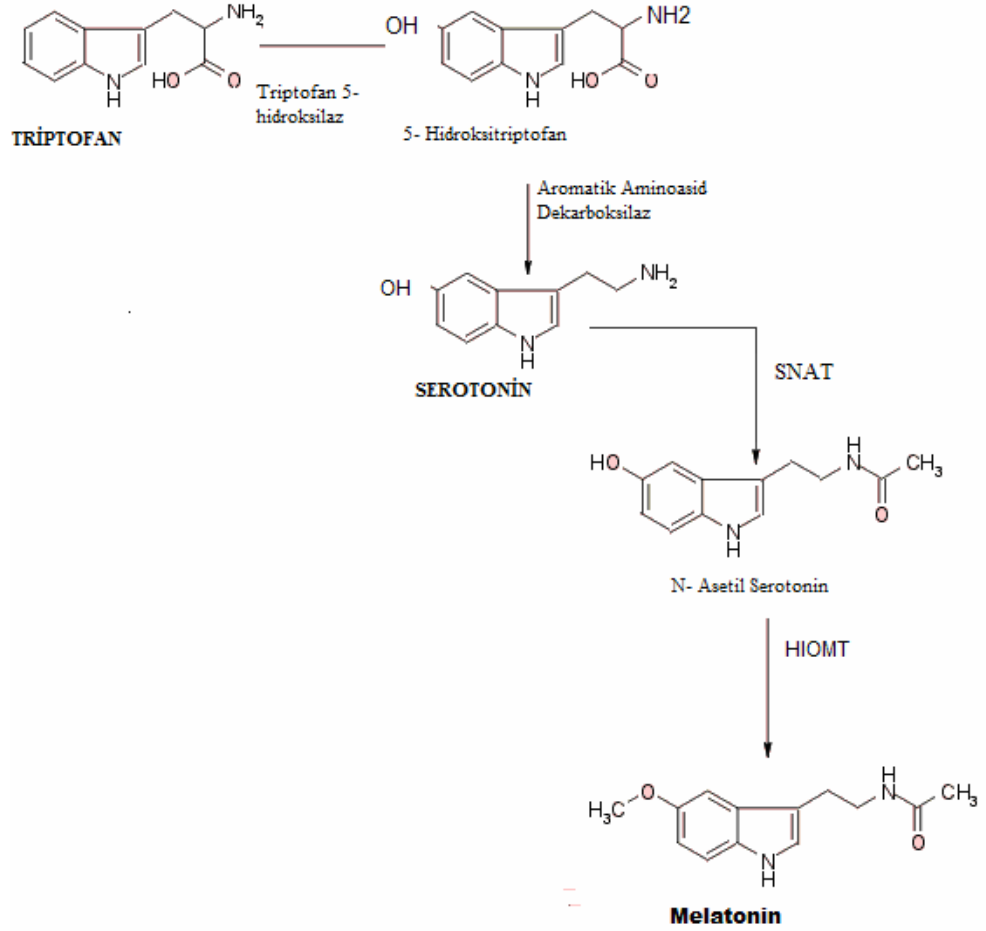
N-acetyl-5-methoxytryptamine-N-[2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl)ethyl]-3-(N-Acetyl-2-aminoethyl)-5-methoxy indole-N-[2-(5-Methoxy-1H-indol-3-yl)]

Melatonin (N-Asetil-5-Metoksitriptamin) pineal bezin özellikle karanlık fotoperiyotta sentezlenen en önemli hormondur. Pineal bezin endokrin aktivitesi fotoperiyodik çevrenin kontrolü altındadır (44). Çevre artlarında ki (ılık, ısı vb.) değişimler canlılarda birtakım metabolik ve psikolojik cevaplar oluşmasına neden olur. Mevsimlere bağlı olarak günlük ritim ve ışık dalga boyunda ki farklılıklar birçok memeli türünün endojen endokrin ritimlerini etkileyen önemli bir potansiyel faktördür. İnsanda melatonin gece salgılanır. Yetişkinlerde ortalama plazma melatonin seviyesi 60-70 pg/ml ve balıca metaboliti olan 6-Hidroksimelatonin sülfat'ın (6-HMS) maksimum plazma konsantrasyonu 80-100 pg/ml arasındadır (45). Melatoninin plazma konsantrasyonu gece saat 02:00 ve 04:00 arasında pik değerine ulaşır.

Eri kinlerde sekresyon genelde saat 21:00- 22:00 arası ba lar 07:00- 09:00 arası sona erer.

2.5.1. Melatonin Biyosentezi

Melatonin biyosentez yola ı triptofanla ba lar. Pineal gland ile sistemik dola ım arasında kan-beyin bariyeri bulunmadı ı için, kandaki triptofan pinealositlere kolayca ula abilmektedir. Aktif transport ile pinealosit sitoplazması içine alınan triptofan ilk olarak triptofan 5-hidroksilaz enzimiyle hidroksillenenek 5-hidroksitriptofana, daha sonra 5-hidroksitriptofan da aromatik aminoasit dekarboksilazla 5-hidroksitriptamine (serotonin, 5HT) dönü ür, serotonin sonra serotonin-N-asetiltransferaz (SNAT) enzimi ile asetillenerek N-asetilserotonine (NAS), NAS ise hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) ile melatonine dönü türülür (ekil 2) (46,47).



ekil.2. Melatonin Biyosentezi

2.5.2. Melatonin Farmakokineti i

Melatonin pineal bezde sentezlenip depolanmadan hızlı bir şekilde kanı kapiller damarlara geçer. Lipofilikli iinin çok yüksek olmasından dolayı, tüm biyolojik doku ve sıvılara da ılır. Plazmada yaklaşık %70 albumine ba lı olarak ta ır. Melatonin büyük ölçüde karaci erde hidroksilasyon sonucu hızla metabolize olur (5-hidroksimelatonin). Sülfürik ya da glukuronik asit ile konjuge olduktan sonra idrarla atılır (9). Melatoninin

idrarda ki ba lıca metaboliti 6-sülfatoksimeletonindir (10). drardaki düzeyi serum melatonin düzeyi ile ili kilidir.

2.5.3. Melatonin Reseptörleri

Melatonin reseptörleri Mel-1a, Mel-1b ve Mel-1c olmak üzere üç tiptir. Mel-1a reseptör ekspresyonu suprakiazmatik nükleus ve pars tüberaliste sınırlıdır, sirkadian ve reprodüktif etkilerini bu reseptörler aracılı ı ile gerçekle tirir. Mel-1b; beyin ve retinada eksprese olur ve her iki bölgede de dopaminerjik fonksiyonlar ile ili kili oldu u dü ünülür. Mel-1c geni ise di er melatonin reseptörleri ile benzer özellik gösterir ancak bazı memelilerde bulunmasına ra men insanlarda henüz klonlanmamı tır.

2.5.4 Melatoninin Fizyolojik Etkileri

Melatonin; uyku, üreme, ya lanma, vücut ısısını düzenleme, immun ve antioksidan sistem gibi pek çok biyolojik süreçte etkilidir (44,45).

2.5.5 Melatoninin Kalp Kası Üzerine Etkisi

Melatonin reseptörleri G proteine ba lı yapılardır (48). Kalp kası hücrelerinde ki melatonin reseptörlerinin biyolojik önemi henüz tam olarak açıklanmı de ildir. Ancak melatoninin sıçan kalp hücre membranında voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının aktivitesini inhibe etti i saptanmı tır (49,50,51). Kalsiyum iyonu normal kardiyak fizyolojide önemli bir rol oynar. Melatoninin membran kalsiyum pompası aktivitesini engelleyerek a ırı kalsiyum yüklenmesini önledi i ve hücre içi kalsiyum düzeyini ayarladı ı belirtilmi tir.

Hücre içi kalsiyumun a ırı artması ve di er iyon dengesizlikleri miyokardiyal elektriksel instabilite, kardiyak aritmiler ve miyokardiyal nekroz gibi hasarlarla sonuçlanabilir. Deneysel olarak yapılan çalı malarda, inozitol trifosfat (IP3) aracılıklı depolardan ve voltaj duyarlı kanallardan hücre içine kalsiyum (Ca^{++}) giri i intrasellüler Ca^{++} miktar artı ma neden oldu u, melatonin plazma membranında $Na^{+}-Ca^{++}$ de i toku u veya katyonik kanallardan Na^{+} giri ini azaltarak hiperpolarizasyon yaptı ı bildirilmis tir.

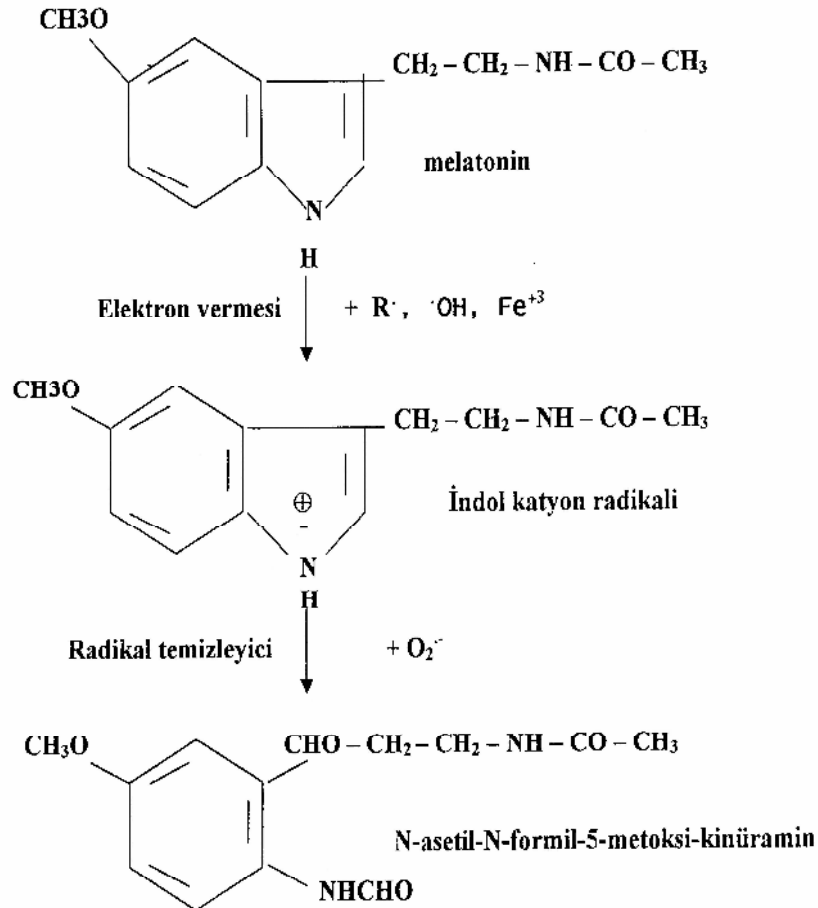
Böylece hücre içine Ca^{++} giri inin inhibe edilebildi i ve siklik adenzin monofosfat (cAMP) ba ımlı kinazlar aracılı ıyla da voltaja duyarlı Ca^{++} kanallarının fosforilasyonunu inhibe ederek kanalların permeabilitesini etkileyerek intrasellüler Ca^{++} düzeyini azalttı ı gösterilmi tir (52,53). Ayrıca melatoninin fosfolipaz C aktivitesini ve IP_3 olu umunu inhibe ederek intrasellüler depolardan Ca^{++} salıverilmesini bloke etti i veya bu depolardan Ca^{++} geri alınmasını stimule etti i bildirilmi tir (54,55).

2.5.6 Melatoninin Antioksidan Etkileri

Hem in vitro, hem de in vivo çalı malarda, melatoninin güçlü bir serbest oksijen radikal süpürücü oldu u gösterilmi tir (5,6,7). Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri ba ta olmak üzere, di er serbest oksijen radikallerinin neden oldu u oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yı koruyabilir. DNA hasarı olu turan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli-ADP-riboz sentazı (PARS) aktive eder. Bu enzim DNA tek zincirinin kırılması ile aktive olur ve hücrelerde iddetli enerji tüketimine yol açarak sonuçta nekrotik tipte hücre ölümüne neden olur. Melatoninin PARS aktivitesini inhibe ederek; ok, inflamasyon ve iskemi/reperfüzyonda (I/R) organ hasarını önleyebildi i bildirilmi tir (5,6,7,56). Serbest radikal yakalayıcı etkisi bakımından, bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon, vitamin E) daha güçlüdür. Hem suda hem de ya da çözünebildi inden hücrenin tüm komponentlerine etki eder (5,7).

Melatoninin antioksidan özelli i iki ana etki altında incelenebilir: Birincisi reseptörden ba ımsız olarak oksidan maddeye (serbest radikal, reaktif oksijen türevi vb.) elektron salması yoluyla olan do rudan süpürücü etki, ikincisi ise endojen antioksidan mekanizmaları reseptör ba ımlı olarak harekete geçirmek yoluyla gösterdi i indirekt etkisidir. Direkt süpürücü etkisi ile; O_2^- , H_2O_2 , OH , peroksinitritler ($ONOO^-$) gibi radikal ve reaktif maddeleri zararsız hale getirdi i, indirekt etkisiyle de SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin DNA seviyesinde ekspresyonlarını artırdı ı ve peroksinitritlerin artı ına neden olabilen uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini inhibe etti i ortaya konmu tur (5,7).

Süperoksit radikaline en önemli etkisi süperoksitin dismutasyonunda en büyük rol oynayan SOD'un mRNA 'sını artırmasıdır. H_2O_2 hücrelerde CAT ve GPx ile toksik olmayan ürünlere dönü türülür. GSH-Px aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Melatonin H_2O_2 'nin hücre içi miktarını azaltır. Melatoninin G-6-PD aktivitesini de uyarır. Melatonin, indol nükleusun yan zincirindeki metoksi ve toksik olmayan indolil katyon radikaline dönü ür. Bu nitrojen merkezli melatonin radikalinin de süperoksit anyon radikali ile etkile erek N-asetil-N-formil-5-metoksikinüramini olu tururdu u bildirilmektedir (ekil 3). Melatonin singlet oksijeni de direkt olarak nötralize edebilmektedir (6).



ekil.3. Melatoninin elektron vermesi

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada Melatonin'in antioksidan özelliğinden dolayı de i ik doku ve organlarda I/R hasarı gibi birçok oksidatif durumda (56), sisplatin gibi antineoplastik ilaçların nefrotoksik yan etkilerine karşı koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir (57,58). Morishima ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Melatonin'in doksorubisinin kardiyak toksisitesini azaltıcı etkisi olduğu ve bu etkiyi lipid peroksidasyonunu önleyip, antioksidan enzim aktivitelerini artırarak sağlandı gösterilmiştir (59). Ayrıca doksorubisin tarafından indüklenen kardiyak zedelenmenin, melatoninin düşük farmakolojik dozları ile de önlenebildiği (8), kardiyovasküler sistemle ilgili olarak melatoninin arteryel tonusu regüle ettiğini bildirilmiştir (60).

Bunun yanı sıra yalanma ile kalp hastalıkları insidansının artması ve melatoninin düzeyinin azalması (61), ani kardiyak ölüm insidansının sabah saatlerinde yükselmesi ve bu saatlerde melatonin seviyesinin anlamlı bir şekilde düşük olması (62), koroner kalp hastalığı olanlarda normal bireylere göre melatonin seviyesinin düşük bulunması (63), hipertansiflerde yalnız başına melatonin verilmesi ile bozulmuş kalp hızı ve kan basıncı sirkadiyen ritmini düzeltmesi (64,65) gibi bulgular; kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde melatoninin önemli rolü olduğunu göstermektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Gereç:

3.1.1 Kullanılan araç ve gereçler:

Langendorff (MAY 0702)

MP 30 B Amplifikatör (Biopac System. Inc. Santa Barbara, CA, USA)

FDT-10A, Basınç transduseri (Commat İletim Co. Ankara, Türkiye)

MAY WBC 3044 Organ Banyosu için su sirkülasyon cihazı

MAY PRS 9508 Peristaltik Pump Cihazı

Hassas terazi (Sartorius BP 1215)

Santrifüj cihazı (Janetzi T5)

Cerrahi alet seti

Bilgisayar

3.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları:

Çalışma maddesi 18.06.2009 tarihli 22 nolu etik kurul onayı ile Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) den temin edilen ortalama 400 gram ağırlığında 40 adet erkek wistar albino rat kullanıldı. Çalışma süresince 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Melatonin (Merck)

Ketamin HCL (Ketalar 50 mg/ml, 10 ml flakon, Pfizer)

Ksilazin (Rompun %2, Bayer)

Doxorubicin Hydrochloride (Sigma-Aldrich)

Absolut alkol (Merck)

Heparin (Liquemine flakon 25.000 IU, Roche)

Krebs-Henseleit Solüsyonu

Kullanılan Krebs Henseleit Solüsyonunun Hazırlanması: Tabloda belirtilen miktarda maddeler hassas terazi ile tartıldıktan sonra distile suda çözüldü ve her çalı ma da günlük olarak hazırlandı (Tablo 1).

Tablo 1. 1L Krebs Henseleit solüsyonu içindeki maddeler:

NaCl	6.9 gr/L
NaHCO ₃	2.1 g/L
KCl	0.35 g/L
CaCl ₂	0.28 g/L
MgCl ₂	0.11 g/L
Na ₂ HPO ₄	0.12 g/L
Glukoz	2 g/L

3.2. Yöntem

Çalı ma her biri 10 hayvandan olu an 4 grupta gerçekte tirildi..

- 1. Kontrol Grubu;** 1 ml (i.p) steril saline enjeksiyonu yapıldı.
- 2. Doksorubisin (Dox) Grubu;** Tek doz, 10 mg/kg (i.p) Dox. enjeksiyonu yapıldı. 7. günün sonunda kalp izole edildi.
- 3. Dox+ Melatonin Grubu;** Tek doz, 10 mg/kg (i.p) Dox. enjeksiyonu yapıldı. Ayrıca 7 gün süresince günde 1 defa olmak üzere her gün aynı saatte 10 mg/kg (i.p) melatonin enjeksiyonu yapıldı.
- 4. Melatonin Grubu;** 7 gün süresince her gün aynı saatte olmak üzere 10 mg/kg (i.p) melatonin enjeksiyonu yapıldı.

3.2.1 Farmakolojik nceleme

Çalı mamızda bütün gruplara anestezi olarak 100 mg/kg Ketamin + 15 mg/kg Ksilazin intramusküler (i.m) olarak uygulandı. Anestezi altında ve cerrahi i lemler sırasında olu abilecek bir koagülasyonu önlemek amacı ile femoral venden heparinize edilen (500 IU/kg) ratlarda sa sternotomi ile toraks açıldı, kalpte herhangi bir mekanik hasar olu turmamaya özen göstererek assendan aort ve di er damarlar kesilerek kalp izole edildi. Buzlu krebs solüsyonu içerisine bırakılan ve kısa bir kanül ile aortadan kanüle edilen kalpler Langendorff sistemine takıldı (ekil.4,5).

Krebs solüsyonu ile (%5 CO₂ ve % 95 O₂ karımı ile havalandırılan) sabit akımla koroner perfüzyon sağlandı. Perfüzyon peristaltik pompa yardımı ile yapıldı. Kalpte koroner perfüzyon basıncı (PB) aortik infüzyon kanülüne bağlı olan basınç transdüseri ile ölçüldü.

Bir polietilen katetere bağlanan lateks balon sol atriumda mitral kapaktan sol ventrikül içine yerleştirildi. Diğer ucunda ikinci bir basınç transdüseri bulunan kateter distile su ile dolduruldu ve kateter ucundaki lateks balon periyodik olarak distile su ile şiirilerek 5- 6 mmHg'lık basınç oluşturuldu. Maksimum kardiyak fonksiyon değerlerine ulaşmak için gerekli olan 30- 45 dakikalık stabilizasyon süresinden sonra lateks balonun bulunduğu sol ventrikülde, Sol Ventrikül Gelişim Basıncı(Left Ventricular Developed Pressure) (LVDP) ölçüldü.

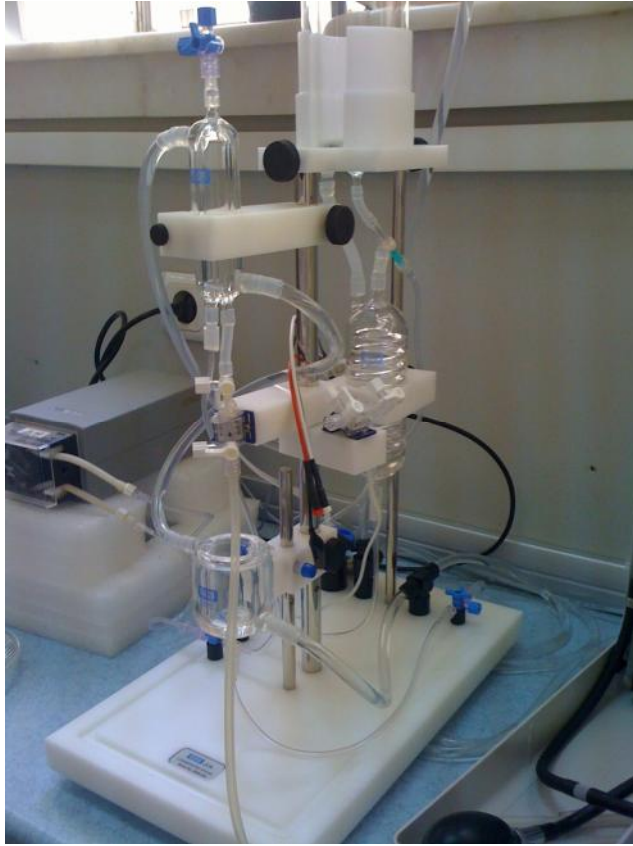
Ayrıca kalbin kontraksiyon gücünün göstergesi olarak sol ventrikülün birim zamandaki max sistolik ve minimum diastolik basıncını ifade eden LV(dP/dt)max ve LV(dP/dt)min kaydedildi.

Bunların yanı sıra kalplere takılan elektrotlar yardımı ile kalbin dakikadaki atım sayısı olan kalp atım hızı (KAH) kaydedildi.

Bütün gruplarda, Biopac MP 30 Amplifikatör ile alınan kayıtlar bilgisayar ortamında analiz edildi.



ekil.4. Langendorff Sistemi



ekil.5. Langendorff Sistemi

3.2.2. istatistiksel De erlendirme:

Çalı mamızda gruplar arası farkı de erlendirilmek amacı ile varyans analizi olarak Kruskal Wallis testi uygulandı. Gruplar arasında fark görüldü ü için farkın hangi gruplar arasında oldu unu görmek amacı ile ikili gruplarda Mann Whitney U testi uygulandı. istatistiksel verilerin hesaplanmasında Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) bilgisayar programı kullanıldı. $p < 0,05$ iken gruplar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalı mamızdaki bütün gruplarda ölçtü ümüz koroner perfüzyon basıncı ve LVDP mmHg cinsinden, KAH atım/dk, $LV(dP/dt)_{max}$ ve $LV(dP/dt)_{min}$ de erleri ise mmHg/sn olarak hesaplanmı tır.

Deney gruplarımızda Mann Whitney-U testi kullanılarak ikili kar ıla tırma yapıldı nda; koroner perfüzyon basınçlarının Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttı ı görüldü ($p < 0.001$). Artan koroner perfüzyon basıncının Dox+ Mel grubunda Dox grubuna göre anlamlı olarak azaldı ı gözlendi ($p = 0.001$). Tek ba ına melatonin verilen grupta kontrol grubuna göre koroner perfüzyon basınçlarında anlamlı bir fark görülmez iken ($p > 0.05$), dox verilen gruba göre kontrole benzer olarak anlamlı fark görüldü ($p < 0.001$).

Kalp atım hızlarının Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalırken ($p < 0.001$), Dox+ Mel grubu ile anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Tek ba ına melatonin verilen grupta kontrol grubuna göre fark gözlenmez iken ($p > 0.05$), dox ve dox+mel verilen gruplara göre anlamlı olarak arttı ı gözlendi ($p < 0.001$, $p < 0.05$).

LVDP yanıtlarına bakıldı nda, Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma oldu u görüldü ($p < 0.001$). Dox grubundaki bu azalmanın Dox+ Mel grubunda anlamlı olarak arttı ı görüldü ($p < 0.05$). Tek ba ına melatonin verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmez iken ($p > 0.05$), Dox ve Dox+ Mel gruplarına göre anlamlı bir artı oldu u görüldü ($p < 0.001$).

$LV(dP/dt)_{max}$ yanıtlarına bakıldı nda, Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma oldu u ($p < 0.001$) gözlendi. Dox grubundaki bu azalmanın Dox+ Mel grubunda anlamlı olarak arttı ı görüldü ($p < 0.05$). LVDP yanıtlarına benzer olarak tek ba ına melatonin verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmez iken ($p > 0.05$), Dox ve Dox+ Mel gruplarına göre anlamlı bir artı oldu u görüldü ($p < 0.001$).

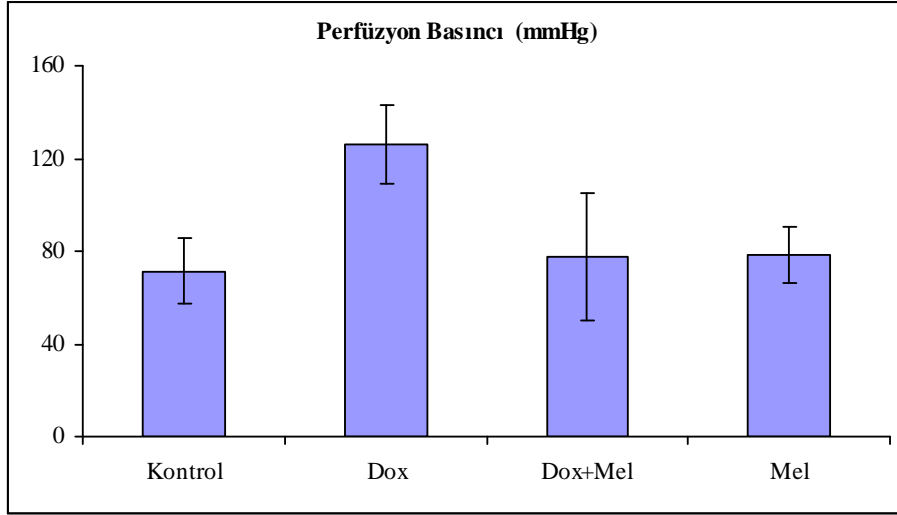
$LV(dP/dt)_{min}$ yanıtlarına bakıldı nda, Dox grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artı oldu u ($p < 0.001$) gözlendi. Dox grubundaki bu artı ın Dox+ Mel grubunda anlamlı olarak azaldı ı ($p < 0.001$), tek ba ına melatonin verilen grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark görülmez iken ($p > 0.05$), Dox grubuna göre

anlamli olarak azaldi ı ($p < 0.001$), ve Dox + Mel grubuna göre anlamli olarak azaldi ı ($p < 0.05$) görüldü.

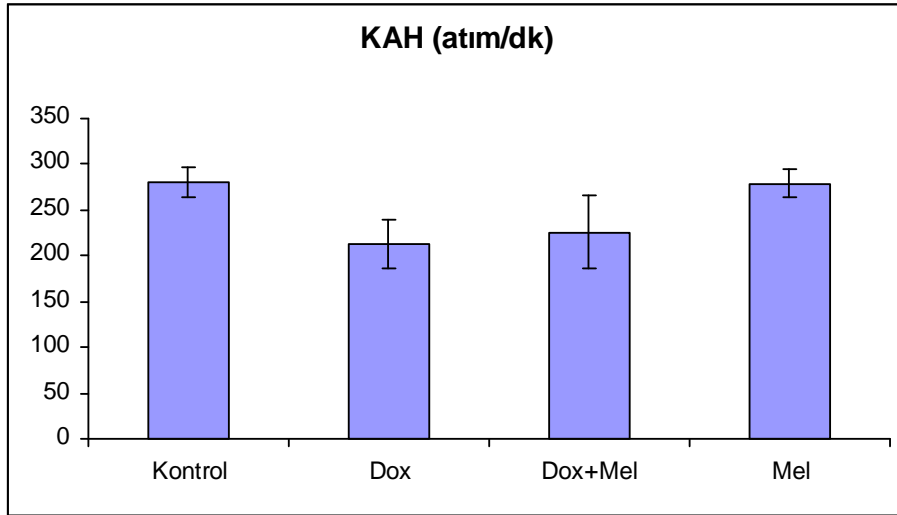
Tüm gruplara ait elde edilen veriler Tablo.2' de gösterilmi tir. Gruplara ait PP, KAH, LVDP, $LV(dP/dt)_{max}$ ve $LV(dP/dt)_{min}$ de erleri ekil (6,7,8,9,10)' de gösterilmi tir.

Tablo.2. Gruplara ait elde edilen veriler (Sonuçlar Aritmetik ortalama (\bar{X}) \pm Standart hata (SD) ekinde gösterilmi tir. PB: Perfüzyon Basıncı, KAH: Kalp Atım Hızı, LVDP: Sol ventrikül geli en basıncı, $LV(dP/dt)_{max}$: sol ventrikülün birim zamandaki maksimum sistolik basıncı, $LV(dP/dt)_{min}$: sol ventrikülün birim zamandaki minimum diastol basıncı).

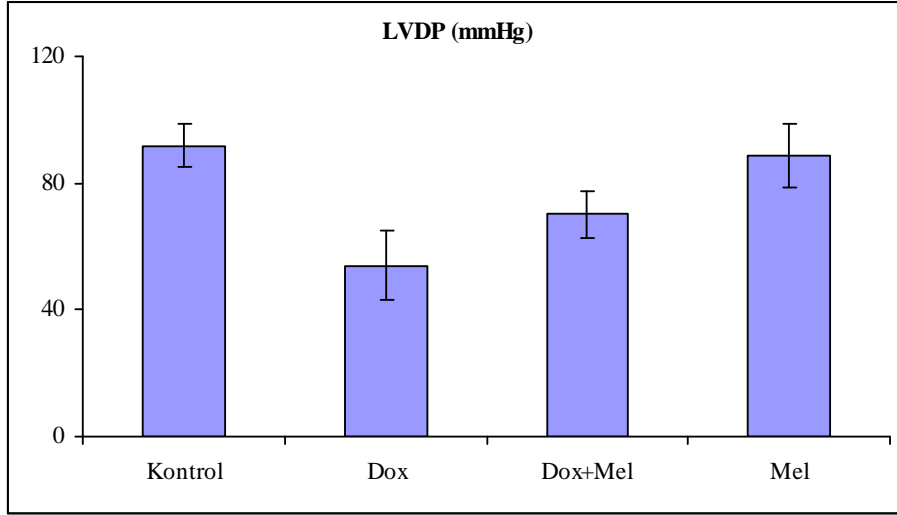
	Kontrol (a)	Dox (b)	Dox-Mel (c)	Mel (d)	P
PB (mmHg)	71.34 \pm 14.07	126.02 \pm 16.67	77.37 \pm 27.47	78.40 \pm 12.30	(a-b) (b-c) $p < 0.001$, (b-d) $p < 0.05$
KAH(atım/dk)	280.90 \pm 16.71	213.00 \pm 27.44	225.90 \pm 40.61	279.30 \pm 16.15	(a-b) (b-d) $p < 0.001$, (a-c) (c-d) $p < 0.05$
LVDP (mmHg)	91.66 \pm 6.83	53.96 \pm 11.02	70.09 \pm 7.55	90.92 \pm 6.80	(a-b) (a-c) (b-d) (c-d) $p < 0.001$, (b-c) $p < 0.05$
$LV(dP/dt)_{max}$	1351.80 \pm 72.98	914.90 \pm 77.98	1023.90 \pm 54.3	1299.50 \pm 73.7	(a-b) (a-c) (b-d) (c-d) $p < 0.001$, (b-c) $p < 0.05$
$LV(dP/dt)_{min}$	-1142.00 \pm 58.04	-764.60 \pm 65.79	-1037.00 \pm 62.3	-1122.30 \pm 74.9	(a-b) (a-c) (b-c) (b-d) $p < 0.001$, (c-d) $p < 0.05$



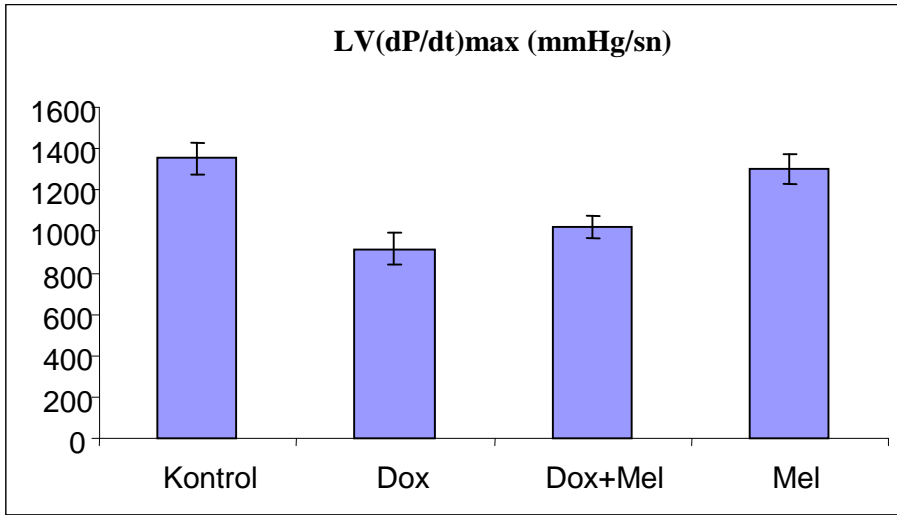
ekil.6. Bütün gruplarda, Perfüzyon basıncı(mmHg) (n= 10)



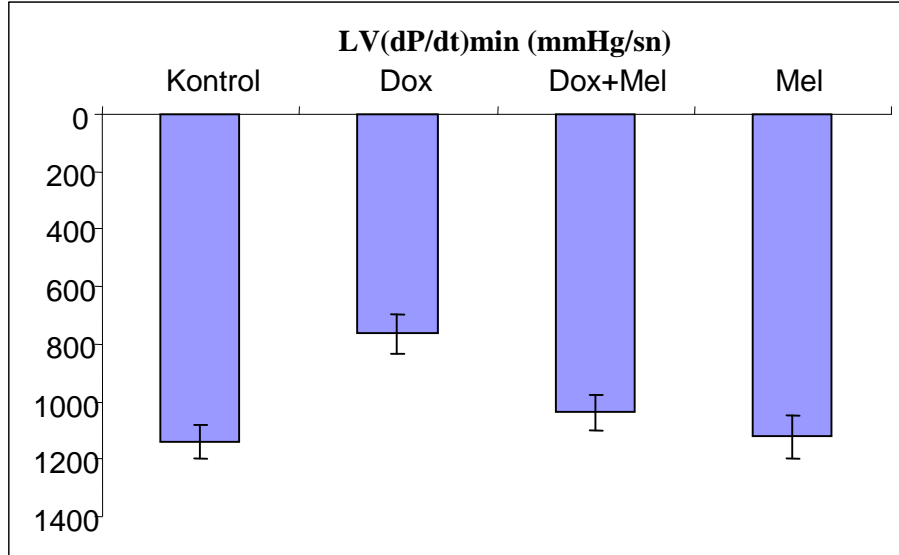
ekil.7. Bütün gruplarda, Kalp Atımı Hızı(atım/dk) (n=10)



ekil.8. Bütün gruplarda, Sol Ventrikül Geli en Basıncı (mmHg) (n=10)



ekil.9. Bütün gruplarda ölçülen sol ventrikülün maksimum sistolik basıncı (mmHg/sn) (n=10)



ekil.10. Bütün gruplarda ölçülen sol ventrikülün minimum diastolik basıncı (mmHg/sn) (n=10)

TARTI MA

Bu çalı mada ratlara doksorubisin verilerek kardiotoksik etki olu turulmu tur. Birçok hematolojik malignitelerde ve solid tümörlerin tedavisinde geni kullanıma sahip olan doksorubisin gibi antrasiklin türevlerinin miyokarda belirgin toksisiteye yol açtıkları bilinmektedir (66,67). Olu an bu toksik etkiler oldukça önemli bir sorun te kil etmekte, zira ya am kalitesini önemli ölçüde dü ürürken bazen ölümlere neden olabilmektedir. Bu nedenle antrasiklinler ile tedavide kardiyotoksik etkilerini azaltmak amacı ile halen de i ik yöntemler denenmektedir. İlacın maksimum kümülatif dozunun azaltılması ekinde bir yakla ım, terapötik etkilerinin de azalmasına yol açaca ından, kardiotoksik etkiyi azaltacak yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu amaçla kardiotoksitesisi dü ük antrasiklin analoglarının sentez edilmesi, de i ik verili yollarının denenmesi, bu ilaçların lipozom gibi de i ik formülasyonlar içine enkapsüle edilmesi gibi yöntemler kullanılmı tır (68,69). Son yıllarda bu antrasiklinlerin kardioprotektif etkili ilaçlar ile kombine edilerek tedavide kullanılması oldukça ra bet gören bir yöntem olmu tur (69,70).

Biz de bu çalı mamızda, doksorubisin ile olu turdu umuz kardiotoksisiteye kar ı kardioprotektif olarak Melatonin ile kombinasyonunun etkisini ara tırdık

Doksorubisin'in kardiotoksik etki mekanizmasında; nükleik asit ve protein sentezinin inhibisyonu (71), vazoaktif aminlerin salınımı (72), mitokondriyal membran potansiyelinde kayıp ve elektron trasport zincirinin inhibisyonu (73,74), adrenerjik fonksiyonlardaki de i iklikler (75), adenilat siklaz, $Na^+ - K^+ - ATPaz$ ve $Ca^+ - ATPaz$ aktivitelerinin azalması (76) ve en önemlisi serbest oksijen radikallerinin olu umu (13,14,15,77) gibi olayların rolü oldu u anla ılınca, söz konusu kombinasyonlar içinde çok sayıda ilaç özellikle serbest radikal tutucu ve antioksidan etkili olanlar ba ta olmak üzere kullanılmı tır (11,17,18,19,69,70).

Bu çalı mada Doksorubisin ile kombine kullandı ımız Melatonin, pineal bezden salınan bir hormon olup, son yıllarda yapılan birçok çalı mada güçlü antioksidan etkili oldu u ve direkt etkisi ile serbest radikal tutucu özelli i oldu u gösterilmi tir (5,6).

Doksozubisin'in biyotransformasyonu sonucu yapısında bulunan kinon grubunun, sitokrom P450 redüktaz ve ksantin oksidaz tarafından semikinon radikale indirgenmesi ve bu sırada açığa çıkan elektronların oksijen gibi oksitleyici ajanlar tarafından tutulması, miyositlerde hasara neden olan serbest oksijen radikallerinin oluştuğu bir dizi reaksiyonu başlattığı gösterilmiştir (13,14). Oluşan O_2^- ve H_2O_2 radikallerinin, serbest radikallerin temizlenmesini sağlayan endojen glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin azalmasına neden olarak oksidatif stresi artırdığı ve kardiyomiyopati oluşumunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir (13-19).

Yapılan birçok biyokimyasal çalışmada doksozubisin verilen ratlarda, serbest oksijen radikal oluşumunun arttığı, lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA düzeylerinin arttığı ve buna karşılık glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (4,11,15,16,17,19).

Histopatolojik olarak yapılan çalışmalarda ise doksozubisin'in kalpte hücresel lezyonlara yol açtığı ayrıca kalp damarlarında kapiller dansiteyi ve dallanmayı azaltarak vasküler oluşumu bozduğunu bildirilmiştir (78,79,80)

Çalışmamızda kullandığımız Langendorff sistemi, doksozubisin gibi kardiyotoksik etkili ilaçların yaptığı kardiyomiyopatinin akut belirtilerinin ve kalbin fonksiyonlarındaki değişikliklerin görülmesini sağlayan izole perfüze kalp modelidir (81).

Bu deneysel modeli kullanarak yaptığımız çalışmada, literatür ile uyumlu olarak Doksozubisin enjeksiyonu yapılan grupta kontrol grubuna göre kalbin kontraktıl gücünde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Başta serbest oksijen radikalleri olmak üzere damar vaskülatöründe artan adrenerjik aktiviteye (11,17,18,75) bağlı olarak, perfüzyon basıncında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Bu bulgular, doksozubisinin yaptığı bildirilen kardiyomiyopati belirtileri ile uyumluluk göstermektedir (3,4,11,12).

Ayrıca doksozubisin verilen ratların sol ventrikül basınçları (LVDP) ve saniyedeki maximum sistolik basınçları ($LV(dP/dt)_{max}$) ölçüldüğünde, bu deneylerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu, buna karşılık minimum diastolik basınç ($LV(dP/dt)_{min}$) deneylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü. Doksozubisin verilen ratlarda gelişen sol ventrikül yetmezliği ini

ve kalbin hemodinami inin bozuldu unu gösteren bu bulgular, De Nigris F. ve arkadaşlarının beta bloker etkili nebivolol ile yaptığı çalışması (82) ile uyumludur.

Çalışmamızda doksorubisin ile oluşturduumuz ve Langenderff sistemini kullanarak ölçtüümüz kardiyak fonksiyon bozukluklarına karşı koruyucu etkilerini görmek amacıyla kullandığımız Melatonin'in güçlü antioksidan etkili olduğu son yıllarda yapılan birçok çalışması ile gösterilmiştir (5,6,7,56).

Doksorubisin + Melatonin enjeksiyonu yapılan grupta Doksorubisin grubuna göre kalbin kontraktıl gücünde istatistiksel olarak anlamlı bir artma ve koroner perfüzyon basıncında ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. Bu bulgular, doksorubisinin yaptığı kardiomyopati belirtilerinin Melatonin ile düzeldiğini göstermektedir.

Ayrıca Doksorubisin + Melatonin verilen ratların sol ventrikül basınçlarında (LVDP) ve saniyedeki maximum sistolik basınçlarında ($LV(dP/dt)_{max}$) Doksorubisin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış oldu u, buna karşılık minimum diastolik basınçlarında ($LV(dP/dt)_{min}$) istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oldu u görüldü. Böylece Doksorubisin ile ratlarda gelişen sol ventrikül yetmezliği ve kalbin hemodinami indeki bozulmanın Melatonin ile düzeldiği görülmüştür.

Elde edilen bu bulgular histopatolojik ve biyokimyasal olarak yapılan çalışmalar ile uyumluluk göstermekte; örneğin doksorubisin tarafından indüklenen kardiyak zedelenmenin, melatonin'in düşük farmakolojik dozları ile de önlenebildiği (8) ve kardiyovasküler sistemle ilgili olarak melatoninin arteryel tonusu regüle ettiğini bildirilmiştir (60). Ayrıca bir diğer çalışmada Melatonin'in doksorubisinin kardiyak toksisitesini azaltıcı etkisi olduğu ve bu etkiyi lipid peroksidasyonunu önleyip, antioksidan enzim aktivitelerini artırarak sağladığını gösterilmiştir (59).

Biyokimyasal olarak yapılan çalışmalarda Melatonin'in direkt etkisi ile; O_2^- , H_2O_2 , OH^{\cdot} , peroksinitritler ($ONOO^-$) gibi radikalleri tuttuğu ve indirekt etkisiyle de SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin DNA seviyesinde ekspresyonlarını artırdığı ve peroksinitritlerin artmasına neden olabilen uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini inhibe ettiğini bildirilmiştir (5,7). Bu antioksidan özelliğinden dolayı Melatonin'in, deoksiriboz doku ve organlarda oluşan I/R hasarı (56) ve birçok

antineoplastik ilacın oldu u nefrotoksisite durumunda artan MDA düzeylerini azaltarak ve antioksidan enzim düzeylerini artırarak koruyucu etki oldu u bildirilmi tir (57,58).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapımı oldu umuz bu çalı mada, geni kullanıma sahip bir antineoplastik ilaç olan Doksorubisin'in klinik kullanımı ile uzun sürelerde olu abilen kalp yetmezli inin akut belirtilerinin görülebildi i deneysel model kullanılmı tır. Kardiyotoksik etki olu turulan ratlardan izole edilen kalpler Langendorff sistemi kullanılarak perfüze edilerek kalplerdeki hemodinamik ve fonksiyonel de i iklikler incelenmi tir. Olu an sol ventrikül yetmezli i ile karakterize belirtilerin, antioksidan etkili melatonin ile düzeldi i görülmü tür. Literatürde bildirilen gerek biyokimyasal ve gerekse histopatolojik veriler ile uyumlu olan bu bulgular, bu tür çalı malarda daha sa lıklı sonuçlara ula abilmek için kalp fonksiyonlarının ölçülmesi için Langendorff sisteminin gereklili ini ortaya koymu tur.

Sonuç olarak bu sistem, kalp ile ilgili ilaç etkilerinin ara tırıldı ı çalı malarda veya /R hasarı gibi her türlü deneysel modelde kalbin fizyolojik aktivitesini ölçmek amacı ile kullanılabilir. Kalbin histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerinin yanı sıra fonksiyonel kapasitesi ve kontraktilitesinin de ölçülebilmesi, ilaçların kalp fonksiyonları üzerindeki direkt etkilerini gösterecek ve klinik kullanım açısından daha yararlı sonuçlar olu turacaktır.

KAYNAKLAR

1. Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, Daniels JR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. *Cancer Treat Rep* 1978; 62: 865.
2. Bates, SE, Rosing, DR, Lobins RL, Challenges of evaluating the cardiac effects of anticancer agents. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3871.
3. Singal PK, Iliskovic N. Doxorubicin-induced cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1998; 339: 900.
4. Elliott P. Pathogenesis of cardiotoxicity induced by anthracyclines. *Semin Oncol* 2006; 33: S2.
5. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 229-236.
6. Reiter RJ Cytoprotective properties of melatonin: Presumed association with oxidative damage and aging. *Nutrition* 1998; 14: 691-696.
7. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 10-19.
8. Agapito MT, Antolin Y, del Brio MT, Lopez-Burillo S, Pablos MI, Recio JM. Protective effects of melatonin against adriamycin toxic Pineal Res 2001; 31: 23-30.
9. Kayaalp O.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, cilt 1, Ankara, 2005 Hacettepe Ta Kitapçılık Ltd. ti., 317-323.
10. Goodman Gilman A.: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Elev enth edition. McGraw-Hill Medical Publishing Division: 2006; chapter: 51; 1358-1359.
11. Singal PK, Deally CMR, Weinberg LE. Subcellular effects of adriamycin in the heart: A concise review. *J Mol Cardiol* 1987; 19: 817.
12. Menna P, Alberto Sordi F. Antrasiklin Degradation in Cardiomyocytes: A Journey to Oxidative Survival, *Chem. Res. Toxicol.* 2010, 23, 6-10.

13. Bachur N.R, Gordon S.L, Gee M.V and Kon H. NADPH cytochrome P- 450 reductase activation of quinone anticancer agents to free radicals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1979; 76, 954-957.
14. Berlin V, Hasetline W.A, Reduction of adriamycin to a semiquinone-free radical by NADPH cytochrome P-450 reductase produces DNA cleavage in reaction mediated by molecular oxygen. J. Biol. Chem. 1981; 256: 4747-4756.
15. Doroshow JH. Antracycline antibiotic-stimulated superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical production by NADH dehydrogenase. Cancer Res 1983; 43: 4543.
16. Doroshow JH, Locker GY, Myers CE. Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: Alterations produced by doxorubicin. J Clin Invest 1980; 65: 128-135.
17. Singal PK, Iliskovic N, Li T, Kumar D. Adriamycin cardiomyopathy: Pathophysiology and Prevention. FASEB J 1997; 11: 931-936.
18. Singal PK, Siveski-Iliskovic N, Hill M, Thomas TP, Li T. Combination therapy with probucol prevents Adriamycin-induced cardiomyopathy. L Mol Cell Cardiol 1995; 27: 1055-1063.
19. Li, Ti, Singal, PK. Adriamycin-induced early changes in myocardial antioxidant enzymes and their modulation by probucol. Circulation 2000; 102: 2105.
20. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB.: Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. The Am. J. Of Surgery 1991; Vol161; April; 488-503.
21. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39: 44-84.
22. Li C, Jackson RM.: Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am J Physiol 2002; 28; Feb; C; 227-241.
23. Emerit J, Beaumont C, Trivin F.: Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. Biomed Pharmacother 2001; 55; 333-339.
24. Barber DA, Harris SR.: Oxygen free radicals and antioxidants: a review. Am Pharm. 1994; Sep; NS; 34; 9; 26-35.

25. Miller RA, Britigan BE.: Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; Jan; Vol: 10; No: 1; 1-18.
26. Garcia Villalon AL, Amezcua YM, Monge L, Fernandez N, Salcedo A, Dieguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascul Pharmacol.* 2008; 48: 109-114.
27. Mitchell JB, Russo A. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *Br J Cancer.* 1987, 55: 96-104.
28. Erden M, Bor NM. Changes of reduced glutathione, glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs. *Biochemical Med.* 1984, 31: 217-227.
29. Mason RP. Free radical reactions with DNA and its nucleotids. *Basic LIFE Sci.* 1990, 52: 119.
30. Blakely WF. Hydrogen peroxide induced base damage in DNA. *Radiat Res.* 1990, 121: 338-343.
31. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993, 49(3): 479-480.
32. Clarkson PM, Thompson HS.: Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.* 2000; Aug; 72; 2 Suppl; 637-646.
33. Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter RJ. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004; 36: 1-9.
34. Bramley PM.: Is lycopene beneficial to human health. *Phytochemistry. Review* 2000; 54 (3): 233-236.
35. Khachik F, Carvalho L, Bernstein PS, Muir GJ, Zhao DY, Katz NB.: Chemistry, distribution and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp Biol Med. Review* 2002; 227 (10): 845-851.
36. Bates SE, Rosing DR, Lobins RL. Challenges of evaluating the cardiac effects of anticancer agents. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3871.
37. Doroshow JH, Locker GY, Myers CE. Enzymatic defenses of the Mouse heart against reactive oxygen metabolites: Alterations produced by doxorubicin. *J Clin Invest* 1980; 65: 128-135.

38. Dowd NP, Scully M, Adderley SR, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 aggravates doxorubicin-mediated cardiac injury in vivo. *J Clin Invest* 2001; 108: 585.
39. Maxwell SR, Thomson H, Sandler D, Le Guen C et al. Antioxidant status in patients with uncomplicated insulin-dependent mellitus. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 484-490.
40. Sochman J, Kok J, Urana M, Fabian J. Cardioprotective effects of N-acetylcysteine: the reduction in the extent of infarction and occurrence of reperfusion arrhythmias in the dog. *Int J Cardiol* 1990; 28: 191-196.
41. Frei B.: Molecular and biological mechanisms of antioxidants action. *Faseb Journal* 1999; June; Vol: 13; 963-964.
42. Liu X, Chen Z, Chua C, Ma Y. Melatonin as an effective protector against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Am J Physiol.* 2002; 254-263.
43. Öz E, Erba D, Sürücü S, Düzgün E. Prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity by melatonin. *Molecular and Cellular Biochemistry.* 2006; 31-37.
44. Arendt J. Melatonin and the Mammalian Pineal Gland. Chapman & Hall. 1995: 6-49.
45. Cagnacci A. Melatonin relation to physiology in adult humans. *J Pineal Res* 1996; 21: 200-213.
46. Devlin TM.: Textbooks of biochemistry with clinical correlations. Fifth Edition; 2002; 810-811.
47. Voisin P, Namboodiri M. A, Klein D. C. Arylamine N-acetyltransferase and arylalkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland. *J. Biol. Chem.* 1984; 259: 10913-10918.
48. Boutin JA, Delagrangé P, Rettori MC. Melatonin: molecular pharmacology and therapeutic applications. *Medicographia* 2000; 22: 72-80.
49. Chen LD, Kumar P, Reiter RJ, et al. Melatonin reduces 3H-nitrendipine binding in the heart. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 207: 34-7.
50. Opie LH: *The Heart Physiology From Cell to Circulation*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1998: 89.

51. Mei YA, Lee PP, Wei H, Zhang ZH, Pang SF. Melatonin and its analogs potentiate the nifedipine-sensitive high-voltage-activated calcium current in the chick embryonic heart cells. *J Pineal Res* 2001; 30: 13-21.
52. Inukai T, Wang X, Greer S.E, Greer M.A. Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate-mediated prolactin secretion in GH4C1 cells involves Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels. *Cell Calcium*, 1993, 14: 219-226.
53. Cervetto L, Lagnado L, Perry R.J, Robinson D.W. Extrusion of calcium from rod outer segments is driven by both sodium and potassium gradients. *Nature*, 1989, 337: 740-743.
54. Theroux P. Protection of the myocardial cell during ischemia *Am J cardiol* 1999; 83: 3-9.
55. Salie R, Harper I, Cillie C, Genade S, Huisamen B, Moolman J, et al. Melatonin protects against ischemic-reperfusion myocardial damage. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 343-357. Cervetto L, Lagnado L, Perry R.J, Robinson D.W. Extrusion of calcium from rod outer segments is driven by both sodium and potassium gradients. *Nature*, 1989, 337: 740-743.
56. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001; 426: 1-10.
57. Parlakpınar H, Sahna E, Ozer MK, Ozugurlu F, Vardi N, Acet A. Physiological and pharmacological concentrations of melatonin protect against cisplatin-induced acute renal injury. *J Pineal Res* 2002; 33: 161-166.
58. Sahna E, Parlakpınar H, Ozturk F, Ozer M.K, Ozugurlu F, Acet A. Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: Role of physiological concentrations. *J Pineal Res* 2003; 35: 257-261.
59. Morishima I, Okumura K, Matsui H, et al. Zinc accumulation in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats: effects of cardioprotective antioxidant. *J Pineal Res*. 1999; 26: 204-210.
60. Nishiyama K, Yasue H, Moriyama Y, et al. Acute effects of melatonin administration on cardiovascular autonomic regulation in healthy men. *Am Heart J* 2001; 141: 149.

61. Reiter RJ. The aging pineal and its physiological consequences. *BioEssay* 1992; 14: 169- 175.
62. Muller JE. Circadian variation and triggering of acute coronary events. *Am Heart J* 1999; 137: 51-58.
63. Brugger P, Marktl W, Herold M. Impaired nocturnal secretion of melatonin in coronary heart disease. *Lancet* 1995; 345: 1408.
64. Zaslavskaja RM, Shakirova AN, Komarov FI, Teiblum MM, Alchmetov K2. Effects of melatonin alone and in combination with acetaminophen on hemodynamic rhythms in patients with hypertension stage II. *Ter Arkh* 1999; 71: 21-24.
65. K-Lafamme A, Wu L, de Champlain J. Impaired basal sympathetic tone and alpha 1-adrenergic responsiveness in association with the hypotensive effects of melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1998; 11: 219-229.
66. Allen A. The cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. *Semin. Oncol.* 1992; 19: 529-542.
67. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 185-229.
68. Shapira J, Gotfried M, Lischer M, Ravid M. Reduced cardiotoxicity of doxorubicin by a 6-hour infusion regimen. *Cancer* 1990; 65: 870-87.
69. Weiss R. The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin? *Semin. Oncol.* 1992; 19: 670-686.
70. Olson RD, Mushlin PS. Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses. *FASEB J* 1990; 4: 3076-3086.
71. Arena E, Biondo R, D'Alessandro N, Dusonchet L, Gebbia N, Gerbasi F. DNA, RNA and protein synthesis in heart liver and brain of mice treated with daunorubicin or adriamycin. *Int. Res. Commun Systemic Med. Sci.* 1974; 2: 1053-1061.
72. Bristow M, Sageman W.S, Scott R.H, Billingham M.E, Bowden R.E, Kernoff R.S, Snidow I.H, Daniel J.R. Acute and chronic cardiovascular effects

of doxorubicin in the dog: The cardiovascular pharmacology of drug-induced histamine release. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1980; 2; 487-515.

73. Oliveira PJ, Wallace K.B. Depletion of adenine nucleotide translocator protein in heart mitochondria from doxorubicin-treated rats-relevance for mitochondrial dysfunction. *Toxicology* 2006; 220; 160-168.

74. Wallace K.B. Adriamycin-induced interference with cardiac mitochondrial calcium homeostasis. *Cardiovasc. Toxicol.* 2007; 7; 101-107.

75. Tong J, Ganguly P. K, Singal P. K. Myocardial adrenergic changes at two stages of heart failure due to adriamycin treatment in rats. *Am. J. Physiol.* 1991; 260; 909-916.

76. Singal P. K, Panagia V. Direct effects of adriamycin on the rat heart sarcolemma. *Res. Common. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1984; 43; 67-77.

77. Doroshow J. H. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res.* 1983; 43; 460-472.

78. Imondi AR, Della-Torre P, Mazue G.: Dose-response relationship of dexrazoxane for prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, rats and dogs. *Cancer Res*, 1996; 56: 4200-4204.

79. Dziegiel P, Jethon Z, Suder E, Sopol M. Role of exogenous melatonin in reducing the cardiotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. *Exp. Toxic. Pathol.* 2002; 53: 433.

80. Huang C, Zhang X, Ramil JM, Rikka S, Kim L, Lee Y, Gude NA, Thistlethwaite PA, Sussman MA, Gottlieb RA, Gustafsson AB. Juvenile exposure to anthracyclines impairs cardiac progenitor cell function and vascularization resulting in greater susceptibility to stress-induced myocardial injury in adult mice. *Circulation.* 2010 Feb 9; 121(5): 675-83.

81. Poun P, Bonoron-Adele S, Gouverneur G, Traiosse L. Development of the model of rat isolated perfused heart for the evaluation of anthracycline cardiotoxicity and its circumvention. *Br.J.Pharmacol*, 1996; 117: 1593-9.

82. De Nigris F, Rienzo M, Schiano C, Fiorito C, Casamassimi A, Napoli C. Prominent cardioprotective effects of third generation beta blocker nebivolol against anthracycline-induced cardiotoxicity using the model of isolated perfused rat heart. *Eur J Cancer.* 2008; Feb; 44(3): 334-40.

ÖZGEÇM

1983 yılında Bingöl' ün Genç ilçesinde doğdum. İlkokul öğrenimimi Genç' de, orta ve lise öğrenimimi ise Ankara' da tamamladım. 2002 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım ve 2006 yılında mezun oldum. 2007 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı' nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen aynı bölümde eğitimime devam etmekteyim. 2007 den bu yana D.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi eczanesinde eczacı olarak çalışmaktayım.